

Rapporto di prova n° 200492-TI

TEST PER LA VALUTAZIONE DELL' EFFICACIA IGENIZZANTE

RELAZIONE TECNICO-SPERIMENTALE in base alla norma
Europea UNI EN 1499:2013.

TECHNICAL AND EXPERIMENTAL REPORT according to European Standard
UNI EN 1499:2013

IDRA SANY
Codice: 79907

Rapporto di prova n° 200492-TI

COMMITTENTE / CUSTOMER:

Fra-Ber Srl

Via M Merisi 40-46
24051 Antegnate (BG) - ITALY

DATA/DATE:

20/04/2020

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

SOMMARIO

SCHEDA CAMPIONE.....	3
INTRODUZIONE.....	4
CAMPO DI APPLICAZIONE DELLA NORMA UNI EN 1499:2013.....	6
PRINCIPIO DEL METODO.....	7
INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI.....	9
MATERIALI E METODI	11
SELEZIONE DEI VOLONTARI	15
CRITERI ETICI E DI QUALITÀ.....	16
PROCEDURA SPERIMENTALE	18
RISULTATI	19
CONCLUSIONI.....	25
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	26
ANNEX A STANDARD HANDWASH PROCEDURE.....	28

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

SCHEDA CAMPIONE

SAMPLE SHEET

COMMITTENTE/*Customer:*

Fra-Ber Srl

Via M Merisi 40-46

24051 Antegnate (BG) - ITALY

PRODOTTO/*Product:* **IDRA SANY**

Lotto/*Batch:* **79907**

Ref. PROCHEMIA 200492-TI

- FORMA FISICA/*Physical Form:* Liquido/*Liquid*
- COLORE/*Color:* Trasparente/*Transparent*
- FORMULA: No/*No*
- NOTA/*NOTE:* Nessuna/*None*
- ALTRE INFORMAZIONI/*OTHER INFORMATION*S : Modalità d'uso/*how to use*
- ALTRE INFO SU SICUREZZA DEL PRODOTTO: Nessuna/*None*
Other info on product safety:

ARCHIVIO: Un contro-campione con referenza **PROCHEMIA: 200492-TI** e la documentazione relativa a questo studio verranno conservati rispettivamente per 1 mese e 5 anni nei nostri archivi. Dopo tali periodi, salvo diversa richiesta del cliente, saranno eliminati.

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

INTRODUZIONE

L' emergenza sanitaria innescata da COVID-19 ha determinato in tutto il mondo un aumento significativo delle vendite di prodotti disinfettanti e igienizzanti per le mani. Tali prodotti, prima di essere immessi sul mercato devono essere testati al fine di comprovare la reale efficacia. Con l'eccezione dei saponi non medicati, è necessario testare l'efficacia antimicrobica di ogni nuova formulazione per l'antisepsi delle mani per dimostrare: (i) un'efficacia superiore rispetto ai saponi semplici; (ii) è in grado soddisfare gli standard di performance concordati. I test devono valutare la formulazione nella sua interezza, con tutti i suoi ingredienti, e non solo valutare l'efficacia del suo principio attivo. Studi hanno dimostrato come spesso gli umettanti aggiunti per garantire la migliore tollerabilità cutanea, e i modificatori reologici, impiegati per migliorare l'applicabilità del prodotto, possano alterare l'efficacia del prodotto.

Attualmente sono disponibili molti metodi più o meno appropriati allo scopo. Alcuni tuttavia presentano un grado di approssimazione molto elevato. Ad esempio, la determinazione della concentrazione minima inibitoria (MIC) di tali formulazioni nei confronti dei microorganismi soffre del limite di non avere un rapporto diretto sull'effetto di soppressione previsto per tali prodotti sul campo. Le condizioni di abbattimento microbico che si creano all'interno della sospensione di microorganismi non riflettono la reale efficacia a livello della cute umana. Solamente quei test che prevedono un utilizzo simulato su volontari rappresentano senza dubbio l' approccio più preciso per valutare i vantaggi potenziali di una determinata formulazione igienizzante per le mani e il suo potenziale l'utilizzo sul campo.

La UNI EN 1499:2013, è una norma Europea messa a punto per la valutazione dell'efficacia di prodotti per il lavaggio igienico delle mani a base di disinfettanti chimici ed antisettici. La norma specifica un metodo di prova che simula le condizioni pratiche per stabilire se un prodotto, utilizzato per il lavaggio igienico delle mani, riduce la flora batterica transitoria, sulle mani quando è utilizzato per il lavaggio igienico delle mani di volontari, artificialmente contaminate.

La società Fra-Ber Srl, Via M Merisi 40-46 24051 Antegnate (BG) – ITALY ha commissionato al laboratorio Prochemia-Nextar uno studio su volontari volto a verificare se il prodotto "IDRA SANY" ha un' efficacia sanitizzante in accordo alla norma UNI EN 1499 : 2013 quando applicato sulle mani secondo le indicazioni indicate dal cliente.

PROCHEMIA

INTRODUCTION

Health emergencies triggered by epidemics have led to a significant increase in sales of hand sanitizers and sanitizers worldwide. Before being put on the market, these products must be tested in order to prove their real effectiveness. With the exception of non-medicated soaps, it is necessary to test the antimicrobial efficacy of each new formulation for hand antisepsis to demonstrate that: (i) it has superior efficacy compared to simple soaps; or (ii) meets the agreed performance standards. The tests must evaluate the formulation in its entirety, with all its ingredients, and not only evaluate the effectiveness of its active ingredient. Studies have shown how often the wetters added to ensure the best skin tolerability, and the rheological modifiers, used to improve the applicability of the product, can alter the effectiveness of the product.

There are currently many methods more or less appropriate for the purpose. However, some have too high a degree of approximation. For example, the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of these formulations towards microorganisms suffers from the limitation of not having a direct relationship on the suppression effect expected for such products on the field. The microbial killing conditions that are created within the suspension of microorganisms do not reflect the real effectiveness of the human skin. Only those tests that involve simulated use on volunteers undoubtedly represent the most precise approach to evaluate the potential benefits of a given hand sanitizing formulation and its potential for use in the field.

UNI EN 1499: 2013 is a European standard developed for the evaluation of the effectiveness of products for hygienic hand washing based on chemical disinfectants and antiseptics. The standard specifies a test method that simulates the practical conditions to determine whether a product, used for the hygienic washing of hands, reduces the transitory bacterial flora on the hands when it is used for the hygienic washing of the hands of volunteers, artificially contaminated.

Fra-Ber Srl, Via M Merisi 40-46 24051 Antegnate (BG) - ITALY has commissioned a study on volunteers from the Prochemia-Nextar laboratory to verify whether the product "IDRA SANY" has sanitizing efficacy in accordance with the standard UNI EN 1499: 2013 when applied on the hands according to the indications indicated by the customer.

PROCHEMIA

CAMPO DI APPLICAZIONE DELLA NORMA UNI EN 1499:2013

Questa normativa europea è applicabile ai prodotti per i quali è richiesta l'efficacia disinfettante cutanea contro i batteri. Questa norma viene utilizzata in particolar modo per testare quei disinfettanti chimici e antisettici da utilizzare in aree e situazioni in cui la disinfezione o l'antisepsi sono indicati dal punto di vista medico. Tali indicazioni si verificano nella cura dei pazienti: negli ospedali, nelle strutture mediche della comunità e negli istituti dentistici, nelle cliniche delle scuole, nelle cliniche degli asili e delle strutture infermieristiche e possono verificarsi anche sul posto di lavoro e a casa. Può anche includere servizi come lavanderie e cucine che forniscono prodotti direttamente per il paziente.

Lo scopo della norma UNI EN 1499:2013 è valutare la capacità di un prodotto disinfettante per la pelle di produrre una riduzione del numero di cellule batteriche vitali dell'organismo di prova simulando le condizioni d'uso .

SCOPE OF THE UNI EN 1499: 2013

This European legislation is applicable to products for which skin disinfectant efficacy against bacteria is required. This standard is used in particular to test those chemical disinfectants and antiseptics to be used in areas and situations where disinfection or antiseptics are indicated from a medical point of view. Such indications occur in patient care: in hospitals, in community medical facilities and in dental institutions, in school clinics, in nursery and nursing facility clinics and can also occur in the workplace and at home. It may also include services such as laundries and kitchens that supply products directly to the patient.

The purpose of the UNI EN 1499: 2013 standard is to evaluate the ability of a skin disinfectant product to produce a reduction in the number of vital bacterial cells of the test organism by simulating the conditions of use

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

PRINCIPIO DEL METODO

L'efficacia battericida è verificata come segue: 12 volontari si lavano le mani per 1 minuto con un sapone a base di olio di semi di lino (denominato sapone standard; vedere formula in allegato A) per rimuovere la normale flora batterica presente sulle mani seguendo la procedura indicata nell'allegato B. Successivamente, i volontari immergono la punta delle dita in una sospensione di 5×10^8 UFC/ml del battere E.Coli ceppo K12 per 5 secondi e poi le lasciano asciugare all'aria per 3 minuti. Dopo l'asciugatura, i volontari immergono la stessa area delle dita nelle piastre di Petri, contenenti 10 ml di terreno TSB (vedi materiali e metodi), per 1 minuto (valori iniziali). Immediatamente dopo il rilevamento dei valori iniziali, i 12 volontari vengono ripartiti in due gruppi di sei volontari. Ogni volontario del primo gruppo si lava le mani per 60 secondi con una quantità pari a 5 ml di sapone standard. Successivamente, si sciacquano le mani per 15 secondi sotto l'acqua del rubinetto. Alla fine di questa fase, i volontari del primo gruppo immergono la punta delle dita in piastre di Petri contenenti 10 ml di TSB (valori finali). Allo stesso modo i volontari del secondo gruppo ripeteranno lo stesso procedimento ma questa volta lavandosi le mani con il prodotto da testare (valori finali). Quindi il test viene ripetuto scambiando i due gruppi di volontari. Il primo gruppo si laverà le mani con il prodotto da testare (RP) mentre il secondo si laverà le mani con il sapone standard (PP). La conta batterica viene eseguita su liquidi di campionamento. Al fine di determinare i valori iniziali e finali per tutti i volontari un ml di terreno liquido, contenente la sospensione batterica viene piastrato per inclusione su TSA.

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

METHOD

The bactericidal efficacy is verified as follows: 12 volunteers wash their hands for 1 minute with a soap based on linseed oil (called standard soap; see formula in Annex A) to remove the normal bacterial flora present on the hands following the procedure indicated in Annex B. Subsequently, the volunteers immerse the fingertips in a suspension of 5×10^8 CFU / ml of the E.Coli strain K12 strain for 5 seconds and then let them air dry for 3 minutes. After drying, the volunteers immerse the same area of the fingers in the Petri dishes, containing 10 ml of TSB medium (see materials and methods), for 1 minute (initial values). Immediately after taking the initial values, the 12 volunteers are divided into two groups of six volunteers. Each volunteer in the first group washes their hands for 60 seconds with an amount equal to 5 ml of standard soap. Next, rinse your hands for 15 seconds under tap water. At the end of this phase, the volunteers of the first group immerse their fingertips in Petri dishes containing 10 ml of TSB (final values). In the same way the volunteers of the second group will repeat the same procedure but this time washing their hands with the product to be tested (final values). Then the test is repeated by exchanging the two groups of volunteers. The first group will wash their hands with the product to be tested (final values) while the second will wash their hands with standard soap (Final values) The bacterial count is performed on sampling liquids In order to determine the initial and final values for all the volunteers, one ml of liquid medium containing the bacterial suspension is plated by inclusion on TSA.

PROCHEMIA

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Viene determinato il numero di colonie per ciascuna piastra di Petri. Il valore UFC / ml calcolato viene trasformato in logaritmo comune. Il test è considerato valido se sono disponibili i risultati di 12 soggetti e se la media dei valori logaritmici iniziali sia, per il prodotto di riferimento e per quello sottoposto a test, pari o superiore a 5,00. I risultati del test sono poi valutati in conformità ai seguenti criteri di accettabilità:

- 1) Il valore medio di riduzione logaritmica ottenuto per il prodotto testato deve essere maggiore rispetto a quello ottenuto con il sapone di riferimento;
- 2) La differenza tra i due valori medi di riduzione logaritmica (relativo al sapone di riferimento e al prodotto sottoposto a test) deve essere statisticamente significativa su un panel di almeno 12 volontari.
- 3) Se il fattore medio di riduzione logaritmica del prodotto testato è maggiore di quello ottenuto con lo standard di riferimento, è necessario valutare la significatività statistica delle differenze;
- 4) Se il fattore medio di riduzione logaritmica non è significativamente maggiore di quello ottenuto con lo standard di riferimento, il prodotto non è conforme alla norma UNI EN 1499

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

INTERPRETATION OF RESULTS

The number of colonies is determined for each Petri dish. The calculated UFC / ml value is transformed into a common logarithm. The test is considered valid if the results of 12 subjects are available and if the average value of the initial logarithmic values for both the reference product and the one being tested is equal to or greater than 5.00. The test results are evaluated in accordance with the following acceptability criteria:

- 1) The average logarithmic reduction value obtained for the tested product must be greater than that obtained with the reference soap;*
- 2) The difference between the two average logarithmic reduction values (relative to the reference soap and the product tested) must be statistically significant on a panel of at least 12 volunteers.*
- 3) If the average logarithmic reduction factor of the tested product is greater than that obtained with the reference standard, it is necessary to evaluate the statistical significance of the differences;*
- 4) If the average logarithmic reduction factor is not significantly greater than that obtained with the reference standard, the product does not comply with UNI EN 1499*

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

MATERIALI E METODI**Terreno liquido:**

TRIPTONE SOY (T.S.B) è un terreno altamente nutritivo, di uso generale in laboratorio; La sua formulazione corrisponde a quanto riportato dalla Farmacopea Europea, 3a Ed.. ed a diversi metodi Normati (ISO –ISTISAN- APAT).

Composizione:

- Idrolizzato pancreatico di caseina 15 g
- Peptone di soia 5 g
- Sodio cloruro 5 g
- Acqua purificata 1000 mL; pH finale (a 20±1 °C) 7,0 ± 0,2

Terreno agarizzato:

Composizione:

- Idrolizzato pancreatico di caseina 15 g
- Peptone di soia 5 g
- Sodio cloruro 5 g
- Agar 15 g
- Acqua purificata 1000 mL; pH finale (a 20±1 °C) 7,0 ± 0,2

Sapone standard diluito:

- Olio di semi di lino 50 parti in peso
- Potassio idrossido 9,5 parti in peso
- Etanolo (96%) 7,0 parti in peso
- Acqua distillata calda (75±5) °C quanto necessario

Preparare una soluzione di 9,5 parti di idrossido di potassio in 15 parti di acqua distillata e aggiungere 50 parti di olio di semi di lino. Scaldare fino a 70°C e mescolare in modo costante. Aggiungere etanolo e continuare a scaldare e mescolare fino a che la saponificazione non è completata. La miscela viene portata a 100 parti aggiungendo acqua distillata calda a 75°C. 200 g di questo sapone sono portati a 1000g con acqua distillata e sterilizzato in autoclave per 15 minuti a 121°C. Il pH del sapone standard viene corretto a un valore compreso tra 10.0 e 11.0.

La qualità del sapone standard di riferimento è stata valutata seguendo la procedura indicata nell'allegato D a pagina 26 della norma EN 1499:2013

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)

Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net

Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

Neutralizzante:

- Casein Peptone 15g
- Dextrose 5,5g
- Polysorbate-80 5,0g
- Soy Peptone 5,0g
- Sodium Chloride 4,0g
- Lecithin 1,0g
- Triton X100 1,0g
- L-Cystine 0,7g
- Sodium sulfite 0,2g
- Acqua purificata 1000 mL; pH finale (a 25 ± 1 °C) $7,0 \pm 0,2$

Il neutralizzante è stato testato al fine di verificarne l'assenza di tossicità sul ceppo di E coli utilizzato per lo studio. Per questo test è stata utilizzata la metodica di verifica descritta al punto 5.5.2.1 (Neutralizer control "B").

Per la validazione del neutralizzante (verifica della capacità di neutralizzare molecole anti-batteriche all'interno del prodotto in studio) è stata utilizzata la metodica descritta al punto 5.5.2.2 (Method validation "C").

Microorganismo test:

E.Coli, Escherichia coli K12 NCTC 10538

La sospensione batterica è stata preparata in TSB a una concentrazione di 4×10^8 UFC/ml

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

MATERIALS AND METHODSLiquid media:

TRIPTONE SOY (T.S.B) is a highly nutritive medium, for general use in the laboratory; Its formulation corresponds to what is reported by the European Pharmacopoeia, 3rd Ed .. and to different Standard methods (ISO –ISTISAN- APAT).

Composition:

- Pancreatic hydrolyzate of casein 15 g
- Soy peptone 5 g
- Sodium chloride 5 g
- Purified water 1000 mL; final pH (at 20 ± 1 ° C) 7.0 ± 0.2

Solid media:Composition:

- Pancreatic hydrolyzate of casein 15 g
- Soy peptone 5 g
- Sodium chloride 5 g
- Agar 15 g
- Purified water 1000 mL; final pH (at 20 ± 1 ° C) 7.0 ± 0.2

Diluted reference standard soap:Composition:

- Flaxseed oil 50 parts by weight
- Potassium hydroxide 9.5 parts by weight
- Ethanol (96%) 7.0 parts by weight
- Hot distilled water (75 ± 5) ° C as needed

Prepare a solution of 9.5 parts of potassium hydroxide in 15 parts of distilled water and add 50 parts of flaxseed oil. Heat up to 70 ° C and mix constantly. Add ethanol and continue heating and stirring until saponification is complete. The mixture is brought to 100 parts by adding hot distilled water at 75 ° C. 200 g of this soap are brought to 1000g with distilled water and autoclaved for 15 minutes at 121 ° C. The standard soap pH is corrected to a value between 10.0 and 11.0.

The quality of the reference standard soap was assessed following the procedure indicated in Annex D on page 26 of the EN 1499: 2013.

PROCHEMIA

Rapporto di prova n° 200492-TI

Neutralizing:

- Casein Peptone 15g
- Dextrose 5.5g
- Polysorbate-80 5.0g
- Soy Peptone 5.0g
- Sodium Chloride 4.0g
- Lecithin 1.0g
- Triton X100 1.0g
- L-Cystine 0.7g
- Sodium sulfite 0.2g
- Purified water 1000 mL; final pH (at 25 ± 1 ° C) 7.0 ± 0.2

The neutralizing agent was tested in order to verify its absence of toxicity on the E coli strain used for the study. The verification method described in point 5.5.2.1 (Neutralizer control "B") was used for this test.

For the validation of the neutralizing agent (verification of the ability to neutralize anti-bacterial molecules within the product under study) the method described in point 5.5.2.2 (Method validation "C") was used.

Microorganism test:

E.Coli, Escherichia coli K12 NCTC 10538

The bacterial suspension was prepared in TSB at a concentration of 4×10^8 UFC / ml

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

SELEZIONE DEI VOLONTARI

THE VOLUNTEER SELECTION

Criteri di ammissione e di reclutamento/ Admission criteria and recruitment

Ogni soggetto, all'inizio della prova, ha letto e controfirmato il consenso informato redatto dagli sperimentatori.

Sono stati reclutati 12 soggetti di entrambi i sessi (6 di sesso maschile, 6 di sesso femminile) e di età media pari a 45 anni.

La selezione è stata effettuata secondo i criteri di inclusione ed esclusione riportati di seguito.

Each subject at the beginning of the test, read and written informed consent countersigned by the investigators.

We recruited 12 subjects of both sexes (6 males, 6 females) and the mean age is 45 years.

The selection was made according to the criteria of inclusion and exclusion below.

Criteri di inclusione/ Inclusion criteria

- Razza: Caucasica/ *Ethnicity: Caucasian;*
- Età: adulti dai 18 ai 65 anni/ *Age: adults from 18 to 65 years;*
- Sesso: femminile e maschile/ *Sex: male and female;*
- Stato di salute: assenza di patologie cutanee in atto o nel periodo immediatamente precedente allo studio/ *Healthy: absence of disease ongoing or in the period immediately before the study;*
- Reperibilità/ *Availability.*

Criteri di esclusione/ Exclusion criteria

- Soggetti in corso di trattamento topico o sistemico con qualsiasi farmaco che possa influire sull'esito del test;
- Donne in gravidanza o in allattamento;
- Soggetti colpiti da affezioni cutanee alle mani;
- Soggetti con precedenti di intolleranza a medicinali e/o prodotti cosmetici;
- Soggetti che si sono sottoposti a prove epicutanee nelle quattro settimane precedenti l'inizio dello studio;

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)

Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net

Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

- *Subjects in the course of topical or systemic treatment with any drug that may influence the result of the test;*
- *Women who are pregnant or breast-feeding;*
- *Persons affected by skin diseases;*
- *Subjects with a history of intolerance to drugs and / or cosmetics;*
- *Individuals who have tested epicutaneous in the four weeks prior to the start of the study;*

Drop – out

Si considerano causa di interruzione dello studio le seguenti ragioni/*We consider termination of the trial due to the following reasons:*

- *libera scelta del soggetto/ free choice of the subject;*
- *motivazioni mediche non correlate allo studio (es. malattie, interventi chirurgici, etc.)/ medical reasons unrelated to the study (eg, illness, surgery, etc.);*
- *motivazioni correlate allo studio/The reasons related to the study*
- *I casi di drop-out verificatisi durante lo studio vengono comunque segnalati/ The cases of drop-outs occurred during the study are still reported.*

Restrizioni/ Restrictions

Per tutta la durata della prova vengono imposte le seguenti restrizioni/*For the whole duration of the test, the following restrictions are imposed*

- *applicare prodotti e/o detergenti sulla zona di applicazione / apply the products and / or cleaning the area of application;*
- *effettuare attività sportive/ carry out sports activities;*
- *esporsi ai raggi UVA e UVB/ exposure to UVA and UVB rays.*

CRITERI ETICI E DI QUALITÀ

Questo studio è stato condotto in accordo con i metodi del sistema di gestione qualità, secondo i principi generali di buona pratica di laboratorio (GLP) e di buona pratica clinica (GCP), e secondo i principi definiti nella World Medical Association Declaration of Helsinki.

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

ETHICAL AND QUALITY CRITERIA

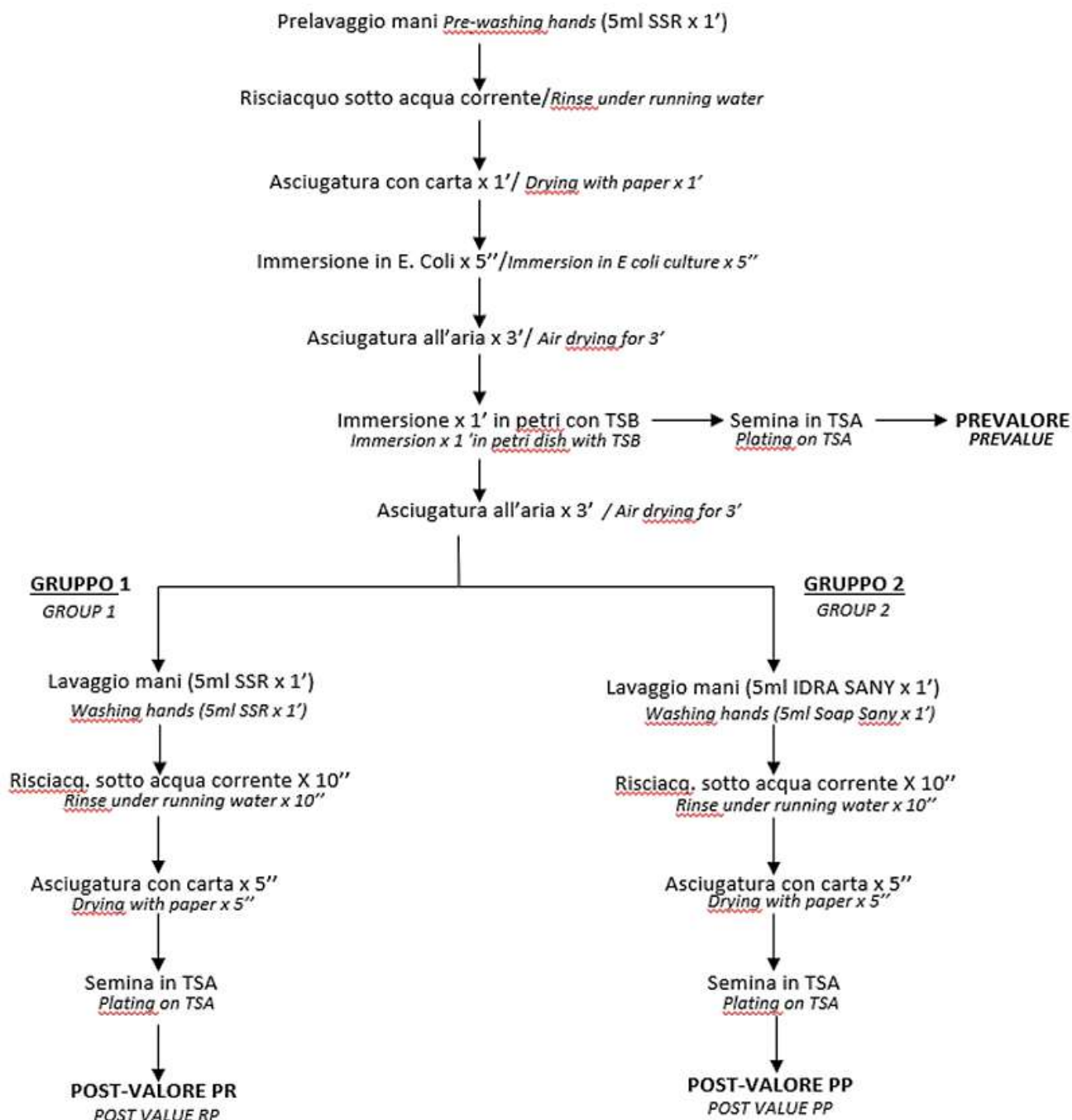
This study was conducted in accordance with the methods of the quality management system, according to the general principles of good laboratory practice (GLP) and good clinical practice (GCP), and according to the principles defined in the World Medical Association Declaration of Helsinki.

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

PROCEDURA SPERIMENTALE *EXPERIMENTAL PROCEDURE*



SSR: Sapone Standard di Riferimento

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
 Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
 Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

RISULTATI

RESULTS

Tabella E.1 – Sapone di riferimento (RP) - Dati sperimentali

Prodotto : Sapone di riferimento diluito -

Procedura di lavaggio: applicato 5 ml su mani asciutte, lavaggio x 60", risciacquo per 15"

Microorg. Test: E. Coli K12 NCTC 10538

 Concentr. Contaminante (N): $4,0 \times 10^8$ cfu/ml

Data esperimento: 16 aprile 2020

Volontari		Numero Colonie per Piastra dopo diluizione				
N°	Mano s/d	Pre-valori		Post valori		
		10^{-4}	10^{-5}	10^0	10^{-1}	10^{-2}
1	s	<u>144</u>	<u>16</u>	>330	263	<u>33</u>
	d	<u>195</u>	<u>17</u>	>330	249	<u>31</u>
2	s	<u>135</u>	11	>330	216	<u>18</u>
	d	<u>168</u>	12	>330	244	<u>22</u>
3	s	<u>101</u>	9	>330	>330	<u>41</u>
	d	<u>93</u>	8	>330	288	<u>35</u>
4	s	<u>89</u>	7	>330	>330	<u>43</u>
	d	<u>77</u>	9	>330	>330	<u>50</u>
5	s	<u>94</u>	11	>330	<u>70</u>	5
	d	<u>103</u>	11	>330	<u>88</u>	7
6	s	<u>202</u>	<u>18</u>	>330	<u>48</u>	2
	d	<u>177</u>	<u>16</u>	>330	<u>76</u>	5
7	s	<u>134</u>	<u>16</u>	>330	140	<u>17</u>
	d	<u>119</u>	13	>330	128	<u>16</u>
8	s	<u>133</u>	15	>330	238	<u>26</u>
	d	<u>145</u>	12	>330	266	<u>28</u>
9	s	<u>45</u>	6	287	<u>102</u>	16
	d	<u>67</u>	7	255	<u>89</u>	12
10	s	<u>82</u>	10	>330	268	<u>29</u>
	d	<u>77</u>	9	>330	229	<u>24</u>
11	s	<u>167</u>	14	>330	>330	<u>42</u>
	d	<u>123</u>	13	>330	278	<u>37</u>
12	s	<u>109</u>	13	>330	<u>86</u>	11
	d	<u>89</u>	11	>330	<u>73</u>	12
Dati sottolineati: conte utilizzate per calcolo lg; >330: non contabile						

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)

Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net

Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI
Tabella E.2 – IDRA SANY (PP) - Dati sperimentali

Prodotto : Sapone "IDRA SANY" PP -

Procedura di lavaggio: applicato 5 ml su mani asciutte, lavaggio x 60", risciacquo per 15"

Microorg. Test: E. Coli K12 NCTC 10538

Concentr. Contaminante (N): $4,0 \times 10^8$ cfu/ml

Data esperimento: 16 aprile 2020

Volontari		Numero Colonie per Piastra dopo diluizione				
N°	Mano s/d	Prevalori		Post valori		
		10^{-4}	10^{-5}	10^0	10^{-1}	10^{-2}
1	s	<u>89</u>	11	>330	<u>89</u>	<u>12</u>
	d	<u>134</u>	12	>330	<u>75</u>	<u>11</u>
2	s	<u>177</u>	<u>21</u>	>330	<u>63</u>	5
	d	<u>165</u>	<u>15</u>	>330	<u>84</u>	6
3	s	<u>132</u>	12	>330	<u>118</u>	13
	d	<u>169</u>	14	>330	<u>96</u>	11
4	s	<u>71</u>	6	231	<u>24</u>	3
	d	<u>56</u>	6	296	<u>36</u>	3
5	s	<u>99</u>	12	225	<u>24</u>	2
	d	<u>73</u>	10	167	<u>15</u>	1
6	s	<u>151</u>	14	123	8	1
	d	<u>132</u>	<u>15</u>	221	<u>17</u>	2
7	s	<u>191</u>	<u>22</u>	>330	<u>75</u>	6
	d	<u>167</u>	13	>330	<u>54</u>	6
8	s	<u>46</u>	3	>330	<u>117</u>	10
	d	<u>56</u>	8	>330	<u>123</u>	10
9	s	<u>122</u>	<u>15</u>	>330	<u>75</u>	6
	d	<u>99</u>	12	256	<u>31</u>	4
10	s	<u>67</u>	9	259	<u>27</u>	4
	d	<u>53</u>	7	236	<u>21</u>	3
11	s	<u>143</u>	<u>17</u>	>330	<u>182</u>	16
	d	<u>128</u>	<u>15</u>	>330	<u>135</u>	14
12	s	<u>163</u>	<u>18</u>	267	<u>32</u>	4
	d	<u>146</u>	<u>17</u>	278	<u>30</u>	4

Dati sottolineati: conte utilizzate per calcolo lg; >330: non contabile

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)

Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net

Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

Tabella E.3 – Elenco dei valori logaritmici relative riduzioni di “Ig”

N°	Sequenza	Sapone di Riferimento (RP)			IDRA SANY (PP)		
		Ig pre-valore	Ig post-valore	Ig R	Ig pre-valore	Ig post-valore	Ig R
1	RP -> PP	6,23	3,41	2,82	6,05	2,91	3,13
2	PP -> RP	6,18	3,36	2,82	6,23	2,87	3,37
3	RP -> PP	5,99	3,58	2,41	6,18	3,03	3,15
4	PP -> RP	5,92	3,67	2,25	5,80	2,48	3,33
5	RP -> PP	5,99	2,90	3,10	5,93	2,29	3,64
6	PP -> RP	6,28	2,79	3,49	6,15	2,10	4,05
7	RP -> PP	6,10	3,13	2,97	6,25	2,81	3,44
8	PP -> RP	6,14	3,40	2,74	5,71	3,08	2,63
9	RP -> PP	5,75	2,98	2,77	6,04	2,72	3,32
10	PP -> RP	5,90	3,40	2,51	5,83	2,38	3,45
11	RP -> PP	6,16	3,60	2,56	6,13	3,20	2,93
12	PP -> RP	6,00	2,90	3,10	6,19	2,49	3,70
Media	Sovrapposto	6,05	3,26	2,79	6,04	2,70	3,34
Dev St.		0,15	0,30	0,33	0,18	0,34	0,36
N°		12	12	12	12	12	12
Media	RP -> PP	6,04	3,26	2,77	6,10	2,83	3,27
Dev St.		0,16	0,29	0,24	0,11	0,28	0,24
N°		6	6	6	6	6	6
Media	PP -> RP	6,07	3,25	2,82	5,98	2,57	3,42
Dev St.		0,15	0,32	0,41	0,22	0,35	0,45
N°		6	6	6	6	6	6

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)

Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net

Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

Controllo dei criteri di accettabilità in accordo ai punti 5.7.1 (a-d) della EN 1499:2013

- E' stato ottenuto un set completo di dati da 12 volontari
- La media del lg pre-valore di RP e PP è pari o maggiore a 5 (RP=6,06; PP=6,04)
- Per il gruppo con sequenza RP -> PP la differenza di lg R: $2,77-3,27 = -0,50$
Per il gruppo con sequenza PP -> RP la differenza di lg R: $2,82-3,42 = -0,60$
Abs $[-0,50 - (-0,60)] = 0,10$ quindi molto inferiore a 2 come richiesto dalla EN 1499:2013

Checking the acceptability criteria according to points 5.7.1 (a-d) of EN 1499: 2013

- A complete set of data was obtained from 12 volunteers
- The average of the pre-value lg of RP and PP is equal to or greater than 5 (RP = 6.06; PP = 6.04)
- For the group with RP -> PP sequence, the difference in lg R: $2.77-3.27 = -0.50$
For the group with PP -> RP sequence the difference of lg R: $2.82-3.42 = -0.60$
Abs $[-0.50 - (-0.60)] = 0.10$ therefore much lower than 2 as required by EN 1499: 2013

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

Analisi statistica dei valori ottenuti di RP e PP (metodo WILCOXON)

Poiché i valori medi di Ig R per il prodotto IDRA Sany sono risultati superiori a quelli ottenuti con il sapone standard di riferimento, sia per quanto riguarda le sequenze sovrapposte che per le sequenze RP -> PP e PP -> RP, si è proceduto all'analisi statistica per la valutazione di livelli di significatività tra le due serie di dati log R (RP) e log R (PP) con il metodo statistico "Wilcoxon's matched-pairs signed-ranks test"

Statistical analysis of the obtained values of RP and PP (WILCOXON method)

Since the average Ig R values for the IDRA Sany product were higher than those obtained with the standard reference soap, both as regards the overlapping sequences and for the RP -> PP and PP -> RP sequences, we proceeded to the statistical analysis for the assessment of significance levels between the two data sets log R (RP) and log R (PP) with the statistical method "Wilcoxon's matched-pairs signed-ranks test"

Volontari	log R		Differenza	Valore della differenza	
	RP	PP	RP-PP	senza segno	con segno
1	2,82	3,13	-0,31	2	-2
2	2,82	3,37	-0,55	6.5	-6.5
3	2,41	3,15	-0,74	10	-10
4	2,25	3,33	-1,07	12	-12
5	3,10	3,64	-0,55	4	-4
6	3,49	4,05	-0,57	8	-8
7	2,97	3,44	-0,47	5	-5
8	2,74	2,63	0,11	1	1
9	2,77	3,32	-0,55	6.5	-6.5
10	2,51	3,45	-0,94	11	-11
11	2,56	2,93	-0,37	3	-3
12	3,10	3,70	-0,60	9	-9
Somma con segno(-)=78 Somma con segno (+)=1					

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
 Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
 Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI**- Risultato 1 –Valore Z**

Il valore di Z è – 2,981. Il valore di p è 0.00288

Il risultato è significativo a $p < 0.01$

- Risultato 2 –Valore W

Il valore di W è 1. Il valore critico per W a N=12 ($p < 0,01$) è 7.

Il risultato è significativo a $p < 0.01$

Result 1 - Z-value

The value of z is -2.981. The p -value is .00288.

The result is significant at $p < .01$.

Result 2 - W-value

The value of W is 1. The critical value for W at $N = 12$ ($p < .01$) is 7.

The result is significant at $p < .01$.

Risultati in dettaglio

Valore-W: 1
Media Differenza: -0,58
Somma "rank" positivi: 1
Somma "rank" negativi: 77

Valore-Z: 2,981
Media (W): 39
Deviazione Standard (W): 12,75

Dimensione campione (M): 12

Result Details

W-value: 1
Mean Difference: -0.58
Sum of pos. ranks: 1
Sum of neg. ranks: 77

Z-value: -2.981
Mean (W): 39
Standard Deviation (W): 12.75

Sample Size (M): 12

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

CONCLUSIONI

Tutti i soggetti selezionati per la prova hanno completato il test e nessuno di essi ha evidenziato irritazioni dopo l'uso del prodotto.

Il test, eseguito su 12 volontari di età variabile compreso tra i 22 e 58 anni (6 maschi e 6 femmine), ha dimostrato come il prodotto IDRA SANY, oggetto dello studio, SIA IN GRADO DI RIDURRE LA FLORA BATTERICA PRESENTE SULLE MANI DI VOLONTARI IN MODO CONFORME ALLA METODICA UNI EN 1499:2013.

CONCLUSIONS

All the subjects selected for the test completed the test and none of them highlighted irritations after using the product. The test, performed on 12 volunteers of variable ages between 22 and 58 years (6 males and 6 females), showed how the product IDRA SANY, object of the study, IS ABLE TO REDUCE THE BACTERIAL FLORA PRESENT ON THE HANDS OF VOLUNTEERS IN COMPLIANCE WITH THE UNI EN 1499: 2013 METHOD.

PhD Dott.ssa Raffaella Ronchi
Resp. Studi Clinici

Dott.ssa Sandra Capezzuoli
Lab. Microbiologia

Dott.ssa Ilaria Finazzi
Resp. Controllo Qualità

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

REFERENCES

1. Rotter M. Hand washing and hand disinfection. In: Mayhall CG, ed. Hospital epidemiology and infection control. 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins; 1999:1339-1355.
2. Jumaa PA. Hand hygiene: simple and complex. International Journal of Infectious Diseases, 2005, 9:3-14.
3. Aiello AE et al. What is the evidence for a causal link between hygiene and infections? Lancet Infectious Diseases, 2002, 2:103-110.
4. Luby SP et al. Effect of intensive handwashing promotion on childhood diarrhea in high-risk communities in Pakistan: a randomized controlled trial. JAMA, 2004, 291:2547-2554.
5. Luby SP et al. The effect of handwashing on child health: a randomized controlled trial. Lancet, 2005, 366:225-233.
6. Mortimer EA et al. Transmission of staphylococci between newborns. Importance of the hands to personnel. American Journal of Diseases in Children, 1962, 104:289-295.
7. Boyce JM et al. Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2002, 51(RR-16):1-45.
8. Bryan P et al. Guidelines for hospital environmental control. Section 1. Antiseptics, handwashing, and handwashing facilities. In: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), ed. Centers for Disease Control (CDC) Hospital Infections Program (HIP): guidelines for prevention and control of nosocomial infections. Atlanta, Springfield, 1981;6-10.
9. Garner JS et al. CDC guideline for handwashing and hospital environmental control, 1985. Infection Control, 1986, 7:231-243.
10. Bjerke NB. The evolution: handwashing to hand hygiene guidance. Critical Care Nursing Quarterly, 2004, 27:295-307.

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Rapporto di prova n° 200492-TI

11. Copping CM. Handwashing in patient care. Washington, DC.: United States Public Health Service, 1961.
12. Larson E. Guideline for use of topical antimicrobial agents. American Journal of Infection Control, 1988, 16:253-266.
13. Larson EL. APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care settings. American Journal of Infection Control, 1995, 23:251-269.
14. HICPAC. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Practices Advisory Committee. Morbidity and Mortality Weekly Report, 1995, 44:1-13.
15. Garner JS. Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Infection Control and Hospital Epidemiology, 1996, 17:53-80.

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)
Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net
Nextar Srl P. IVA 08946900969

Annex A (normative)

Standard handwash procedure

Follow steps 1 to 6. For the reference handwash (diluted soft soap) pre-wet the hands and apply 5 ml to the cupped hands and rub in. For the product under test, follow the manufacturer's instructions regarding pre-wetting, volume of product, frequency of application and volume and time of addition of lukewarm tap water.



Step 1
Palm to palm



Step 2
Right palm over left dorsum and left palm over right dorsum (five times)



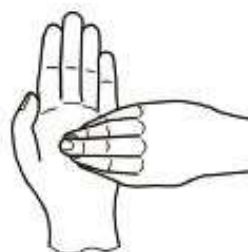
Step 3
Palm to palm with fingers interlaced (five times)



Step 4
Backs of fingers to opposing palms with fingers interlocked (five times)



Step 5
Rotational rubbing of right thumb clasped in left palm and vice versa (five times)



Step 6
Rotational rubbing, backwards and forwards with clasped fingers of right hand in left palm and vice versa (five times)

For the reference handwash, continue washing hands for a contact time of 60 s. Rinse finally for 15 s with tap water. For the product under test, follow the manufacturer's instructions regarding the contact time and eventual repeats of the procedure; the final rinse, however, is always at least 10 s.

Figure A.1 — Standard handwash procedure

PROCHEMIA

SEDE LEGALE: Via Valassina 64- 20851 Lissone (MB); SEDE OPERATIVA: Via Ozanam 4 20811 Cesano Maderno (MB)

Tel. 0362-526855 Fax 0362-526364 www.prochemia.net e-mail: info@prochemia.net

Nextar Srl P. IVA 08946900969