We **KNOW HOW**

A CIMAI é um **PARCEIRO** para os seus clientes

CIM KA

Desinfetante para pequenas superfícies, bancadas, utensílios, instrumentos de laboratório e material de escritório à base de álcool.

FICHA TÉCNICA
TECHNICAL INFORMATION SHEET

CÓDIGO DE PRODUTO
00478

FAMÍLIA
desinfetantes

O CIM KA é um **PODEROSO DESINFETANTE.**

A combinação de biocidas incorporada no CIM KA é especificamente indicada para o combate a diversos microorganismos, nomeadamente o SARS-CoV-2.

Sendo um poderoso desinfetante, apresenta todavia uma **BAIXA TOXICIDADE**.

Não recomendado para aplicação em couro, plástico e similares.

PROPRIEDADES:

Líquido transparente com odor característico, constituído por álcool, quarternários de amónio e agentes sequestrantes.

USO RECOMENDADO:

Devido a uma combinação de desinfetantes, cujo principal constituinte é o álcool, o CIM KA é especialmente indicado para desinfeção de todo o tipo de superfícies, equipamentos, bancadas, utensílios, instrumentos de laboratório, material de escritório, etc.

MODO DE APLICAÇÃO:

O produto deve ser utilizado puro nos equipamentos a desinfetar. Pulverizar, passar com um pano limpo e deixar secar.

PRECAUÇÕES:

Manter fora do alcance das crianças.

Evitar o contacto com a pele e os olhos.

ARMAZENAGEM:

Manter longe de chamas vivas. Embalagens bem fechadas.

CLASSIFICAÇÃO:

Consultar a Ficha de Dados de Segurança do Produto.

EMBALAGEM:

750ml/690gr (Código de produto 04616)
5lt/4,5 kg (Código de produto 04608)
20lt/18kg (Código de produto 04628)

As informações contidas neste catálogo são baseadas na nossa experiência, não substituem, no entanto, ensaios preliminares que deverão sempre ser feitos, uma vez que as condições de aplicação dos produtos estão fora do nosso controlo. A CIMAI apenas se responsabiliza pela manutenção das características dos produtos de acordo com a nossa especificação.

revisão 15-04-2021

CIMAI - Engenharia e Química Avançada, Unipessoal Lda
Travessa de São João, Lt 110, Serra Casal de Cambra
2605-192 Belas
Tel.: 219 818 440; Fax: 219 818 450; info@grupo-cimai.com
www.grupo-cimai.com

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA EGAS MONIZ

Relatório de Ensaios N.º 0939/2020

Código | IMPT.LMAEM.5.34_03

Relatório final - Versão 01

Amostra N.º: 0939/2020

Receção da amostra: 19-06-2020
Início do(s) ensaio(s): 23-06-2020
Fim do(s) ensaio(s): 25-06-2020

Cimai-Engenharia e Quimica Avancada, S.A.

Travessa de S. João, lt 110 Serra Casal de Cambra

2605-192 Belas
Portugal

Produto: Antissético e desinfetante

Responsável colheita: Cliente

Referência do cliente: CIM KA

Identificação da amostra:

CIM KA
Desinfetante Superfícies

Condições armazenamento:

Amostra acondicionada em frasco fechado

Condições experimentais

Produto testado Puro em Condições Sujas
Actividade Bactericida
Tempo de contacto: 5 minutos
Substância interferente:
Solução albumina de bovino a 3,0 g/L

Microrganismos testados

(1) *Enterococcus hirae*
ATCC 10541

(1) *Escherichia coli*
ATCC 10536

(1) *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 15442

(1) *Staphylococcus aureus*
ATCC 6538

Parâmetro *Método de ensaio / Técnica analítica*	Resultados
(1) Avaliação da atividade bactericida EN 1276:2019 / Filtração por membrana	O produto analisado possui os requisitos indicados pela norma EN 1276 para a atividade bactericida (i.e. o produto provocou uma redução no número de unidades formadoras de colónias igual ou superior a 5 unidades logarítmicas).

Emitido em: 03-07-2020
Relatório de Ensaio assinado eletronicamente
*** 10877 *** 0939/2020 ***
*** 5207cc13fc40751867fb6098362f00c9 ***

Responsável do Laboratório

Helena Barroso

(Helena Barroso, Ph.D.)

O ensaio assinalado com (1) não está incluído no âmbito da acreditação; O ensaio assinalado com (2) foi subcontratado e é acreditado;
O ensaio assinalado com (3) foi subcontratado e não é acreditado; A amostragem não está incluída no âmbito da acreditação;
Os valores expressos na forma < x, são inferiores ao limite de quantificação (x); Os resultados de ensaio referem-se exclusivamente à amostra ensaiada;
Para prevenção de fraude e adulteração, todas as páginas deste relatório são codificadas e o conteúdo não contém quaisquer menções ou correções manuscritas;
Este relatório apenas pode ser reproduzido na íntegra, exceto quando haja autorização expressa do LMAEM;

Relatório de Ensaios N.º 0939/2020

Código | IMPT.LMAEM.5.34_03

Relatório final - Versão 01

Amostra N.º: 0939/2020

Receção da amostra: 19-06-2020
Início do(s) ensaio(s): 23-06-2020
Fim do(s) ensaio(s): 25-06-2020

Cimai-Engenharia e Quimica Avancada, S.A.

Travessa de S. João, lt 110 Serra Casal de Cambra

2605-192 Belas
Portugal

Produto: Antissético e desinfetante

Responsável colheita: Cliente

Referência do cliente: CIM KA

Identificação da amostra:

CIM KA
Desinfetante Superfícies

Condições armazenamento:

Amostra acondicionada em frasco fechado

Legenda:

ISO - International Standard Organization; EN - Norma Europeia; FP - Farmacopeia Portuguesa; NP - Norma Portuguesa;
P.LMAEM.x.xx - Procedimento interno; ufc - unidades formadoras de colónias; EP - European Pharmacopoeia;

Emitido em: 03-07-2020
Relatório de Ensaio assinado eletronicamente
*** 10877 *** 0939/2020 ***
*** 5207cc13fc40751867fb6098362f00c9 ***

Responsável do Laboratório

Helena Barroso

(Helena Barroso, Ph.D.)

O ensaio assinalado com (1) não está incluído no âmbito da acreditação; O ensaio assinalado com (2) foi subcontratado e é acreditado;
O ensaio assinalado com (3) foi subcontratado e não é acreditado; A amostragem não está incluída no âmbito da acreditação;
Os valores expressos na forma < x, são inferiores ao limite de quantificação (x); Os resultados de ensaio referem-se exclusivamente à amostra ensaiada;
Para prevenção de fraude e adulteração, todas as páginas deste relatório são codificadas e o conteúdo não contém quaisquer menções ou correções manuscritas;
Este relatório apenas pode ser reproduzido na íntegra, exceto quando haja autorização expressa do LMAEM;

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA
EGAS MONIZ

Relatório de Ensaios N.º 0940/2020

Código | IMPT.LMAEM.5.34_03

Relatório final - Versão 01

Amostra N.º: 0940/2020

Receção da amostra: 19-06-2020
Início do(s) ensaio(s): 25-06-2020
Fim do(s) ensaio(s): 03-07-2020

Cimai-Engenharia e Quimica Avancada, S.A.

Travessa de S. João, lt 110 Serra Casal de Cambra

2605-192 Belas
Portugal

Produto: Antissético e desinfetante

Responsável colheita: Cliente

Referência do cliente: CIM KA

Identificação da amostra:

CIM KA
Desinfetante Superfícies

Condições armazenamento:

Amostra acondicionada em frasco fechado

Condições experimentais

Produto testado Puro em Condições Sujas
Actividade Fungicida
Tempo de contacto: 5 minutos
Substância interferente
Solução albumina de bovino a 3,0 g/L

Microrganismos testados

(1) *Aspergillus brasiliensis*
ATCC 16404

(1) *Candida albicans*
ATCC 10231

Parâmetro *Método de ensaio / Técnica analítica*	Resultados
(1) Avaliação da atividade fungicida EN 1650:2019 / Filtração por membrana	O produto analisado possui os requisitos indicados pela norma EN 1650 para a atividade fungicida (i.e. o produto provocou uma redução no número de unidades formadoras de colónias igual ou superior a 4 unidades logarítmicas).

Legenda:

ISO - International Standard Organization; EN - Norma Europeia; FP - Farmacopeia Portuguesa; NP - Norma Portuguesa;
P.LMAEM.x.xx - Procedimento interno; ufc - unidades formadoras de colónias; EP - European Pharmacopoeia;

Responsável do Laboratório

Helena Barroso

(Helena Barroso, Ph.D.)

Emitido em: 03-07-2020
Relatório de Ensaio assinado eletronicamente
*** 10878 *** 0940/2020 ***
*** dc6d69724bc34c36653546c96b894ed4 ***

O ensaio assinalado com (1) não está incluído no âmbito da acreditação; O ensaio assinalado com (2) foi subcontratado e é acreditado;
O ensaio assinalado com (3) foi subcontratado e não é acreditado; A amostragem não está incluída no âmbito da acreditação;
Os valores expressos na forma < x, são inferiores ao limite de quantificação (x); Os resultados de ensaio referem-se exclusivamente à amostra ensaiada;
Para prevenção de fraude e adulteração, todas as páginas deste relatório são codificadas e o conteúdo não contém quaisquer menções ou correções manuscritas;
Este relatório apenas pode ser reproduzido na íntegra, exceto quando haja autorização expressa do LMAEM;

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA EGAS MONIZ

Relatório de Ensaios N.º 0941/2020

Código | IMPT.LMAEM.5.34_03

Relatório final - Versão 01

Amostra N.º: 0941/2020

Receção da amostra: 19-06-2020
Início do(s) ensaio(s): 23-06-2020
Fim do(s) ensaio(s): 07-07-2020

Cimai-Engenharia e Quimica Avancada, S.A.

Travessa de S. João, lt 110 Serra Casal de Cambra

2605-192 Belas
Portugal

Produto: Antissético e desinfetante

Responsável colheita: Cliente

Referência do cliente: CIM KA

Identificação da amostra:

CIM KA
Desinfetante Superfícies

Condições armazenamento:

Amostra acondicionada em frasco fechado

Condições experimentais

Produto testado Puro em Condições Sujas

Actividade Bactericida
Tempo de contacto: 5 minutos
Substância interferente:
Solução albumina de bovino a 0,3 g/L

Actividade Fungicida
Tempo de contacto: 15 minutos
Substância interferente
Solução albumina de bovino a 0,3 g/L

Microrganismos testados

(1) *Aspergillus brasiliensis*
ATCC 16404

(1) *Candida albicans*
ATCC 10231

(1) *Enterococcus hirae*
ATCC 10541

(1) *Escherichia coli*
ATCC 10536

(1) *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 15442

Responsável do Laboratório

Helena Barroso

(Helena Barroso, Ph.D.)

Emitido em: 07-07-2020
Relatório de Ensaio assinado eletronicamente
*** 10879 *** 0941/2020 ***
*** 3d916046da359ea25192d9e8b42a7d47 ***

O ensaio assinalado com (1) não está incluído no âmbito da acreditação; O ensaio assinalado com (2) foi subcontratado e é acreditado;
O ensaio assinalado com (3) foi subcontratado e não é acreditado; A amostragem não está incluída no âmbito da acreditação;
Os valores expressos na forma < x, são inferiores ao limite de quantificação (x); Os resultados de ensaio referem-se exclusivamente à amostra ensaiada;
Para prevenção de fraude e adulteração, todas as páginas deste relatório são codificadas e o conteúdo não contém quaisquer menções ou correções manuscritas;
Este relatório apenas pode ser reproduzido na íntegra, exceto quando haja autorização expressa do LMAEM;

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA EGAS MONIZ

Relatório de Ensaios N.º 0941/2020

Código | IMPT.LMAEM.5.34_03

Relatório final - Versão 01

Amostra N.º: 0941/2020

Receção da amostra: 19-06-2020
Início do(s) ensaio(s): 23-06-2020
Fim do(s) ensaio(s): 07-07-2020

Cimai-Engenharia e Quimica Avancada, S.A.

Travessa de S. João, lt 110 Serra Casal de Cambra

2605-192 Belas
Portugal

Produto: Antissético e desinfetante

Responsável colheita: Cliente

Referência do cliente: CIM KA

Identificação da amostra:

CIM KA
Desinfetante Superfícies

Condições armazenamento:

Amostra acondicionada em frasco fechado

(1) *Staphylococcus aureus*
ATCC 6538

Parâmetro *Método de ensaio / Técnica analítica*	Resultados
(1) Avaliação da atividade bactericida e fungicida em superfícies EN 13697:2015+A1:2019 / Diluição / Neutralização	O produto analisado possui os requisitos indicados pela norma EN 13697 para a atividade bactericida e fungicida (i.e. o produto provocou uma redução no número de unidades formadoras de colónias igual ou superior a 4 e 3 unidades logarítmicas, respetivamente)

Legenda:

ISO - International Standard Organization; EN - Norma Europeia; FP - Farmacopeia Portuguesa; NP - Norma Portuguesa;
P.LMAEM.x.xx - Procedimento interno; ufc - unidades formadoras de colónias; EP - European Pharmacopoeia;

Responsável do Laboratório

Helena Barroso

(Helena Barroso, Ph.D.)

Emitido em: 07-07-2020
Relatório de Ensaio assinado eletronicamente
*** 10879 *** 0941/2020 ***
*** 3d916046da359ea25192d9e8b42a7d47 ***

O ensaio assinalado com (1) não está incluído no âmbito da acreditação; O ensaio assinalado com (2) foi subcontratado e é acreditado;
O ensaio assinalado com (3) foi subcontratado e não é acreditado; A amostragem não está incluída no âmbito da acreditação;
Os valores expressos na forma < x, são inferiores ao limite de quantificação (x); Os resultados de ensaio referem-se exclusivamente à amostra ensaiada;
Para prevenção de fraude e adulteração, todas as páginas deste relatório são codificadas e o conteúdo não contém quaisquer menções ou correções manuscritas;
Este relatório apenas pode ser reproduzido na íntegra, exceto quando haja autorização expressa do LMAEM;

SPS Traduções
Tradução, Marketing e Serviços

[Certificado de Tradução]

[Tradução Oficial]

Lisboa - Porto - Faro
Tel 1: 00 351 92 926 35 82
Tel 2: 00 351 96 357 90 50
geral@sps-traducoes.com.pt
www.sps-traducoes.com.pt

SPS Traduções
Tradução, Marketing e Serviços

CERTIFICADO DE TRADUÇÃO

Certifico nos termos e para os efeitos do disposto no Artigo nº 38 do Decreto – Lei nº 76-A/2006 de 29-03, e da portaria nº 657-B/2006, de 29-06, que nesta data, perante mim, abaixo assinado, compareceu Susana Malheiro, casada, residente na Estrada das Biscoiteiras, n.º 16, 4º direito, 2795-038, Linda-a-Velha, pessoa cuja identidade verifiquei por exibição do Cartão do Cidadão nº 12405573 7 ZX7, válido até 07/05/2030, a qual sob compromisso de honra me declarou que a tradução do documento em anexo e escrito em **Francês,** traduzido para **Português,** tradução por ela realizada, fiel e correta do respetivo original, cuja cópia se junta, tradução essa pela qual me declarou assumir inteira e completa responsabilidade.----------

Lisboa, 4 / 1 /2021 .----------

O/A Tradutor(a):

Conta: Gratuito

Registo nº 48441L/15744

O ADVOGADO

Nuno Carvalheira
Céd. Profissional n.º 48441L • NIF 216 980 615
Rua Tierno Galvan, 10, Torre 3 das Amoreiras,
Piso 2, n.º 206, 1070-274 – Lisboa
Telefone 96 290 56 90 geral.uclegal@mail.com
Responsabilidade Limitada

ORDEM DOS ADVOGADOS

REGISTO ONLINE DOS ACTOS DOS ADVOGADOS
Artigo 38.º do Decreto-Lei n.º 76-A/2006, de 29-03
Portaria n.º657-B/2006, de 29-06

Dr.(a) Nuno Carvalheira
CÉDULA PROFISSIONAL: 48441L
IDENTIFICAÇÃO DA NATUREZA E ESPÉCIE DO ACTO
Certificação de traduções de documentos
IDENTIFICAÇÃO DOS INTERESSADOS
Kriterorbis Tradução, Marketing e Serviços, Lda.
NIPC nº. 510266940
OBSERVAÇÕES
Certificação da tradução de documento.

Sem custos.

EXECUTADO A: 2021-01-04 12:04
REGISTADO A: 2021-01-04 12:04
COM O Nº: 48441L/15744

Poderá consultar este registo em http://oa.pt/atos
usando o código 35438482-665582

Laboratoire de Virologie ULR3610
(Laboratório de Virologia)
CHU de Lille – Université de Lille
(Centro Hospitalar de Lille – Universidade de Lille)
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de relatório: 202-/ 12.20-09
Data de edição: 17.12.2020

RELATÓRIO DE ENSAIO

Determinação da atividade virucida da Fórmula CIM KA

De acordo com a Norma NF EN 14476+A2 (julho 2019) em relação ao Coronavírus SARS-CoV-2

Relatório entregue ao: CIMAI

Este relatório de teste é relativo apenas ao produto (indicado abaixo) submetido a ensaio. Os resultados apenas são válidos para a amostra sujeita à dosagem.

Este relatório inclui 9 páginas numeradas e 2 anexos com 4 páginas

A reprodução deste relatório de teste é proibida, exceto sob a forma de reprodução fotográfica (fax) integral. Apenas a versão eletrónica é valida.

I- Introdução

A pedido da sociedade CIMAI, a Fórmula CIM KA foi avaliada em relação às suas propriedades inativadoras de um isolado de Coronavírus Humano SARS- CoV-2. O teste foi efetuado, sem alteração, de acordo com a norma NF EN 14476+A2: Antiséticos e desinfetantes químicos - Ensaio quantitativo de suspensão para a avaliação da atividade virucida no âmbito da medicina - Método de ensaio e requisitos (Fase 2/ Etapa1) – julho 2019.

II- Identificação do produto

- Nome do produto Fórmula CIM KA
- Fabricante : CIMAI
- N° de lote – N° de fórmula:
- Data da amostra (efetuada sob a responsabilidade do cliente)*:
- Data de receção: 24/11/2020
- Aspeto do produto: Transparente
- Substâncias ativas*: *Etanol 70% + benzil-C12-16-alquildimetil*
- pH do produto: Não Diluído (17,3°C) pH= 5,86
- Condições de armazenamento*: Temperatura ambiente, ao abrigo da luz
- Aplicação*: Desinfetante

NB : * : Dados indicados unicamente sob responsabilidade do cliente

III- Condições experimentais

- Período de ensaio: de 30/11/20 a 07/12/20
- Temperatura de ensaio: 20°C +/- 1°C
- Concentrações do produto testado: 80%
- Tempos de contacto: 2 minutos
- Diluente do produto: água destilada
- Aspeto da fórmula e das suas diluições: Preparação fisicamente homogénea e estável durante o ensaio
- Substâncias interferentes: Solução de albumina sérica bovina (ASB) com concentração final no ensaio de 0,3 g de ASB por litro
- Estabilidade da mistura (fórmula e substâncias interferentes): Homogénea

- Método para parar a atividade do produto: Filtração em gel

IV- Material e Métodos

1- Material

a) Vírus

O isolado de Coronavírus Humano SARS-CoV-2 foi obtido a partir de uma amostra respiratória do Serviço de Virologia (Prof. Dr. Didier Hober) do [Hospital] CHU de (França).

Número interno de lote: Lote 010720.01FS

- Título da suspensão de ensaio: $3,16 \times 10^{7,00}$ $DICT_{50}$/ml

b) Linha celular

A linha celular Vero E6 (ATCC CRL-1586) foi utilizada para cultivar o Coronavírus SARS-CoV-2.

Número de passagem: Subcultura P14-7

2- Métodos de ensaio

a) Titulação viral

As suspensões virais tratadas ou não tratadas com o produto a testar são diluídas em séries de 10^{-1} a 10^{-8} no meio MEM modificado Dulbecco (DMEM, Invitrogen, França) com 2% de soro bovino fetal (SBF, Invitrogen, França) em gelo. De seguida, 0,1 ml de cada diluição é transferido para 6 poços de uma placa de 96 poços de microtitulação contendo uma camada monocelular pré-estabelecida de células Vero E6, começando pela diluição mais elevada. Após uma hora de incubação a 37°C na presença de 5% de CO_2, 0,1 ml de meio de cultura é adicionado a cada poço. A leitura do efeito citopatogénico (ECP) é efetuada ao microscópio invertido após 5 e 7 dias de incubação. O cálculo do título da infecciosidade viral (log_{10} $DICT_{50}$/ml) é determinado pelo método Spearman-Karber.

b) Determinação da concentração de sub-citotoxicidade do produto

As soluções de ensaio do produto adicionadas de 1/10° da substância interferente e de 1/10° de água destilada são diluídas de 10^{-1} a 10^{-5} em meio DMEM 2% SBF em gelo. De seguida, 0,1 ml de cada diluição é distribuído pelos 6 poços de uma placa de 96 poços

de microtitulação contendo uma camada monocelular pré-estabelecida de células Vero E6. Após uma hora de incubação a 37°C na presença de 5% de CO_2, 0,1 ml de meio de cultura é adicionado a cada poço. O efeito de sub-citotoxicidade é avaliado após uma incubação de 5 dias a 37°C na presença de 5% de CO_2.

c) Eliminação da citotoxicidade do produto

É filtrado 0,1ml das soluções de ensaio do produto acrescido de 1/10º da substância interferente e 1/10° de água destilada através de coluna Microspin S-400 HR (GE Healthcare). De seguida, os filtrados são diluídos de 10^{-1} a 10^{-3} em meio DMEM a 2% de SBF em gelo. e 0,1 ml de cada diluição é distribuído pelos 6 poços de uma placa de 96 poços de microtitulação contendo uma camada monocelular pré-estabelecida de células Vero E6. Após uma hora de incubação a 37°C na presença de 5% de CO_2, 0,1 ml de meio de cultura é adicionado a cada poço. O efeito de sub-citotoxicidade é avaliado após uma incubação de 5 dias a 37°C na presença de 5% de CO_2.

d) Sensibilidade das células ao vírus

Uma titulação comparativa do vírus é efetuada em células Vero E6 tratadas ou não tratadas pelo desinfetante para testar a redução da sensibilidade das células ao vírus na presença do produto. De seguida, 0,1 ml da mais baixa diluição aparentemente não citotóxica do desinfetante ou de PBS (Perborato de Sódio) é distribuído nos 8 X 6 poços de uma placa de 96 poços de microtitulação contendo uma camada monocelular pré-estabelecida de células Vero E6. Após 1 h a 37°C na presença de 5% de CO_2, o meio de cultura é eliminado dos poços e 0,1 ml de vírus diluído de 10^{-1} a 10^{-8} em meio de cultura a 2% de SBF é distribuído em paralelo sobre células tratadas ou não tratadas. A leitura do efeito citopatogénico (ECP) é efetuada após 5 e 7 dias de incubação a 37°C na presença de 5% de CO_2 e o título viral é calculado.

e) Determinação da atividade virucida do produto

Os ensaios de atividade virucida do produto consistem em colocar em contacto 1 volume de suspensão de vírus com 1 volume de substância interferente e 8 volumes da solução de ensaio. Após os tempos de contacto a uma temperatura de 20°C +/- 1°C, uma alíquota de mistura é recolhida e filtrada através de uma coluna Microspin S-400 HR. A quantidade de vírus residual no filtrado foi avaliada mediante a técnica de titulação sobre célula Vero E6.

A atividade virucida do produto desinfetante é medida calculando a diminuição de título obtido após tratamento por comparação com uma titulação de controlo sem desinfetante. O resultado é expresso em fator de redução (FR).

f) Controlo da eficácia da supressão da atividade do desinfetante

Oito volumes das soluções de ensaio do produto são adicionados a 1 volume de meio de cultura e a 1 volume de substância interferente. Imediatamente após a preparação da mistura, no tempo 0., a quantidade de 0,1ml da mistura é filtrada através de uma coluna Microspin S-400 HR. De seguida, os filtrados são adicionados a 8 volumes de meio de cultura e 1 volume de vírus e incubados durante 30 minutos em banho de gelo fundente. As suspensões virais são diluídas de 10^{-2} a 10^{-8} em um meio de cultura em gelo e a quantidade de vírus residual é avaliada mediante a técnica de titulação sobre célula Vero E6.

g) Inativação do vírus com Formaldeído a 0,7% (m/v)

A suspensão do vírus foi submetida a ensaios virucidas em relação ao Formaldeído a 0,7% (m/v) como substância de referência para a inativação viral para controlar a uniformidade do comportamento da nossa estirpe perante os agentes químicos ao longo do tempo.

Os ensaios consistem em colocar em contacto 1 volume de suspensão de vírus com 4 volumes de solução tamponada com fosfato (PBS, Invitrogen, França) e 5 volumes de Formaldeído a 1,4% (m/v). Após os tempos de contacto de 5 e 15 minutos a uma temperatura de 20°C +/- 1°C, uma alíquota de mistura é recolhida e filtrada através de uma coluna Microspin S-400 HR. A quantidade de vírus residual no filtrado foi avaliada mediante a técnica de titulação sobre célula Vero E6.

V- Resultados

1) Determinação da diluição de sub-citotoxicidade da Fórmula CIM KA e do filtrado através de coluna Microspin:

Método	Diluição de sub-citotoxicidade	
	Fórmula CIM KA (80%)	Formaldeído (0,7%)
Método de diluição	1/10	1/100
Filtração através de Microspin	1/10	1/10

Interpretação

A solução de ensaio do produto não afeta a morfologia nem o crescimento celular.

2) Avaliação da sensibilidade das células ao vírus no seguimento de tratamento com a Fórmula CIM KA ou o Formaldeído a 0,7%

	Log_{10} $DICT_{50}$ (**FR**)	
	Fórmula CIM KA (80%)	Formaldeído (0,7%)
Células não tratadas	7.16 +/- 0.27	7.16 +/- 0.27
Células tratadas	7.50 +/- 0.23 (-0.33 **+/- 0.73**)	7.16 +/- 0.27 (**0.00 +/- 0.78**)

Legenda:
FR : Fator de redução (em log)

Interpretação

Se FR < 1 log_{10}, as condições experimentais são aplicáveis no ensaio para as quantidades de produto utilizadas.

3) *Controlo da eficácia de supressão da atividade do desinfetante*

Produto	Concentração	Log_{10} $DICT_{50}$ (**FR**)
Controlo (Testemunha)	n.a.	7.16+/- 0.21
Fórmula CIM KA	80%	7.16 +/- 0.21 (**0.00 +/- 0.59**)
Controlo (Testemunha)	n.a.	7.33 +/- 0.16
Formaldeído	0,7%	7.66 +/- 0.16 (**-0.33 +/- 0.47**)

Legenda:
FR : Fator de redução (em log)

Interpretação

Se FR≤ 0,5 log_{10}, as condições experimentais são aplicáveis no ensaio para as quantidades de produto utilizadas.

4) Avaliação do efeito virucida da Fórmula CIM KA:

Tabela dos resultados do virucida da fórmula CIM KA em condições de limpeza sobre o Coronavírus SARS-CoV-2 (isolado)

Produto	Concentração	Substância interferente	Log_{10} $DICT_{50}$ após xx minutos (**FR**)		≥4 log redução após xx min
			<0.25	2	
Controlo (Testemunha)	n.a.	0,3 g/l ASB	5.83 +/- 0.21	5.83 +/- 0.21	n.a.
Fórmula CIM KA	80%		1.83 +/- 0.21 (**4.00 +/- 0.59**)	1.50 +/- 0.00 (**4.33 +/- 0.42**)	≥2 min

Legenda:
n.a : não aplicável
n.t.: não testado
FR: Fator de redução (em log)

Interpretação

Taxa de redução mínima sobre os vírus (atividade do virucida) FR ≥ 4 log_{10}

Tabela dos resultados do virucida do Formaldeído 0,7% sobre o Coronavírus - SARS-CoV-2 (isolado)

Produto	Concentração	Substância interferente	Log_{10} $DICT_{50}$ após xx minutos (**FR**)			≥4 log redução após xx *min*
			<0.25	5	15	
Controlo (Testemunha)	n.a.	PBS	5.50 +/- 0.00	n.t.	5.33 +/- 0.16	n.a.
Formaldeído	0,7%		5.50 +/- 0.00 (**0.00+/- 0.00**)	4.83 +/- 0.21 (**0.50 +/- 0.53**)	4.50 +/- 0.00 (**0.83 +/- 0.33**)	>15 min

Legenda:
n.a : não aplicável
n.t.: não testado
FR: Fator de redução (em log)

VI- Opinião/Conclusão

A Fórmula CIM KA encontra-se ativa (redução ≥ 4 log do título viral) em concentração de 80% após um tempo de contacto de 2 minutos a 20°C de acordo com a norma NF EN 14476+A2 (julho 2019) em condições de limpeza em relação a um isolado de Coronavírus SARS-CoV-2.

Lille, 14 12 2020

Responsável técnico	Chefe de Serviço
(assinatura)	(assinatura)
Dr. F. SANE	Prof. Dr. D. HOBER

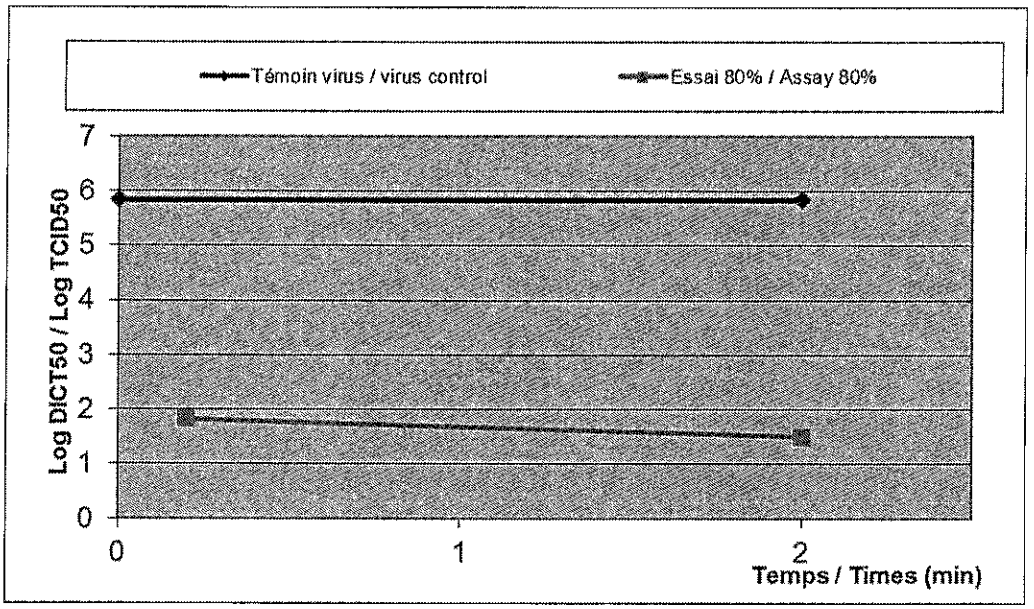
Fim do relatório (relatório completo)

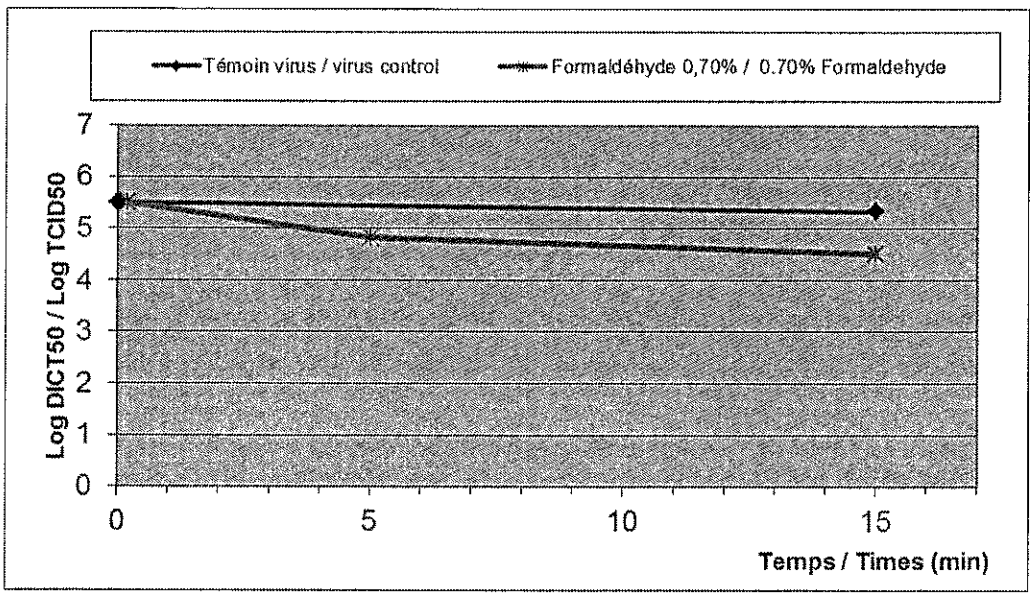
Não será divulgado qualquer resultado sem a autorização do cliente.
Enviar as reclamações para o seguinte endereço de email: didier.hober@chru-lille.fr Os procedimentos de gestão estão disponíveis mediante pedido junto da unidade de qualidade - CelluleQualiteLABO@chru-lille.fr

Anexo 1:

Representação gráfica dos resultados do virucida da Fórmula CIM KA em condições de limpeza e do Formaldeído a 0,7% em relação a um isolado de Coronavírus SARS-CoV-2.

Testemunha *Ensaio 80%*
Tempos (min





Testemunha *Formaldeído 0,70%*
Tempo (min)

Anexo 2:

Dados brutos relativos aos ensaios desenvolvidos

- Título da suspensão do ensaio:

Produto	Diluição (log) [a]							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspensão de ensaio	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

- *Determinação da diluição de sub-citotoxicidade da Fórmula CIM KA e do filtrado através de coluna Microspin*:

Produto	Método	Diluição (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Fórmula CIM KA (80%)	Método de diluição	T	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtração através de Microspin	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldeído (0,7%)	Método de diluição	T	T	T	T	T	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtração através de Microspin	T	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Legenda:
T: Tóxico
T*: Toxicidade parcial
n.t : não testado

- Resultados da sensibilidade das células ao vírus no seguimento de tratamento com a Fórmula CIM KA ou o Formaldeído a 0,7%

Produto	Método	Diluição (log) [a]							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Fórmula CIM KA (80%)	Células não tratadas	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 0 0 0 4 4	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
	Células tratadas	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 0	0 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formaldeído (0,7%)	Células não tratadas	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 0 0 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
	Células tratadas	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Legenda:

(a) 1 a 4 : vírus presentes, grau de ECP (Efeito Citopatogénico Viral) nos 6 poços de placas de microtitulação 0 : nenhum vírus presente.

- Resultados da eficácia de supressão da atividade do desinfetante.

Produto	Diluição (log) [a]							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Controlo (Testemunha)	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Fórmula CIM KA (80%)	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 4 4 0	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Controlo (Testemunha)	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formaldeído (0,7%)	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 4 0	0 0 0 0 0 0

Legenda:

(a) 1 a 4 : vírus presentes, grau de ECP (Efeito Citopatogénico Viral) nos 6 poços de placas de microtitulação 0 : nenhum vírus presente.

- Resultados do virucida da Fórmula CIM KA

Produto	Substância interferente	Tempo de contacto	Diluição (log) (a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Controlo (Testemunha)	0,3 g/l ASB	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 4 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		2 min	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Fórmula CIM KA (80%)		<0.25	4 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		2 min	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Legenda:
(a) 1 a 4 : vírus presentes, grau de ECP (Efeito Citopatogénico Viral) nos 6 poços de placas de microtitulação 0 : nenhum vírus presente.

- Resultados de virucida do Formaldeído 0,7%

Produto	Substância interferente	Tempo de contacto	Diluição (log) (a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Controlo (Testemunha)	PBS	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		15	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formaldeído (0,7%)		<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		5	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 4 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		15	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Legenda:
(a) 1 a 4 : vírus presentes, grau de ECP (Efeito Citopatogénico Viral) nos 6 poços de placas de microtitulação 0 : nenhum vírus presente.

Laboratoire de Virologie ULR3610
CHU de Lille – Université de Lille
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 202-/ 12.20-09
Date d'édition : 17.12.2020

RAPPORT D'ESSAI / *TRIAL REPORT*

Détermination de l'activité virucide de la Formule CIM KA

Selon la Norme NF EN 14476+A2 (Juillet 2019) Vis à vis du Coronavirus SARS-CoV-2

Evaluation of the virucidal effect of the Formula CIM KA

Test method according to the standard NF EN 14476+A2(July 2019) Against the SARS-CoV-2 Coronavirus

Rapport pour / *Report submitted to*:

CIMAI

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage.
This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage

Ce document comporte 9 pages numérotées et 2 annexes de 4 pages
This report is made of 9 numbered pages and 2 annexes of 4 pages

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Seule la version électronique fait foi.
The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction Only the electronic version is valid.

I- Introduction / *Introduction*

A la demande de la société CIMAI, la Formule CIM KA a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre un isolat de Coronavirus Humain SARS-CoV-2. L'essai a été effectué, sans modification, selon la norme NF EN 14476+A2 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Juillet 2019.

As requested by the CIMAI Society, the Formula CIM KA was evaluated for its virucidal inactivating properties against an isolate of Human Coronavirus SARS-CoV-2. The testing was carried out, without modification, in accordance with the standard of NF EN 14476+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) – July 2019.

II- Identification du produit / *Identification of sample*

- Nom du produit / *Name of the product* : FORMULE CIM KA / *FORMULA CIM KA*
- Fabricant / *Manufacturer* : CIMAI
- N° de lot – N° de formule* / *Batch N° - Formula N°** :
- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client)* / *Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer)** :
- Date de réception / *Date of receipt* : 24/11/2020
- Aspect du produit / *Appearance of the product* : Transparent
- Substances actives* / *Active substances** : *Ethanol 70% + Benzyl-c12-16-alkyldimethyl*
- pH du produit / *pH value of the product* : Non Dilué (17,3°C) pH= 5,86 / *Undiluted (17.3°C) pH= 5.86*
- Conditions de stockage* / *Storage conditions** : Température ambiante, à l'abri de la lumière / *Room temperature and darkness*
- Application* / *Use** : Désinfectant / disinfectant

NB : * : Données indiquées sous la seule responsabilité du client / *Data indicated only in the responsibility of the client*

III- Conditions expérimentales / *Experimental conditions*

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 30/11/20 au 07/12/20 / *Through 11/30/20 to 12/07/20*
- Température d'essai / *Test temperature* : 20°C +/- 1°C
- Concentrations en produit testées / *Concentrations of the test product* : 80%
- Temps de contact / *Contact times* : 2 minutes / *minutes*
- Diluant du produit / *Diluent of the product* : eau distillée / *distilled water*
- Apparence de la formule et de ses dilutions / *Appearance of the formula and its dilutions* : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / *Preparation physically homogeneous and stable during test*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) à la concentration finale dans l'essai de 0,3 g de SAB par litre / *Bovine serum albumin (BSA) at final concentration of 0.3 g of BSA per liter in test*
- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Homogène / *hompogeneous.*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration sur gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / *Material and methods*

1- Matériel / *Material*

a) Virus / *Virus*

L'isolat de Coronavirus SARS-CoV-2 a été obtenu à partir d'un prélèvement respiratoire du Service de Virologie (Pr Didier Hober) du CHU de (France).

The isolate of Coronavirus SARS-CoV-2 was obtained from a respiratory sample from the Virology Department (Pr Didier Hober) of the CHU of Lille (France).

Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot 010720.01FS

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay surpernatant* : 3,16 x $10^{7,00}$ $DICT_{50}$/ml / 3.16 x$10^{7.00}$*$TCID_{50}$/ml*

b) Lignée cellulaire / *Cell line*

La lignée cellulaire Vero E6 (ATCC CRL-1586) a été utilisée pour cultiver le Coronavirus SARS-CoV-2.

The Vero E6 cell line (ATCC CRL-1586) was used to grow the Coronavirus SARS-CoV-2.

Nombre de passage / *passage number* : Subculture P14-7

2- Méthodes d'essai / *Methods*

a) Titrage viral / *Determination of the viral infectivity*

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8}, dans du milieu MEM modifié Dulbecco (DMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau fœtal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Vero E6, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO_2, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 5 et 7 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (log_{10} $DICT_{50}$/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Karber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Dulbecco's modified MEM medium (DMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero E6 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 5 and 7 days in a 5% CO_2-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (log_{10} $TCID_{50}$/ml) was carried out by the Spearman-Karber method.

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de 1/$10^{ème}$ de la substance interférente et de 1/$10^{ème}$ d'eau distillée sont diluées de 10^{-1} à 10^{-5} dans du milieu DMEM 2% SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 6 puits d'une plaque 96 puits

de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Vero E6. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO_2, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 5 jours à 37°C en présence de 5% de CO_2.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of distilled water, were diluted from 10^{-1} to 10^{-5} with ice-cold DMEM containing 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero E6 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 5 days at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de 1/10ème de la substance interférente et de 1/10ème d'eau dsitillée sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10^{-1} à 10^{-3} dans du milieu DMEM à 2% de SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules Vero E6. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO_2, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 5 jours à 37°C en présence de 5% de CO_2.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of distilled water, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10^{-1} to 10^{-3} with ice-cold DMEM + 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero E6 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 5 days at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules Vero E6 traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou de PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules Vero E6. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO_2, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10^{-1} à 10^{-8} dans du milieu de culture à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 5 et 7 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO_2 et le titre viral est calculé.

A comparative virus titration is performed on Vero E6 cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-cytotoxic dilution of the disinfectant or of PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero E6 monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10^{-1} to 10^{-8} with culture medium + 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO_2-atmosphere and the virus titer was calculated.

e) Mesure de l'activité virucide du produit / *Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution

d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquot de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero E6.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. Le résultat est exprimé en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different incubation time, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on Vero E6 cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The results are expressed as reduction factor (RF).

f) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant */ Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de milieu de culture et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats sont ensuite additionnés à 8 volume de milieu de culture et 1 volume de virus et incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10^{-2} à 10^{-8} dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero E6.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume culture medium. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with 8 parts by volume of culture medium and 1 part by volume of virus and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10^{-2} to 10^{-8} in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Vero E6 cell.

g) Inactivation du virus au Formaldéhyde à 0,7% (m/v) */ Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) Formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du Formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de Formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 5 min et 15 min à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero E6.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) Formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) Formaldehyde. After incubation time of 5 min and 15 min at 20°C +/- 1°C, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on Vero E6 cell.

V- Résultats / *Results*

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule CIM KA et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula CIM KA and filtrate on Microspin column :*

Méthode / *Method*	Dilution subcytotoxique / *subcytotoxic dilution*	
	Formule CIM KA (80%) / Formula *CIM KA* (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / *Formaldehyde (0.7%)*
Technique par dilution / *Dilution method*	1/10	1/100
Filtration sur Microspin / *Microspin filtration*	1/10	1/10

Interprétation / *Interpretation*

La solution d'essai du produit n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaires.

The product test solution does not affect cell morphology and growth

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule CIM KA ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula CIM KA or 0.7% Formaldehyde*

	Log_{10} $DICT_{50}$ (**FR**) / Log_{10} $TCID_{50}$ (*RF*)	
	Formule CIM KA (80%) / Formula *CIM KA* (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / *Formaldehyde (0.7%)*
Cellules non traitées / *Non treated cells*	7.16 +/- 0.27	7.16 +/- 0.27
Cellules traitées / *Treated cells*	7.50 +/- 0.23 (-0.33 **+/- 0.73**)	7.16 +/- 0.27 (**0.00 +/- 0.78**)

Légende / legend :

FR/*RF* : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

Interprétation / *Interpretation*

Si FR < 1 log_{10}, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

If RF < 1 log_{10}, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.

3) *Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / *Product*	Concentration	Log_{10} $DICT_{50}$ (**FR**) / Log_{10} $TCID_{50}$ (**RF**)
Témoin virus / Virus control	n.a.	7.16+/- 0.21
Formule CIM KA / *Formula CIM KA*	80%	7.16 +/- 0.21 (**0.00 +/- 0.59**)
Témoin virus / *Virus control*	n.a.	7.33 +/- 0.16
Formaldéhyde / *Formaldehyde*	0.7%	7.66 +/- 0.16 (**-0.33 +/- 0.47**)

Légende / legend :
FR/*RF* : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

Interprétation / *Interpretation*

Si FR ≤ 0,5 log_{10}, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

If RF ≤ 0.5 log_{10}, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule CIM KA / *Evaluation of the virucidal activity of the Formula CIM KA* :

Tableau des résultats de virucidie de la CIM KA en conditions de propreté sur le Coronavirus SARS-CoV-2 (isolat)

Table on the virucidal activity of the Formula CIM KA in clean conditions on the Coronavirus SARS-CoV-2 (isolate)

Produit / *Product*	Concentration	Substance interférente / *Interfering solution*	Log_{10} $DICT_{50}$ après xx min (**FR**) / *Log_{10} $TCID_{50}$ after xx min (**RF**)*		≥4 log réduction après xx min / *≥4 log reduction after xx min*
			<0.25	2	
Témoin virus / *Virus control*	n.a.	0,3 g/l SAB / *0.3 g/l BSA*	5.83 +/- 0.21	5.83 +/- 0.21	n.a.
Formule CIM KA / Formula *CIM KA*	80%		1.83 +/- 0.21 **(4.00 +/- 0.59)**	1.50 +/- 0.00 **(4.33 +/- 0.42)**	≥2 min

Légende / legend :
n.a. : non applicable / *non applicable*
n.t. : non soumis à l'essai / *non tested*
FR/*RF* : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

Interprétation / *Interpretation*

Taux de réduction minimum sur les virus (activité virucide) : FR ≥ 4 log_{10}
Minimal reduction rate on virus (virucidal activity): RF ≥ 4 log_{10}

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur le Coronavirus-SARS-CoV-2 (isolat)

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the Coronavirus-SARS-CoV-2 (isolate)

Produit / *Product*	Concentration	Substance interférente / *Interfering solution*	Log_{10} $DICT_{50}$ après xx min (**FR**) / *Log_{10} $TCID_{50}$ after xx min (**RF**)*			≥4 log réduction après xx min / *≥4 log reduction after xx min*
			<0.25	5	15	
Témoin virus / *Virus control*	n.a.	PBS	5.50 +/- 0.00	n.t.	5.33 +/- 0.16	n.a.
Formaldéhyde / *Formaldehyde*	0.7%		5.50 +/- 0.00 **(0.00+/- 0.00)**	4.83 +/- 0.21 **(0.50 +/- 0.53)**	4.50 +/- 0.00 **(0.83 +/- 0.33)**	>15 min

Légende / legend :
n.a. : non applicable / *non applicable*
n.t. : non soumis à l'essai / *non tested*
FR/*RF* : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

VI- Avis/Conclusion / *Advice/Conclusion*

La Formule CIM KA est active (réduction ≥ 4 log du titre viral) à la concentration de 80% après un temps de contact de 2 minutes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A2 (Juillet 2019), dans des conditions de propreté vis-à-vis d'un isolat de Coronavirus SARS-CoV-2.

The Formula CIM KA is active (reduction ≥ 4 log of the viral titer) at the concentration of 80% after 2 minutes of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A2 (July 2019), in clean conditions against an isolate of Coronavirus SARS-CoV-2.

Lille, 14 12 2020

Responsable technique

Dr. F. SANE

Chef de Service

Pr. D. HOBER

Fin du rapport (rapport complet) / *End of the report (complete report)*

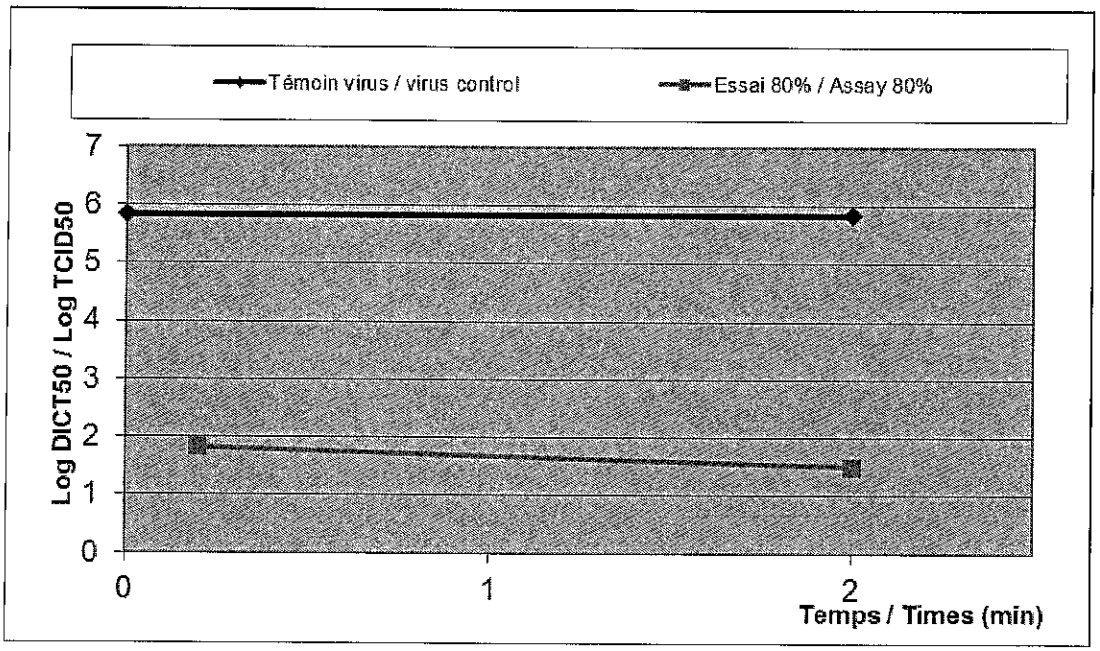
Aucun résultat ne sera diffusé sans l'autorisation du client.
Les réclamations peuvent être transmises par mail à l'adresse : didier.hober@chru-lille.fr
Les modalités de gestion sont disponibles sur demande auprès de la cellule qualité CelluleQualiteLABO@chru-lille.fr

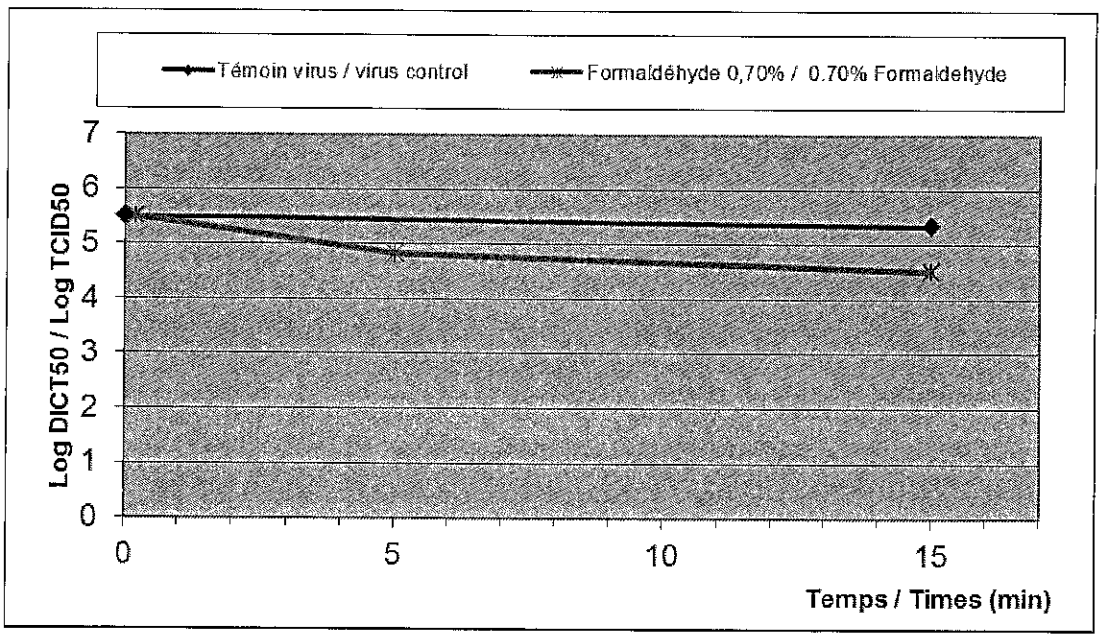
No results will be published without the client's authorization.
Complaints can be sent by email to the address: didier.hober@chru-lille.fr
Management procedures are available on request from the quality unit CelluleQualiteLABO@chru-lille.fr

Annexe 1 / *Annex 1 :*

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule CIM KA en conditions de propreté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis d'un isolat de Coronavirus SARS-CoV-2.

Figure of the virucidal activity of the Formula CIM KA in clean conditions and 0.7% Formaldehyde against an isolate of Coronavirus SARS-CoV-2.





Annexe 2 / *Annex 2 :*

Données brutes relatives aux tests réalisés

Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay surpernatant* :

Produit / *Product*	Dilution (log) [a]							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai / *essai supernatant*	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule CIM KA et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula CIM KA and filtrate on Microspin column* :

Produit / *Product*	Méthode / *Method*	Dilution (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formule CIM KA (80%) / Formula *CIM KA* (80%)	Technique par dilution / *Dilution method*	T	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / *Microspin filtration*	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldéhyde (0,7%) / *Formaldehyde (0.7%)*	Technique par dilution / *Dilution method*	T	T	T	T	T	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / *Microspin filtration*	T	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Légende / legend :
T : Toxique / Toxic
T* : Toxicité partielle / Partial toxicity
n.t. : non soumis à l'essai / non tested

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule CIM KA ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula CIM KA or 0.7% Formaldehyde*

Produit / *Product*	Méthode / *Method*	Dilution (log) [a]							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule CIM KA (80%) / Formula *CIM KA* (80%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 0 0 0 4 4	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 0	0 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formaldéhyde (0,7%) / *Formaldehyde (0.7%)*	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 0 0 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / *Product*	Dilution (log) [a]							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / *Virus control*	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formule CIM KA (80%) / *Formula CIM KA (80%)*	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 4 4 0	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Témoin virus / *Virus control*	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formaldéhyde (0,7%) / *Formaldehyde (0.7%)*	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 4 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie de la Formule CIM KA / *Virucidal activity of the Formula CIM KA*

Produit / *Product*	Substance interférente / *Interfering solution*	Temps de contact / *Contact times*	Dilution (log) [a]							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / *Virus control*	0,3 g/l SAB / *0.3 g/l BSA*	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 4 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		2 min	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formule CIM KA (80%) / Formula *CIM KA* (80%)		<0.25	4 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		2 min	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / *Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde*

Produit / *Product*	Substance interférente / *Interfering solution*	Temps de contact / *Contact times*	Dilution (log) [a]							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / *Virus control*	PBS	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		15	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formaldéhyde (0,7%) / *Formaldehyde (0.7%)*		<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		5	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 4 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		15	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.