

NELSON

LABORATORIES

FINAL REPORT RELATÓRIO FINAL

VIRUS FILTRATION EFFICIENCY TEST (VFE)

AT AN INCREASED CHALLENGE LEVEL

TESTE DE EFICIÊNCIA DE FILTRAÇÃO VIRAL

PROCEDURE NO. SOP/ARO/018G.1

LABORATORY NO. 357695

PREPARED FOR:

ISMAIL ERSAKAY

ALTERA TIBBI MALZEME SANAYI VE TICARET A.S.

TURAN MAH. TIRE ORGANIZE SANAYI BOLGESI

TIRE, IZMIR 35900

TURKEY

SUBMITTED BY:

NELSON LABORATORIES, INC.

6280 SOUTH REDWOOD ROAD

SALT LAKE CITY, UT 84123-6600

801-963-2600



NELSON

LABORATORIES

VIRUS FILTRATION EFFICIENCY TEST (VFE) AT AN INCREASED CHALLENGE LEVEL

TESTE DE EFICIÊNCIA DE FILTRAÇÃO VIRAL

LABORATORY NUMBER	NÚMERO DO LABORATÓRIO :	357695
PROCEDURE NUMBER	NÚMERO DO PROCEDIMENTO:	SOP/ARO/018G.1
SAMPLE SOURCE	FONTE DA AMOSTRA :	Alterta Tibbi Malzeme Sanayi Ve Ticaret A.S.
SAMPLE IDENTIFICATION	IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA:	Refer to Table 1
DEVIATIONS	DESVIOS :	None
SAMPLE RECEIVED DATE	DATA DE RECEBIMENTO AMOSTRA:	28 Dec 2006
LAB PHASE START DATE	INÍCIO DA FASE DE LABORATÓRIO:	12 Feb 2007
LAB PHASE COMPLETION DATE	TÉRMINO DA FASE DE LABORATÓRIO:	16 Feb 2007
REPORT ISSUE DATE	DATA DE EMISSÃO DO RELATÓRIO :	19 Feb 2007

INTRODUCTION INTRODUÇÃO:

This report describes the procedure and results of the virus filtration efficiency (VFE) at increased challenge level testing. This procedure was performed to determine the filtration efficiency of the test materials using a ratio of the challenge to effluent to determine percent efficiency. This procedure allowed a reproducible aerosol challenge to be delivered to each of the test materials. This test procedure was modified from Nelson Laboratories, Inc., standard VFE test and employed a more severe challenge than would be expected in normal use.

Este relatório descreve o procedimento e os resultados da eficiência de filtração do vírus em testes de nível de desafio aumentados. Este procedimento foi realizado para determinar a eficiência de filtração dos materiais de teste utilizando uma razão de detecção ao efluente para determinar a eficiência percentual. Este procedimento permitiu que um desafio de aerossol reprodutível fosse proporcionado a cada um dos materiais de teste. Este procedimento de teste foi modificado a partir de Nelson Laboratories, Inc., teste padrão e empregou uma detecção mais severa do que seria esperado no uso normal.

NELSON

LABORATORIES

JUSTIFICATION JUSTIFICATIVA:

This VFE test provides a number of advantages over other filtration efficiency tests. The use of all glass impingers (AGIs) in the collection process allowed a high concentration of challenge to be delivered to each test material. The aerosol challenge particle size can be tightly controlled by monitoring the airflow and challenge flow through the nebulizer. The aerosol particles can be sized using a six-stage viable particle Andersen sampler.

Este teste fornece uma série de vantagens em relação a outros testes de eficiência de filtração. O uso de todos os propulsores de vidro no processo de coleta permitiu que uma alta concentração de desafio fosse entregue a cada material de teste. O tamanho das partículas de detecção aerossol pode ser fortemente controlado monitorando o fluxo de ar e desafiando o fluxo através do nebulizador. As partículas de aerossol podem ser dimensionadas usando um classificador de partículas viáveis de seis estágios.

The bacteriophage has a diameter of 27 nm (0.027 μ m) and, therefore, provides a severe challenge to the test filter.

O bacteriófago tem um diâmetro de 27 nm (0,027 μ m) e, portanto, fornece um desafio severo ao filtro de teste.

ACCEPTANCE CRITERIA CRITÉRIO DE ACEITAÇÃO:

The mean particle size (MPS) of the challenge aerosol must be maintained at $3.0 \pm 0.3 \mu$ m.

The average percent virus filtration efficiency (%VFE) for the reference material must be within the upper and lower control limits established for the VFE test.

O tamanho médio da partícula de detecção aerossol deve ser mantido em $3,0 \pm 0,3 \mu$ m.

A média de eficiência de filtração por cento do vírus para o material de referência deve estar dentro dos limites de controle superior e inferior estabelecidos para o teste.

CHALLENGE PROCEDURE PROCEDIMENTO DE DESAFIO:

VFE at an Increased Challenge Level

NELSON

LABORATORIES

The stock bacteriophage (pX174) was prepared by inoculation of ϕ X174 into a log phase culture of *E. coli* C. The culture was shaken at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ until bacterial turbidity cleared. The virus stock was centrifuged to remove large cellular debris and then filtered through a 0.2 μm membrane filter to remove remaining host cell debris. The stock culture was stored at $2-8^\circ\text{C}$.

O estoque de bacteriófago (pX174) foi preparado por inoculação de ϕ X174 em uma cultura de fase de registro de *E. coli* C. A cultura foi centrifugada em $37 \pm 2^\circ\text{C}$ até que a turbidez bacteriana se dissipasse. O estoque do vírus foi centrifugado para remover grandes detritos celulares e, em seguida, filtrado através de um filtro de membrana de 0,2 μm para remover detritos de células hospedeiras restantes. A cultura de estoque foi armazenada em $2-8^\circ\text{C}$.

The challenge suspension was pumped through a 'Chicago' nebulizer using a peristaltic pump at a controlled flow rate and fixed air pressure. The constant challenge delivery formed aerosol droplets of defined size. The challenge level was adjusted to provide a consistent challenge of greater than 10^6 plaque forming units (PFU) per test sample.

A suspensão do desafio foi bombeada através de um nebulizador 'Chicago' usando uma bomba peristáltica a uma taxa de fluxo controlada e pressão de ar fixa. A entrega constante do desafio formou gotículas de aerossol de tamanho definido. O nível de desafio foi ajustado para proporcionar um desafio consistente de mais de 10^6 unidades de formação de placas (PFU) por amostra de teste.

The aerosol droplets were generated in a glass aerosol chamber and drawn through the sample holder and into all AGIs in parallel. Each AGI contained 30 ml- aliquots of sterile peptone water (PEPW) to collect the aerosol droplets. The aerosol challenge flow rate was maintained at 30 Liters per minute (Lpm).

As gotículas de aerossol foram geradas em uma câmara de aerossol de vidro e desenhadas através do suporte de amostra e em todos os propulsores de vidro em paralelo. Cada propulsor e vidro continha 30 ml-aliquots de água peptona estéril para coletar as gotículas de aerossol. A vazão do desafio aerossol foi mantida em 30 Litros por minuto.

The challenge was delivered for a 1 minute interval and sampling through the AGIs was conducted for 2 minutes to clear the aerosol chamber. Control runs (no media in sample holder) were performed after every 5-7 test samples to determine the number of viable particles being generated in the challenge aerosol. The AGI fluid was assayed using standard plaque assay techniques. All plates were incubated at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ for 12-24 hours.

O desafio foi entregue por um intervalo de 1 minuto e a amostragem através dos propulsores de vidro foi realizada por 2 minutos para limpar a câmara de aerossol. As corridas de controle (sem mídia no suporte de amostras) foram realizadas após cada 5-7 amostras de teste para determinar o número de partículas viáveis que estão sendo geradas no desafio aerossol. O fluido AGI foi avaliado usando técnicas padrão de ensaio de placa. Todas as placas foram incubadas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 12-24 horas.

NELSON

LA B O R A T O R I E S

STATEMENT OF UNCERTAINTY DECLARAÇÃO DE INCERTEZA:

If applicable, the statement of uncertainty is available to sponsors upon request.

Se aplicável, a declaração de incerteza está disponível aos patrocinadores mediante solicitação.

RESULTS RESULTADOS:

The filtration efficiencies were calculated using the following equation:

As eficiências de filtração foram calculadas utilizando a seguinte equação:

$$\%VFE = \frac{\text{Plaques without filter} - \text{Plaques with filter}}{\text{Plaques without filter (Control)}} \times 100$$

NELSON

LABORATORIES

The MPS of the challenge aerosol was determined using a six-stage Andersen sampler. The challenge level, MPS, and filtration efficiencies of the samples are summarized in Table 1.

O desafio aerossol foi determinado usando um classificador Andersen de seis estágios. O nível de desafio, mps e eficiência de filtração das amostras são resumidos na Tabela 1.

Stephano W. Gil
Technical Reviewer

Stacey Cushing
Stacey Cushing, B.S.
Study Director

21 Feb 2007
Study Completion Date

NELSON

LABORATORIES

TABLE 1. VFE Results
Lot #06003836

SAMPLE IDENTIFICATION	TOTAL PFU RECOVERED	FILTRATION EFFICIENCY
BACTERIA FILTER - 1	3.6×10^1	99.99944%
BACTERIA FILTER - 2	5.4×10^1	99.99916%
BACTERIA FILTER - 3	8.1×10^1	99.9987%

Challenge Level (PFIJ): 6.4×10^6
PFIJ

Mean Particle Size (MPS): 2.9 μm

NOON

LABORATORIES

All reports and letters issued by Nelson Laboratories, Inc. are for the exclusive use of the sponsor to whom they are addressed. Reports may not be reproduced except in their entirety. No quotations from reports or use of the corporate name is permitted except as expressly authorized by Nelson Laboratories, Inc. in writing. The significance of any data is subject to the adequacy and representative character of the samples tendered for testing. Nelson Laboratories, Inc. warrants that all tests are performed in accordance with established laboratory procedures and standards. Nelson Laboratories, Inc. makes no other warranties of any kind, express or implied. Nelson Laboratories, Inc. expressly states that it makes no representation or warranty regarding the adequacy of the samples tendered for testing for any specific use of application, that determination being the sole responsibility of the sponsor. Nelson Laboratories' liability for any loss or damage resulting from its actions or failure to act shall not exceed the cost of tests performed, and it shall not be liable for any incidental or consequential damages.

Todos os relatórios e cartas emitidos pela Nelson Laboratories, Inc. são para uso exclusivo do patrocinador a quem são abordados. Os relatórios não podem ser reproduzidos, exceto na íntegra. Não são permitidas citações de relatórios ou uso do nome corporativo, exceto conforme expressamente autorizado pela Nelson Laboratories, Inc. por escrito. A significância de qualquer dado está sujeita à adequação e caráter representativo das amostras submetidas à prova. A Nelson Laboratories, Inc. garante que todos os testes sejam realizados de acordo com os procedimentos e normas laboratoriais estabelecidos. A Nelson Laboratories, Inc. não faz nenhuma outra garantia de qualquer tipo, expressa ou implícita. A Nelson Laboratories, Inc. afirma expressamente que não faz representação ou garantia quanto à adequação das amostras propostas para testes para qualquer uso específico da aplicação, sendo essa determinação de responsabilidade exclusiva do patrocinador. A responsabilidade da Nelson Laboratories por qualquer perda ou dano resultante de suas ações ou falha em agir não excederá o custo dos testes realizados, e não será responsável por quaisquer danos incidentais ou consequentes.