

Analyserapport

RAPPORTNUMMER:
924980



**TEKNOLOGISK
INSTITUT**

Teknologiparken
Kongsvang Allé 29
DK-8000 Aarhus C
+45 72 20 20 00
Info@teknologisk.dk
www.teknologisk.dk

Side 1 af 15
Bilag 10
Init.: HSA/ENB

- Rekvirent:** Esko Schmidt-Sørensen
Voss Industry A/S
Solvangsvej 12
DK-4680 Herfølge
- Emne:** Analyse af den antimikrobielle effekt af UVC-box til overfladedesinfektion i henhold til DS/EN 13697:2015 + A1:2019, modificeret udgave.
- Udtagning:** Rekvirenten
- Periode:** Prøvemodtagelse: maj 2020
Prøvningen er gennemført: 7. – 18. maj 2020
- Opbevaring:** Prøvematerialet vil blive destrueret efter 3 måneder, hvis ikke andet er aftalt skriftligt.
- Bemærkning:** Redegørelse for anvendt(e) metode(r) vedrører kun de(t) analyserede emne(r).
- Vilkår:** Prøvningen er udført i henhold til internationale krav (ISO/IEC 17025:2017) og i henhold til Teknologisk Instituts almindelige vilkår. Prøveresultaterne gælder udelukkende for de(t) prøvede emne(r) eller de(n) til analyse udtagne delprøve(r). Analyserapporten må kun gengives i uddrag, hvis Teknologisk Institut skriftligt har godkendt uddraget.
- Dato/sted:** 22. januar 2021
Teknologisk Institut, Aarhus
Kemisk og Mikrobiologisk Laboratorium
- Underskrift:** Helle Stendahl Andersen
Forretningsleder

Indledning

Effektiviteten af UVC-box til desinfektion af en overflade forurenet med bakterier, blev testet i en lukket boks med UVC-lys i henhold til en modificeret udgave af DS/EN 13697:2015 + A1:2019.

Effekten evalueres i forhold til kravet om $\geq \log 4$ reduktioner i cfu-antal af de testede bakterier som angivet i DS/EN 13697:2015 + A1:2019.

Testprocedure

For hver testorganisme blev testsuspensionen blandet med et interfererende stof, overført til en overflade af rustfrit stål og tørret ved 37°C, indtil den var synligt tør.

Den inokulerede overflade blev placeret i apparatet og eksponeret for UVC-lyset i 2 minutter. En referenceprøve med samme testoverflade blev inokuleret og opbevaret i den specificerede kontakttid ved stuetemperatur.

Pladen af rustfrit stål blev efterfølgende overført til en opsamlingsvæske. Antallet af overlevende mikroorganismer blev kvantificeret. Effekten af behandlingen blev udregnet i forhold til referenceprøven for at sikre, at den opnåede log-reduktion skyldes behandlingen i apparatet og ikke tørreproceduren.

Bakterierne blev valgt i henhold til de obligatoriske bakterier til det medicinske område i henhold til EN 16615:2015 og EN 17272:2020.

For at validere metoden, blev en metaldisk med interfererende stof anbragt i UV-box og eksponeret for UVC-lys i 2 minutter. Metaldisken blev overført til fortyndingsmediet, og en valideringssuspension blev tilsat for at validere, at håndteringen i laboratoriet ikke havde nogen negativ effekt på testorganismen.

Eksperimentelle betingelser

| | |
|--|--|
| Testorganismer: | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 |
| <i>Til brug i det medicinske område:</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 |
| | <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 |
| | <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606 |
| | |
| <i>Ekstra bakteriestamme:</i> | <i>Salmonella typhimurum (enterica)</i> ATCC 13311 |
| | |
| Kontaktetid: | 2 min. ± 10 sec. |
| | |
| Testtemperatur: | Stuetemperatur (20-25°C) |
| | |
| Inkubation: | (37 ± 1)°C i 48 timer |
| | |
| Organisk materiale: | Simulerede rene forhold 0,3 g/L i testsuspensionen For <i>P. aeruginosa</i> , som er sensitiv overfor indtørring, blev der benyttet 8,5 g/L skummetmælkspulver |
| | |
| Opsamlingsvæske: | Saline-peptone opløsning (SPO) - 8,5 g/L NaCl og 1 g/L pepton |
| | |
| Testoverflade: | Overflade af rustfrit stål (2 cm diameter) Grade 2 B 1.4301 (EN 10088-1) Testoverfladerne var rene og sterile |
| | |
| Replikater pr. bakterie: | Dobbeltbestemmelse |
| | |
| UVC-box: | |
| SE-Nr. | 2005011 |

Resultatater

| | Kontaktid: 2 min. | Accepteret iht. DS/EN 13969 |
|----------------------|-------------------|-------------------------------|
| Testorganisme | Log-reduktion | Krav: $\geq \log 4$ reduktion |
| <i>P. aeruginosa</i> | 5,8 | Accepteret |
| <i>S. aureus</i> | 4,7 | Accepteret |
| <i>E. hirae</i> | 4,6 | Accepteret |
| <i>A. baumannii</i> | 5,3 | Accepteret |
| <i>S. typhimurum</i> | 5,3 | Accepteret |

Tabel 1. For at bestå test, skal produktet opnå $\geq \log 4$ reduktion for de testede bakterier.

Se bilag 1-10 for detaljerede resultater.

Konklusion

Behandling i UVC-box med en eksponeringstid i 2 minutter gav en log-reduktion af alle de testede organismer på $\geq \log 4$. Det kan derfor konkluderes at UVC-box har en bakteriedræbende aktivitet på overflader med simulerede rene forhold.

Analysemetode

Prøverne blev analyseret i henhold til:

DS/EN 13697:2015+A1:2019, modificeret udgave.: Kvantitativ non-porøs overfladeprøvning til evaluering af bakterie- og/eller svampedræbende aktivitet af kemiske desinfektionsmidler til brug i fødevarerindustrien, hos forbrugere samt institutioner - Prøvningsmetode og krav (fase 2, trin 2)

Testorganismer blev udvalgt og prøver analyseret i henhold til:

Modificeret udgave af EN 17272:2020. Luftbårne automatiserede processer til desinfektion af overflader i rum – Påvisning af antimikrobiel effekt overfor vegetative bakterier, mycobakterier, sporer, skimmelsvampe, gærsvampe, virus og bakteriofager.

Testorganismer blev udvalgt i henhold til:

EN 16615:2015. Kemiske desinfektionsmidler og antiseptiske midler - Kvantitativ prøvningsmetode til evaluering af bakteriedræbende og svampedræbende aktivitet på ikke porøse overflader med mekanisk anvendelse af servietter eller mopper i det medicinske område - Prøvningsmetode og krav (fase 2, trin 2)

Bilag 1

| | |
|--|------------------|
| Produktkoncentration / Eksponeringstid | UVC-lys / 2 min. |
|--|------------------|

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) | $5 \cdot 10^7 \leq N \leq 2 \cdot 10^9$ $7,7 \leq \log(N) \leq 9,3$ | N [celler/metaldisk] Log(N) |
|---|------------------|----------------------|------|-------------------------|--|--------------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 4,95·10 ⁸ | 7,7 ≤ 8,7 ≤ 9,3 Accepteret | 2,48·10 ⁷ |
| | 10 ⁻⁷ | 43 | 56 | 8,69 | 8,7 | 7,39 |

| Kontrolplader | Fortynding | Tælleletal pr. plade T1 | | T1: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T1) | Tælleletal pr. plade T2 | | T2: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T2) |
|---|------------------|----------------------------|------|---|----------------------------|------|--|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | 10 ⁻¹ | >330 | >330 | 2,11·10 ⁶ | >330 | >330 | 6,75·10 ⁶ |
| | 10 ⁻² | 210 | 199 | Accepteret | >330 | >330 | Accepteret |
| | 10 ⁻³ | 30 | 26 | 6,33 | 69 | 66 | 6,83 |
| | 10 ⁻⁴ | 4 | 3 | | 6 | 8 | |

| Test | Fortynding/ filtrerings- volumen | Tælleletal pr. plade, Test 1 | | Tælleletal pr. plade, Test 2 | | Resultat | n'1+n'2 | Log(n'1+n'2) | Logreduktion T = 6,58 |
|---|--|---------------------------------|----|---------------------------------|----|-----------------|----------------------|--------------|--------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | 10 ⁰ | <1 | <1 | <1 | 2 | Test 1 | 2,30·10 ⁰ | 0,36 | 6,22 |
| | 10 ⁻¹ | <1 | <1 | <1 | 1 | Test 2 | 1,40·10 ¹ | 1,15 | 5,43 |
| | 10 ⁻² | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 ⁻³ | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 mL | <1 | | | 1 | Gennem- snit | 8,15·10 ⁰ | 0,75 | 5,8 ± 0,6 |
| 87 mL | 2 | | 14 | | | | | | |
| n'2: CFU/metal disk | | <1 | | 4 | | | | | |

Tabel 2: n'1: CFU/membranfilter. n'2: CFU/disk. Beregningerne er lavet på baggrund af tællinger mellem 14 og 330. Hvis der er <14/mL i de ufortyndede prøver, benyttes kun resultatet fra filtreringen i beregning. Tælleletal <14 CFU på filtrerne er inkluderet i den endelige beregning som <14.

Bilag 2

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Metodevalidering | UVC-lys/2 min. |
| Produktkoncentration | |

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) |
|---|-------------------|-----------------------------|------|---------------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 4,95·10 ⁸ |
| | 10 ⁻⁷ | 43 | 56 | 8,69 |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|---|-------------------|--------------------------------|----|--|
| Neutraliserings- /fortyndingsmetoden | 10 ⁻⁷ | 28 | 33 | 3,04·10 ⁸ |
| | | | | 8,48 |
| | | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|---|-------------------|--------------------------------|--|--|
| Membranfiltrering | 10 ⁻⁷ | 33 | | 3,30·10 ⁸ |
| | | | | 8,52 |
| | | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding af testorganisme tilført metaldisken | Tælleletal pr. plade | Metaldisk celler/mL/Log₁₀ |
|--|--|-----------------------------|---|
| Hæmmende effekt af metaldisk støbt ind i agarosegel | 10 ⁻⁷ | 24 | 2,40·10 ⁸ |
| | | | 8,38 |
| | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | | | |

1 mL af den benyttede testsuspension blev tilført for at undersøge, om metaldisken indstøbt i agarosegel havde en hæmmende effekt på væksten.

Resultater

| Log₁₀ for testsuspension | Log₁₀ for VC for neutraliserings- /fortyndingsmetoden | Log₁₀ for VC for membranfiltreringsmetoden | Log₁₀ for testorganisme tilført metaldisken |
|--|---|--|---|
| 8,69 | 8,48 | 8,52 | 8,38 |

Tabel 3: Resumé af metodevalideringen udført for *P. aeruginosa*.

Kommentarer

Neutraliseringsmidlet havde ingen toksisk effekt på den benyttede testorganisme. Membranfiltrering og indstøbning af disk i agarosegel havde ingen signifikant hæmmende eller toksisk effekt på den benyttede testorganisme.

Bilag 3

| | |
|--|----------------|
| Produktkoncentration / Eksponeringstid | UVC-lys/2 min. |
|--|----------------|

| Testsuspension N | Fortynding | Tælletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) | $5 \cdot 10^7 \leq N \leq 2 \cdot 10^9$ $7,7 \leq \log(N) \leq 9,3$ | N [celler/metaldisk] Log(N) |
|---|------------------|--------------------|------|-------------------------|--|--------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 3,57·10 ⁹ | 7,7 ≤ 9.6 ≤ 9,3 Accepteret* | 1,78·10 ⁸ |
| | 10 ⁻⁷ | 387 | 320 | 9, 55 | 9.6 | 8,25 |

*Testsuspension er lidt højere end forventet, men er accepteret, da det stadig er muligt at vise ≥log 4 reduktion.

| Kontrolplader | Fortynding | Tælletal pr. plade T1 | | T1: [celler/metaldisk] ≥1·10 ⁶ CFU/disk Log(T1) | Tælletal pr. plade T2 | | T2: [celler/metaldisk] ≥1·10 ⁶ CFU/disk Log(T2) |
|---|------------------|--------------------------|------|--|--------------------------|------|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 10 ⁻¹ | >330 | >330 | 3,18·10 ⁷ Accepteret | >330 | >330 | 1,57·10 ⁷ |
| | 10 ⁻² | >330 | >330 | | >330 | >330 | Accepteret |
| | 10 ⁻³ | 293 | 333 | 7,50 | 154 | 159 | 7,19 |
| | 10 ⁻⁴ | 40 | 33 | | 12 | 20 | |

| Test | Fortynding / filtrerings- volumen | Tælletal pr. plade, Test 1 | | Tælletal pr. plade, Test 2 | | Resultat | n'1+n'2 | Log(n'1+n'2) | Log- reduktion T = 7,35 |
|---|---|-------------------------------|---|-------------------------------|----|-----------------|----------------------------|--------------|-------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 10 ⁰ | 2 | 1 | <1 | 1 | Test 1 | 5,83·10 ² | 2,77 | 4,58 |
| | 10 ⁻¹ | 2 | 2 | <1 | <1 | Test 2 | 2,91·10 ² | 2,46 | 4,88 |
| | 10 ⁻² | 1 | 1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 ⁻³ | <1 | 1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 mL | 58 | | 29 | | Gennem- snit | 4,37·10² | 2,61 | 4,7±0.2 |
| | 87 mL | >165 | | >165 | | | | | |
| n'2: CFU/metaldisk | | 3 | | 1 | | | | | |

Tabel 4: n'1: CFU/membranfilter. n'2: CFU/disk. Beregningerne er lavet på baggrund af tællinger mellem 14 og 330. Hvis der er <14/mL i de ufortyndede prøver, benyttes kun resultatet fra filtreringen i beregning. Tælletal <14 CFU på filtrene er inkluderet i den endelige beregning som <14.

Bilag 4

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Metodevalidering | UVC-lys/2 min. |
| Produktkoncentration | |

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) |
|--|-------------------|-----------------------------|------|---------------------------------|
| Staphylococcus aureus ATCC 6538 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 3,57·10 ⁹ |
| | 10 ⁻⁷ | 387 | 320 | 9,55 |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|--|-------------------|--------------------------------|-----|--|
| Neutraliserings- fortyndingsmetoden | 10 ⁻⁷ | 369 | 363 | 3,66·10 ⁹ |
| | | | | 9,56 |
| Staphylococcus aureus ATCC 6538 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|--|-------------------|--------------------------------|--|
| Membranfiltrering | 10 ⁻⁷ | >165 | ≥1,65·10 ⁹ |
| | | | ≥9,22 |
| Staphylococcus aureus ATCC 6538 | | | |

| Metodevalidering | Fortynding af testorganisme tilført metaldisken | Tælleletal pr. plade | Metaldisk celler/mL/Log₁₀ |
|--|--|-----------------------------|---|
| Hæmmende effekt af metaldisk støbt ind i agarosegel | 10 ⁻⁷ | 298 | 2,98·10 ⁹ |
| | | | 9,47 |
| Staphylococcus aureus ATCC 6538 | | | |

Resultater

| Log₁₀ for testsuspension | Log₁₀ for VC for neutraliserings- /fortyndingsmetoden | Log₁₀ for VC for membranfiltreringsmetoden | Log₁₀ for testorganisme tilført metaldisken |
|--|---|--|---|
| 9,55 | 9,56 | ≥9,22 | 9,47 |

Tabel 5: Resumé af metodevalideringen udført for *S. aureus*.

Kommentarer

Neutraliseringsmidlet havde ingen toksisk effekt på den benyttede testorganisme. Membranfiltrering og indstøbning af disk i agarosegel havde ingen signifikant hæmmende eller toksisk effekt på den benyttede testorganisme.

Bilag 5

| | |
|--|------------------|
| Produktkoncentration / Eksponeringstid | UVC-lys / 2 min. |
|--|------------------|

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) | $5 \cdot 10^7 \leq N \leq 2 \cdot 10^9$ $7,7 \leq \log(N) \leq 9,3$ | N [celler/metaldisk] Log(N) |
|---|------------------|----------------------|------|-------------------------|--|--------------------------------|
| <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 3,37·10 ⁹ | 7,7 ≤ 9,5 ≤ 9,3 Accepteret* | 1,68·10 ⁸ |
| | 10 ⁻⁷ | 364 | 309 | 9,53 | 9,5 | 8,23 |

*Testsuspension er lidt højere end forventet, men er accepteret, da det stadig er muligt at vise ≥log 4 reduktion.

| Kontrolplader | Fortynding | Tælleletal pr. plade T1 | | T1: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T1) | Tælleletal pr. plade T2 | | T2: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T2) |
|---|------------------|----------------------------|------|---|----------------------------|------|--|
| <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 | 10 ⁻¹ | >330 | >330 | 6,55·10 ⁷ | >330 | >330 | 4,40·10 ⁷ |
| | 10 ⁻² | >330 | >330 | Accepteret | >330 | >330 | Accepteret |
| | 10 ⁻³ | >330 | >330 | 7,82 | >330 | >330 | 7,64 |
| | 10 ⁻⁴ | 69 | 62 | | 40 | 48 | |

| Test | Fortynding/ filtrerings- volumen | Tælleletal pr. plade, Test 1 | | Tælleletal pr. plade, Test 2 | | Resultat | n'1+n'2 | Log(n'1+n'2) | Log reduktion T = 7,73 |
|---|--|---------------------------------|----|---------------------------------|----|-----------------|----------------------|--------------|------------------------------|
| <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 | 10 ⁰ | 21 | 20 | 12 | 9 | Test 1 | 2,06·10 ³ | 3,31 | 4,42 |
| | 10 ⁻¹ | 4 | 3 | 1 | 2 | Test 2 | 1,05·10 ⁵ | 3,02 | 4,71 |
| | 10 ⁻² | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 ⁻³ | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 mL | >165 | | >165 | | Gennem- snit | 1,55·10 ³ | 3,17 | 4,6±0,2 |
| | 87 mL | >165 | | >165 | | | | | |
| n'2: CFU/metaldisk | | 5 | | 1 | | | | | |

Tabel 6: n'1: n'1: CFU/membranfilter. n'2: CFU/disk. Beregningerne er lavet på baggrund af tællinger mellem 14 og 330. Hvis der er <14/mL i de ufortyndede prøver, benyttes kun resultatet fra filtreringen i beregning. Tælleletal <14 CFU på filtrene er inkluderet i den endelige beregning som <14.

Bilag 6

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Metodevalidering | UVC-lys/2 min. |
| Produktkoncentration | |

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) |
|--|-------------------|-----------------------------|------|---------------------------------|
| Enterococcus hirae ATCC 10541 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 3,37·10 ⁹ |
| | 10 ⁻⁷ | 364 | 309 | 9,53 |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|---|-------------------|--------------------------------|-----|--|
| Neutraliserings- /fortyndingsmetoden | 10 ⁻⁷ | 343 | 375 | 3,59·10 ⁹ |
| | | | | 9,55 |
| Enterococcus hirae ATCC 10541 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|--|-------------------|--------------------------------|--|
| Membranfiltrering | 10 ⁻⁷ | >165 | ≥1,65·10 ⁹ |
| | | | ≥9,22 |
| Enterococcus hirae ATCC 10541 | | | |

| Metodevalidering | Fortynding af testorganisme tilført metaldisken | Tælleletal pr. plade | Metaldisk celler/mL/Log₁₀ |
|--|--|-----------------------------|---|
| Hæmmende effekt af metaldisk støbt ind i agarosegel | 10 ⁻⁷ | 275 | 2,75·10 ⁹ |
| | | | 9,44 |
| Enterococcus hirae ATCC 10541 | | | |

1 mL af den benyttede testsuspension blev tilført for at undersøge om metaldisken, indstøbt i agarosegel, havde en hæmmende effekt på væksten.

Resultater

| Log₁₀ for testsuspension | Log₁₀ for VC for neutraliserings- /fortyndingsmetoden | Log₁₀ for VC for membranfiltreringsmetoden | Log₁₀ for testorganisme tilført metaldisken |
|--|---|--|---|
| 9,53 | 9,55 | ≥9,22 | 9,44 |

Tabel 7: Resumé af metodevalideringen udført for *E. hirae*.

Kommentarer

Neutraliseringsmidlet havde ingen toksisk effekt på den benyttede testorganisme. Membranfiltrering og indstøbning af disk i agarosegel havde ingen signifikant hæmmende eller toksisk effekt på den benyttede testorganisme.

Bilag 7

| | |
|--|----------------|
| Produktkoncentration / Eksponeringstid | UVC-lys/2 min. |
|--|----------------|

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) | $5 \cdot 10^7 \leq N \leq 2 \cdot 10^9$ $7,7 \leq \log(N) \leq 9,3$ | N [celler/metaldisk] Log(N) |
|--|------------------|----------------------|-----|-------------------------|--|--------------------------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606 | 10 ⁻⁶ | 218 | 211 | 2,15·10 ⁸ | 7,7 ≤ 8,3 ≤ 9,3 Accepteret | 1,07·10 ⁷ |
| | 10 ⁻⁷ | 23 | 11 | 8,33 | 8,3 | 7,03 |

| Kontrolplader | Fortynding | Tælleletal pr. plade T1 | | T1: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T1) | Tælleletal pr. plade T2 | | T2: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T2) |
|--|------------------|----------------------------|------|---|----------------------------|------|---|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606 | 10 ⁻¹ | >330 | >330 | 1,14·10 ⁶ | >330 | >330 | 1,04·10 ⁶ |
| | 10 ⁻² | 118 | 109 | Accepteret | 104 | 103 | Accepteret |
| | 10 ⁻³ | 7 | 12 | 6,05 | 12 | 11 | 6,01 |
| | 10 ⁻⁴ | 1 | 2 | | 1 | <1 | |

| Test | Fortynding/ filtrerings- volumen | Tælleletal pr. plade, Test 1 | | Tælleletal pr. plade, Test 2 | | Resultat | n'1+n'2 | Log (n'1+n'2) | Logreduktion T = 6,03 |
|--|--|---------------------------------|----|---------------------------------|----|-----------------|----------------------|------------------|--------------------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606 | 10 ⁰ | 2 | <1 | <1 | <1 | Test 1 | 1,80·10 ⁰ | 0,07 | 5,96 |
| | 10 ⁻¹ | <1 | <1 | <1 | 1 | Test 2 | 2,59·10 ¹ | 1,42 | 4,62 |
| | 10 ⁻² | <1 | <1 | <1 | 1 | | | | |
| | 10 ⁻³ | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 mL | <1 | | 2 | | Gennem- snit | 1,35·10 ¹ | 0,74 | 5,3 ± 0,9 |
| | 87 mL | 1 | | 5 | | | | | |
| n'2: CFU/metal disk | | <1 | | <1 | | | | | |

Tabel 8: n'1: CFU/membranfilter. n'2: CFU/disk. Beregningerne er lavet på baggrund af tællinger mellem 14 og 330. Hvis der er <14/mL i de ufortyndede prøver, benyttes kun resultatet fra filtreringen i beregning. Tælleletal <14 CFU på filtrene er inkluderet i den endelige beregning som <14.

Bilag 8

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Metodevalidering | UVC-lys/2 min. |
| Produktkoncentration | |

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) |
|---|-------------------|-----------------------------|-----|---------------------------------|
| Acinetobacter baumannii ATCC 19606 | 10 ⁻⁶ | 218 | 211 | 2,15·10 ⁸ |
| | 10 ⁻⁷ | 23 | 11 | 8,33 |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|---|-------------------|--------------------------------|----|--|
| Neutraliserings- /fortyndingsmetoden | 10 ⁻⁷ | 26 | 22 | 2,39·10 ⁸ |
| | | | | 8,38 |
| Acinetobacter baumannii ATCC 19606 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|--|-------------------|--------------------------------|--|--|
| Membranfiltrering | 10 ⁻⁷ | 22 | | 2,20·10 ⁸ |
| | | | | 8,34 |
| Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding af testorganisme tilført metaldisken | Tælleletal pr. plade | Metaldisk celler/mL/Log₁₀ |
|--|--|-----------------------------|---|
| Hæmmende effekt af metaldisk støbt ind i agarosegel | 10 ⁻⁷ | 19 | 1,90·10 ⁸ |
| | | | 8,28 |
| Acinetobacter baumannii ATCC 19606 | | | |

1 mL af den benyttede testsuspension blev tilført for at undersøge om metaldisken, indstøbt i agarosegel, havde en hæmmende effekt på væksten.

Resultater

| Log₁₀ for testsuspension | Log₁₀ for VC for neutraliserings- fortyndingsmetoden | Log₁₀ for VC for membranfiltreringsmetoden | Log₁₀ for testorganisme tilført metaldisken |
|--|--|--|---|
| 8,33 | 8,38 | 8,34 | 8,28 |

Tabel 9: Resumé af metodevalideringen udført for *A. baumannii*.

Kommentarer

Neutraliseringsmidlet havde ingen toksisk effekt på den benyttede testorganisme. Membranfiltrering og indstøbning af disk i agarosegel havde ingen signifikant hæmmende eller toksisk effekt på den benyttede testorganisme.

Bilag 9

| | |
|--|----------------|
| Produktkoncentration / Eksponeringstid | UVC-lys/2 min. |
|--|----------------|

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) | $5 \cdot 10^7 \leq N \leq 2 \cdot 10^9$ $7,7 \leq \log(N) \leq 9,3$ | N [celler/metaldisk] Log(N) |
|---|------------------|----------------------|------|-------------------------|--|--------------------------------|
| <i>Salomonella typhimurum</i> ATCC 13311 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 4,60·10 ⁸ | 7,7 ≤ 8,7 ≤ 9,3 Accepteret | 9,00·10 ⁶ |
| | 10 ⁻⁷ | 36 | 56 | 8,66 | 8,7 | 6,95 |

| Kontrolplader | Fortynding | Tælleletal pr. plade T1 | | T1: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T1) | Tælleletal pr. plade T2 | | T2: [celler/metaldisk] ≥ 1·10 ⁶ CFU/disk Log(T2) |
|---|------------------|----------------------------|-----|---|----------------------------|-----|--|
| <i>Salomonella typhimurum</i> ATCC 13311 | 10 ⁻¹ | 279 | 266 | 2,75·10 ⁵ Accepteret* | 192 | 232 | 2,19·10 ⁵ Accepteret |
| | 10 ⁻² | 40 | 21 | | 30 | 27 | |
| | 10 ⁻³ | 4 | 1 | 5,44 | 2 | 4 | 5,34 |
| | 10 ⁻⁴ | 1 | 2 | | 2 | <1 | |

*Koncentrationen på kontroldiskene efter indtørring er en smule mindre end forventet, men er accepteret, da det stadig er muligt at vise ≥log 4 reduktion.

| Test | Fortynding/ filtrerings- volumen | Tælleletal pr. plade, Test 1 | | Tælleletal pr. plade, Test 2 | | Resultat | n'1+n'2 | Log(n'1+n'2) | Logreduktion T = 5,39 |
|---|--|---------------------------------|----|---------------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------------|--------------|--------------------------|
| <i>Salomonella typhimurum</i> ATCC 13311 | 10 ⁰ | <1 | <1 | <1 | <1 | Test 1 | 1,15·10 ⁰ | 0,06 | 5,33 |
| | 10 ⁻¹ | <1 | <1 | <1 | <1 | Test 2 | ≤1,15·10 ⁰ | ≤0,06 | ≥5,33 |
| | 10 ⁻² | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 ⁻³ | <1 | <1 | <1 | <1 | | | | |
| | 10 mL | <1 | <1 | | Gennem- snit | ≤1,40·1 0 ¹ | ≤1,15 | 5,3±0,0 | |
| | 87 mL | 1 | * | | | | | | |
| n'2: CFU/metal disk | | <1 | <1 | | | | | | |

Tabel 10: n'1: CFU/membranfilter. n'2: CFU/disk. Beregningerne er lavet på baggrund af tællinger mellem 14 og 330. Hvis der er <14/mL i de ufortyndede prøver, benyttes kun resultatet fra filtreringen i beregning. Tælleletal <14 CFU på filtrene er inkluderet i den endelige beregning som <14.

Bilag 10

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Metodevalidering | UVC-lys/2 min. |
| Produktkoncentration | |

| Testsuspension N | Fortynding | Tælleletal pr. plade | | N [celler/mL] Log(N) |
|--|-------------------|-----------------------------|------|---------------------------------|
| Salomonella typhimurum ATCC 13311 | 10 ⁻⁶ | >330 | >330 | 4,60·10 ⁸ |
| | 10 ⁻⁷ | 36 | 56 | 8,66 |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|--|-------------------|--------------------------------|----|--|
| Neutraliserings- fortyndingsmetoden | 10 ⁻⁷ | 34 | 32 | 3,30·10 ⁸ |
| | | | | 8,52 |
| Salomonella typhimurum ATCC 13311 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding | Tælleletal pr. plade VC | | VC₁: celler/mL/Log(VC₁) |
|--|-------------------|--------------------------------|--|--|
| Membranfiltrering | 10 ⁻⁷ | 43 | | 4,30·10 ⁸ |
| | | | | 8,63 |
| Salomonella typhimurum ATCC 13311 | | | | |

| Metodevalidering | Fortynding af testorganisme tilført metaldisken | Tælleletal pr. plade | Metaldisk celler/mL/Log₁₀ |
|--|--|-----------------------------|---|
| Hæmmende effekt af metaldisk støbt ind i agarosegel | 10 ⁻⁷ | 50 | 5,00·10 ⁸ |
| | | | 8,70 |
| Salomonella typhimurum ATCC 13311 | | | |

1 mL af den benyttede testsuspension blev tilført for at undersøge om metaldisken, indstøbt i agarosegel, havde en hæmmende effekt på væksten.

Resultater

| Log₁₀ for testsuspension | Log₁₀ for VC for neutraliserings- fortyndingsmetoden | Log₁₀ for VC for membranfiltreringsmetoden | Log₁₀ for testorganisme tilført metaldisken |
|--|--|--|---|
| 8,66 | 8,52 | 8,63 | 8,70 |

Tabel 11: Resumé af metodevalideringen udført for *S. typhimurum*.

Kommentarer

Neutraliseringsmidlet havde ingen toksisk effekt på den benyttede testorganisme. Membranfiltrering og indstøbning af disk i agarosegel havde ingen signifikant hæmmende eller toksisk effekt på den benyttede testorganisme.