

STADLER Luftklima GmbH
Gewerbepark 1
87775 Salgen

Berlin, den 03.04.2025
Seite 1 von 18

PRÜFBERICHT

Probennummer:	ifp 25-01931-001
Ihr Auftrag:	vom 14.01.2025
Probenbezeichnung:	ES safe
Probeneingang:	16.01.2025
Auftraggeber:	STADLER Luftklima GmbH
Probenahme durch:	Auftraggeber
Anzahl der Packungen:	1
Zustand bei Probeneingang:	ungekühlt und ohne Auffälligkeiten
Äußere Aufmachung:	Glasflasche
Codierung/Beschriftung:	siehe Probenbezeichnung
Beginn/Ende der Analyse:	17.02.2025 – 17.03.2025
Untersuchungsumfang:	Desinfektionsmittelprüfung mittels quantitativen Suspensionsversuch in Anlehnung an die Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren mit 12 Teststämmen und drei Einwirkzeiten (15 min, 30 min, 60 min).
Durchführung und Ergebnisse:	siehe folgende Seiten

Probennummer: ifp 25-01931-001
Bezeichnung: ES-safe

Seite 2 von 18

1 Durchführung

Der quantitative Suspensionsversuch erfolgte in Anlehnung an die Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren mit 12 Teststämmen (siehe 2.1.4) und drei Einwirkzeiten (15 min, 30 min, 60 min).

1.1 Aufgabenstellung

Die Prüfung der Wirksamkeit soll mit Hilfe von 12 Teststämmen und drei Einwirkzeiten im quantitativen Suspensionsversuch in Anlehnung an die Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren mit hoher organischer Belastung an der Probe ES-safe bestimmt werden.

Die Prüfkeimsuspension wird zur unverdünnten Probe mit hoher organischer Belastung gegeben. Das Gemisch wird für 15 min, 30 min bzw. 60 min bei $20 \pm 1^\circ\text{C}$ gehalten und ein Aliquot des Gemisches wird zu einem Neutralisationsmittel gegeben, so dass eine weitere Wirkung des Desinfektionsmittels ausgeschlossen werden kann.

Die Neutralisationszeit beträgt $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$. Von diesem Prüf-Neutralisations-Gemisch erfolgt eine Keimzahlbestimmung.

Durch die Überprüfung der Wirksamkeit der Proben soll ermittelt werden, ob eine bakterizide, levurozide bzw. fungizide Wirkung vorliegt. Die Probe ES-safe soll eine vollständige Reduktion bzw. eine Abtötung der Teststämmen nach den Einwirkzeiten von 15 min, 30 min oder 60 min erzielen.

Die Bestimmung der Keimzahlen der Teststämmen erfolgte mit Hilfe des Spatelverfahrens.

Zur Überprüfung der Wirkung des Desinfektionsmittels wird eine Kontrolle der Prüfbedingungen (Wasser-Kontrolle), eine Neutralisationskontrolle, eine Kontrolle zur Nicht-Toxizität des Neutralisationsmittels sowie Negativkontrollen der Nährmedien mitgeführt.

1.2 Probe

Die Wirksamkeitsprüfung erfolgte mit folgender Probe:

ifp 25-01931-001: **ES-safe**

Bei der Probe ES-safe handelt es sich um eine klare, farblose, leicht essigsauer riechende Flüssigkeit mit einem pH-Wert von 2,0 - 3,0. Das Produkt soll als nachhaltiges Desinfektionsmittel verwendet werden.

2 Wirksamkeitsprüfung

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Nährmedien und Lösungen

Alle Medien wurden entsprechend der Prüfvorschrift ifp 000504 „Nährmedienherstellung, Chargenkontrolle und Dokumentation“ geprüft und freigegeben. Folgende Medien wurden eingesetzt:

- Bovines Serum Albumin (Fraktion V), Fa. AppliChem, Art.-Nr. A1391.0025
- CASO-Agar, Fa. Sifin, Art.-Nr.: TN 1031
- CASO-Bouillon mit Enthemmer (E 9), Fa. Sifin, Art.-Nr. TN 1263 mit Zusatz eines Enhemmers (Tween 80: 30 g/l (Fa. Roth, Art.-Nr.: 9139.2); Natriumthiosulfat: 5 g/l (Fa. Merck, Art.-Nr.: 1.06512.0250), Lecithin: 3 g/l (Fa. Roth, Art.-Nr.: 9812.2; Histidin: 1 g/l (Fa. Merck, Art.-Nr.: 1.04351.0025))
- Columbia-Blut-Agar Fa. Oxoid, Art.-Nr.: PB5008A
- GVPC-Agar, Fa. Xebios, Art.-Nr.: 40-1502
- Natriumchlorid-Pepton-Puffer, pH 7,0 (NaCl-PP pH 7,0), Fa. Sifin, Art.-Nr. TN 1025
- Sabouraud-Dextrose-Agar (SABO-Agar, EP/JP/USP), Fa. Sifin, Art.-Nr. TN 1264
- Schafblut, defibriniert, Fa. Oxoid, Art.-Nr. SR0051D
- WSH (Wasser standardisierter Härte), Fa. ifp (Aqua ad Iniectionabilia, Fa. B.Braun, Zul. Nr.: 6724092 Lösung A (6 ml/l): MgCl_2 , wasserfrei: 19,8 g/l (Fa. Alfa Aesar, Art.-Nr.: 12315), CaCl_2 , wasserfrei: 46,2 g/l (Fa. Alfa Aesar, Art.-Nr.: 12316); Lösung B (8 ml/l): NaHCO_3 : 35 g/l (Fa. Alfa Aesar, Art.-Nr.: A17005))

2.1.2 Ausrüstung

- Falcon Röhrchen
- Mikroskop
- Neubauer Zählkammer
- Pipetten
- Spatel
- Stoppuhr
- Wasserbad

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

2.1.3 Herstellung der hohen organischen Belastung

Die Herstellung der hohen organischen Belastung erfolgte in Anlehnung an die Vorgaben der DGHM. Dazu wurden 3 g Rinderserum-Albumin in 17 ml NaCl-PP pH 7,0 gelöst und sterilfiltriert.

40 ml des Schafblutes wurden für 10 min bei 800 g zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Pellet erneut in 40 ml NaCl-PP aufgenommen. Dieser Prozess wurde sofort wiederholt bis der Überstand farblos war. Zur Herstellung der Belastung wurden 150 µl des gewaschenen Schafblutes mit 850 µl sterilfiltrierter Rinderserumlösung vermischt.

2.1.4 Teststämme

Die Auswahl der in Tabelle 1 gelisteten Teststämme erfolgte in Anlehnung an die Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren sowie nach Verwendungszweck des Desinfektionsmittels gemäß den Vorgaben des Auftraggebers.

Die Teststämme 1 – 7, 9 bis 11 wurden von der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) bezogen. Teststamm 10 wurde von Microbiologics bezogen.

Entsprechend den Vorgaben unseres Master- und Workingcellbank-Systems werden die Teststämme regelmäßig auf Vitalität, Reinheit und Identität (mikroskopischer Vergleich mit Literaturangaben für *Aspergillus brasiliensis*) geprüft.

Tabelle 1: Teststamm für die Wirksamkeitsprüfung

lfd. Nr.:	Teststamm	ATCC-Nummer	DSM-Nummer	interne ID
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	799	RM-HYG 114
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15442	939	RM-HYG 222
3	<i>Enterococcus hirae</i>	10541	3320	RM-HYG 219
4	<i>Escherichia coli</i>	-	11250	RM-HYG 220
5	<i>Candida albicans</i>	10231	1386	RM-HYG 109
6	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	1988	RM-HYG 107
7	<i>Cronobacter sakazakii</i>	29544	4485	RM-HYG 32
8	<i>Salmonella enterica</i>	14028	19587	RM-HYG 193
9	<i>Bacillus subtilis</i>	-	4181	RM-HYG 115
10	<i>Listeria monocytogenes</i>	19111	19094	RM-HYG 53
11	<i>Legionella pneumophila</i>	33152	7513	RM-HYG 21
12	<i>Campylobacter jejuni</i>	-	104743	RM-HYG 1689

Die Stämme 1 bis 4 und 7 bis 10 wurden als Oberflächenkultur auf CASO-Agar bei 30 - 35 °C für 18 – 24 h kultiviert, wobei Stamm 3 und 10 mikroaerophil inkubiert wurden.

Der Teststamm 12 wurden als Oberflächenkultur auf CB-Agar bei 30 - 35 °C für 18 – 24 h mikroaerophil kultiviert.

Der Teststämme 5 und 6 wurden als Oberflächenkultur auf SABO -Agar bei 20 – 25°C 42 – 48 h kultiviert.

Stamm 11 wurde als Oberflächenkultur auf GVPC-Agar bei 35 - 37 °C für 4 d humid kultiviert.

Von den kultivierten Teststämmen wurde am Testtag für die bakteriellen Teststämme (1 – 4 und 7 – 12) ein Inokulum mit einer Keimdichte von ca. $1,5 - 5,0 \cdot 10^9$ KBE/ml hergestellt; daraus resultiert eine Belastung in Höhe von ca. $1,5 - 5,0 \cdot 10^7$ KBE/ml im Testansatz. Bei dem Hefe- bzw. Schimmelpilz wurde ein Inokulum mit einer Keimdichte von ca. $1,5 - 5,0 \cdot 10^8$ KBE/ml durch Zählung in der Zählkammer nach Neubauer hergestellt; daraus resultiert eine Belastung in Höhe von ca. $1,5 - 5,0 \cdot 10^6$ KBE/ml im Testansatz.

Probennummer: ifp 25-01931-001
Bezeichnung: ES-safe

Seite 4 von 18

2.1.5 Inokulum

Die Keimdichte des unter Punkt 2.1.4 beschriebenen Inokulums wurde durch das Spatelverfahren geeigneter Verdünnungen im Doppelansatz auf dem entsprechenden Agar bestimmt (siehe 2.1.4). Dazu wurden im Doppelansatz je Ansatz jeweils 0,1 ml der entsprechenden Verdünnung auf eine Agarplatte gegeben und verspatelt. Nach Trocknung der Agarplatten wurden diese in inverser Position inkubiert.

Die Inkubationsbedingungen entsprechen den Bedingungen der Herstellung der Oberflächenkulturen.

Für den Testansatz wurde jeweils 0,1 ml der Prüfkeimsuspension (Inokulum) eingesetzt.

Die Kontrollen 2 und 3 wurden mit der Validierungssuspension durchgeführt, die aus der Prüfkeimsuspension hergestellt wurde und eine Keimzahl von ca. $1,5 - 5,0 \cdot 10^5$ (Schimmelpilze und Hefen) bzw. $1,5 - 5,0 \cdot 10^6$ (Bakterien) KBE/ml aufwies.

2.1.6 Keimzahlbestimmung

Die Keimzahlbestimmung der Prüfansätze erfolgte durch Ausspateln (siehe 2.1.5) von jeweils 1 ml bzw. 0,1 ml der dekadischen Verdünnungen auf CB-Agar bzw. GVPC-Agar. Die Auswertung der Teststämme die auf CASO- bzw. SABO-Agar angezüchtet wurden erfolgte mittels Plattengussverfahren. Hierfür wird im Doppelansatz je Ansatz und Verdünnung jeweils 1 ml in leere Petrischalen vorgelegt. Bei der sich unmittelbar anschließenden Zugabe von 15 – 20 ml des auf max. 45 °C temperierten Agarmediums erfolgte eine Durchmischung. Nach dem Erstarren des Agars wurden die Platten in inverser Position inkubiert.

2.2 Testdurchführung

Je Zeitpunkt und Teststamm wurde 9,7 ml Produkt mit 0,2 ml hoher organischer Belastung (siehe 2.1.3) mit 0,1 ml der Prüfkeimsuspension (siehe 2.1.5) jeweils in ein Röhrchen gegeben, gut vermischt und für die Einwirkzeit von 15 min, 30 min bzw. 60 min bei 20 ± 1 °C inkubiert. Anschließend wurden 0,5 ml des Gemisches zu 4,5 ml Neutralisationsmedium (CASO-Bouillon mit Enthemmer 9), gemischt und für 5 min \pm 10 s zur Neutralisation stehen gelassen. Erste Testansätze zeigten, dass diese Verdünnung keine ausreichende Neutralisation des nachhaltigen Desinfektionsmittels erzielte, weshalb die Ansätze in Produktgegenwart im Verhältnis 1:20 unter Zugabe von 0,25 ml des Gemisches zu 4,75 ml Neutralisationsmedium (CASO-Bouillon mit Enthemmer 9) gemischt wurde. Von diesem Gemisch erfolgte eine Keimzahlbestimmung durch das Plattenguss- bzw. Spatelverfahren wie in Punkt 2.1.6 beschrieben.

Zur Kontrolle des Verfahrens und der Prüfbedingungen wurden drei Kontrollen mitgeführt.

Die WSH-Kontrolle (Kontrolle 1), bei der anstelle des Produktes 9,7 ml WSH verwendet wurden. Die Keimzahlbestimmungen dieser Kontrolle erfolgten nach 15 min, 30 min und 60 min Standzeit im temperierten Wasserbad. Anschließend wurden 0,5 ml des Gemisches zu 4,5 ml Neutralisationsmedium (CASO-Bouillon mit Enthemmer 9), gemischt und für 5 min \pm 10 s zur Neutralisation stehen gelassen. Von diesem Gemisch erfolgte eine Keimzahlbestimmung durch das Spatelverfahren wie in Punkt 2.1.5 beschrieben.

Zum Zweiten wurde eine Kontrolle der Neutralisation (Kontrolle 2) durchgeführt, in der 0,5 ml Probe mit 9,5 ml Neutralisationsmedium für 5 min \pm 10 s stehen gelassen und mit 0,1 ml Validierungssuspension vermischt wurde. Nach einer Einwirkzeit von 60 min bei 20 ± 1 °C, erfolgte eine Keimzahlbestimmung des Ansatzes.

Mit der dritten Kontrolle erfolgte die Kontrolle der Nicht-Toxizität des Neutralisationsmittels (Kontrolle 3). Dazu wurde je Teststamm 0,5 ml WSH mit 9,5 ml Neutralisationsmittel vermischt und für 5 min \pm 10 s stehen gelassen. Anschließend wurde 0,1 ml der Validierungssuspension dazugegeben und nach 60 min bei 20 ± 1 °C erfolgte eine Keimzahlbestimmung des Ansatzes.

2.3 Ergebnisse der Keimzählung

Die Angabe der Ergebnisse erfolgt in KBE (KBE = Koloniebildende Einheiten). Einzelergebnisse und Mittelwerte (gerundet) sowie die Auswertung werden dargestellt. Die Berechnung der Keimzahl erfolgte mit dem gewogenen arithmetischen Mittel. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Keimzahlbestimmung der Prüfkeimsuspension dargestellt. In den Tabellen 3 bis 14 werden die Ergebnisse des Testansatzes für **ES-safe** (ifp 25-01931-001) dargestellt.

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

Tabelle 2: Ergebnisse der Keimzahlbestimmung der Prüfkeimsuspensionen

Teststamm	Verd.	Keimzahl [KBE]		Keimzahl [KBE/ml]	Keimzahl rechnerisch im Ansatz [KBE/ml]
		1	2		
Prüfkeimsuspension					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	10 ⁻⁷	<u>135</u>	<u>133</u>	1,4E+09	1,4E+07
	10 ⁻⁸	<u>13</u>	<u>19</u>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	10 ⁻⁷	<u>126</u>	<u>131</u>	1,3E+09	1,3E+07
	10 ⁻⁸	<u>12</u>	<u>17</u>		
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	10 ⁻⁷	<u>217</u>	<u>197</u>	2,0E+09	2,0E+07
	10 ⁻⁸	<u>15</u>	<u>21</u>		
<i>Escherichia coli</i> DSM 11250	10 ⁻⁷	<u>218</u>	<u>234</u>	2,3E+09	2,3E+07
	10 ⁻⁸	<u>33</u>	<u>26</u>		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	10 ⁻⁶	<u>217</u>	<u>257</u>	2,5E+08	2,5E+06
	10 ⁻⁷	<u>35</u>	<u>31</u>		
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	10 ⁻⁶	<u>116</u>	<u>116</u>	1,2E+08	1,2E+06
	10 ⁻⁷	<u>16</u>	<u>18</u>		
<i>Cronobacter sakazakii</i> ATCC 29544	10 ⁻⁷	> 250	> 250	3,1E+09	3,1E+07
	10 ⁻⁸	<u>31</u>	<u>31</u>		
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ATCC 14028	10 ⁻⁷	> 250	> 250	3,4E+09	3,4E+07
	10 ⁻⁸	<u>32</u>	<u>35</u>		
<i>Bacillus subtilis</i> DSM 4181	10 ⁻⁷	<u>60</u>	<u>51</u>	5,6E+08	5,6E+06
	10 ⁻⁸	<u>4</u>	<u>8</u>		
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	10 ⁻⁷	> 250	> 250	6,8E+09	6,8E+07
	10 ⁻⁸	<u>71</u>	<u>64</u>		
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	10 ⁻⁷	<u>206</u>	<u>140</u>	1,8E+09	1,8E+07
	10 ⁻⁸	<u>22</u>	<u>22</u>		
<i>Campylobacter jejuni</i> DSM104743	10 ⁻⁷	<u>83</u>	<u>56</u>	7,5E+08	7,5E+06
	10 ⁻⁸	<u>9</u>	<u>16</u>		

— = die unterstrichenen Werte wurden zur Berechnung der Keimzahl verwendet

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

Tabelle 5: Ergebnisse des quantitativen Suspensionsversuches für *Enterococcus hirae* ATCC 10541 in Anlehnung an die Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren (Standardmethode 9) mit hoher organischer Belastung

Proben-Nr.: ifp 25-01931-001 Keimgehalt der Prüfsuspension: 2,0E+09 KBE/ml (lg: 9,30)
 Prüfprodukt: ES-safe Belastungssubstanz: 15 % Albumin und 15 % Schaferythrozyten
 Teststamm: *Enterococcus hirae* ATCC 10541 Datum: 20.02.2025 – 24.02.2025

Probe	Be- lastung	Kontaktzeit Verd.	15 min					30 min					60 min				
			KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ml	lg	lg R
			1	2				1	2				1	2			
ifp 25-01931-001 ES-safe	-	2x10 ⁻³	>250	>250	>5,0E+06	> 6,69	< 0,61	<u>6</u>	<u>6</u>	1,2E+2	2,08	5,15	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,02
		2x10 ⁻³	>250	>250				0	0				<u>0</u>	<u>0</u>			
		2x10 ⁻³	>250	>250				0	0				<u>0</u>	<u>0</u>			
		2x10 ⁻⁴	<u>>250</u>	<u>>250</u>				0	0				<u>0</u>	<u>0</u>			
Kontrolle 1	-	10 ⁻⁵	<u>214</u>	<u>182</u>	2,0E+07	7,30	-	<u>193</u>	<u>150</u>	1,7E+07	7,23	-	<u>215</u>	<u>193</u>	2,1E+07	7,32	-
		10 ⁻⁶	<u>14</u>	<u>27</u>				<u>20</u>	<u>11</u>				<u>17</u>	<u>26</u>			
Kontrolle 2	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>142</u>	<u>178</u>	1,6E+03	3,20	-
		10 ⁻²	/	/				/	/				<u>10</u>	<u>18</u>			
Kontrolle 3	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>222</u>	<u>209</u>	2,2E+03	3,34	-
		10 ⁻²	/	/				/	/				<u>31</u>	<u>24</u>			

*methodisch bedingte Nachweisgrenze
 ___ = die unterstrichenen Werte wurden zur Berechnung der Keimzahl verwendet

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

Tabelle 7: Ergebnisse des quantitativen Suspensionsversuches für *Candida albicans* ATCC 10231 in Anlehnung an die Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren (Standardmethode 9) mit hoher organischer Belastung

Proben-Nr.: ifp 25-01931-001 Keimgehalt der Prüfsuspension: 2,5E+08 KBE/ml (lg: 8,40)
 Prüfprodukt: ES-safe Belastungssubstanz: 15 % Albumin und 15 % Schaferythrozyten
 Teststamm: *Candida albicans* ATCC 10231 Datum: 26.02.2025 – 28.02.2025

Probe	Be- lastung	Kontaktzeit Verd.	15 min					30 min					60 min				
			KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ml	lg	lg R
			1	2				1	2				1	2			
ifp 25-01931-001 ES-safe	-	2x10 ⁻¹	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 5,11	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,14	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,14
		2x10 ⁻²	<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>			
Kontrolle 1	-	10 ⁻⁴	<u>231</u>	<u>260</u>	2,6E+06	6,41	-	<u>276</u>	<u>272</u>	2,8E+06	6,44	-	<u>270</u>	<u>270</u>	2,8E+06	6,44	-
		10 ⁻⁵	<u>37</u>	<u>34</u>				<u>24</u>	<u>40</u>				<u>29</u>	<u>54</u>			
Kontrolle 2	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>206</u>	<u>205</u>	2,1E+03	3,32	-
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>24</u>	<u>25</u>			
Kontrolle 3	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>260</u>	<u>232</u>	2,5E+03	3,40	-
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>26</u>	<u>30</u>			

*methodisch bedingte Nachweisgrenze
 ___ = die unterstrichenen Werte wurden zur Berechnung der Keimzahl verwendet

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

Tabelle 9: Ergebnisse des quantitativen Suspensionsversuches für *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544 in Anlehnung an die Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren (Standardmethode 9) mit hoher organischer Belastung

Proben-Nr.: ifp 25-01931-001 Keimgehalt der Prüfsuspension: 3,1E+09 KBE/ml (lg: 9,49)
 Prüfprodukt: ES-safe Belastungssubstanz: 15 % Albumin und 15 % Schaferythrozyten
 Teststamm: *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544 Datum: 06.03.2025 – 10.03.2025

Probe	Be- lastung	Kontaktzeit Verd.	15 min					30 min					60 min				
			KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ml	lg	lg R
			1	2				1	2				1	2			
ifp 25-01931-001 ES-safe	-	2x10 ⁻¹	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,13	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,16	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,08
		2x10 ⁻²	<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>			
Kontrolle 1	-	10 ⁻⁵	<u>288</u>	<u>237</u>	2,7E+07	7,43	-	>300	<u>288</u>	2,9E+07	7,46	-	<u>246</u>	<u>235</u>	2,5E+07	7,38	-
		10 ⁻⁶	<u>37</u>	<u>22</u>				<u>30</u>	<u>30</u>				<u>35</u>	<u>24</u>			
Kontrolle 2	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>0</u>	<u>0</u>	<1,0E+01	< 1,00	-
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>0</u>	<u>0</u>			
Kontrolle 3	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	>300	>300	4,8E+03	3,68	-
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>47</u>	<u>48</u>			

*methodisch bedingte Nachweisgrenze
 ___ = die unterstrichenen Werte wurden zur Berechnung der Keimzahl verwendet

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

Tabelle 10: Ergebnisse des quantitativen Suspensionsversuches für *Salmonella enterica* ATCC 14028 in Anlehnung an die Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren (Standardmethode 9) mit hoher organischer Belastung

Proben-Nr.: ifp 25-01931-001 Keimgehalt der Prüfsuspension: 3,4E+09 KBE/ml (lg: 9,53)
 Prüfprodukt: ES-safe Belastungssubstanz: 15 % Albumin und 15 % Schaferythrozyten
 Teststamm: *Salmonella enterica* ATCC 14028 Datum: 07.03.2025 – 10.03.2025

Probe	Be- lastung	Kontaktzeit Verd.	15 min					30 min					60 min				
			KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ml	lg	lg R
			1	2				1	2				1	2			
ifp 25-01931-001 ES-safe	-	2x10 ⁻¹	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,08	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,06	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 6,08
		2x10 ⁻²	<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>			
Kontrolle 1	-	10 ⁻⁵	<u>240</u>	<u>240</u>	2,4E+07	7,38	-	<u>237</u>	<u>229</u>	2,3E+07	7,36	-	<u>241</u>	<u>243</u>	2,4E+07	7,38	-
		10 ⁻⁶	<u>18</u>	<u>27</u>				<u>21</u>	<u>21</u>				<u>30</u>	<u>23</u>			
Kontrolle 2	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>2</u>	<u>4</u>	3,0E+01	1,04	-
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0			
Kontrolle 3	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	>250	>250	3,4E+03	3,53	-
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	33			

*methodisch bedingte Nachweisgrenze
 __ = die unterstrichenen Werte wurden zur Berechnung der Keimzahl verwendet

Probennummer: ifp 25-01931-001
 Bezeichnung: ES-safe

Tabelle 11: Ergebnisse des quantitativen Suspensionsversuches für *Bacillus subtilis* DSM 4181 in Anlehnung an die Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren (Standardmethode 9) mit hoher organischer Belastung

Proben-Nr.: ifp 25-01931-001 Keimgehalt der Prüfsuspension: 5,6E+08 KBE/ml (lg: 8,75)
 Prüfprodukt: ES-safe Belastungssubstanz: 15 % Albumin und 15 % Schaferythrozyten
 Teststamm: *Bacillus subtilis* DSM 4181 Datum: 27.02.2025 – 28.02.2025

Probe	Be- lastung	Kontaktzeit	15 min					30 min					60 min					
			Verd.	KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ ml	lg	lg R	KBE		KBE/ml	lg	lg R
				1	2				1	2				1	2			
ifp 25-01931-001 ES-safe	-	2x10 ⁻¹	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 5,53	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 5,59	<u>0</u>	<u>0</u>	<2,0E+01*	< 1,30*	> 5,59	
		2x10 ⁻²	<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>				<u>0</u>	<u>0</u>				
Kontrolle 1	-	10 ⁻⁵	<u>73</u>	<u>62</u>	6,7E+06	6,83	-	<u>81</u>	<u>69</u>	7,7E+06	6,89	-	<u>65</u>	<u>88</u>	7,8E+06	6,89	-	
		10 ⁻⁶	<u>5</u>	<u>7</u>				<u>8</u>	<u>12</u>				<u>8</u>	<u>11</u>				
Kontrolle 2	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>6</u>	<u>4</u>	5,0E+01	1,70	-	
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0	0				
Kontrolle 3	-	10 ⁻¹	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>33</u>	<u>43</u>	4,4E+03	3,64	-	
		10 ⁻²	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	<u>10</u>	<u>10</u>				

*methodisch bedingte Nachweisgrenze
 ___ = die unterstrichenen Werte wurden zur Berechnung der Keimzahl verwendet

Probennummer: ifp 25-01931-001
Bezeichnung: ES-safe

Seite 18 von 18

3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Es wurde die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels ES-safe (ifp 25-01931-001) mit drei Einwirkzeiten und 12 Teststämmen im quantitativen Suspensionsversuch geprüft. Das Desinfektionsmittel wurde unverdünnt eingesetzt; die Einwirkzeiten betragen 15 min, 30 min und 60 min.

Wie die Ergebnisse der Neutralisationskontrolle für die bakteriellen Teststämmen (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Legionella pneumophila* und *Campylobacter jejuni*) zeigen, konnte unter Testbedingungen keine wirksame Neutralisation der Probe durch den Zusatz des vorgegebenen Enthemmers erreicht werden. Das spricht für eine hohe antimikrobielle Wirkung der Probe.

Bei dem Desinfektionsmittel ES-safe wird nach 15 Minuten Einwirkzeit mit hoher organischer Belastung eine vollständige Abtötung der nachweisbaren Bakterien (> 5,38 lg R) erreicht mit der Ausnahme des Teststammes *Enterococcus hirae*. Er ist widerstandsfähiger und weist erst nach 60 min kein nachweisbares Wachstum mehr auf.

Beim Ansatz zur Einwirkzeit von 15 min ist zwar kein mikrobielles Wachstum nachweisbar, jedoch kann aufgrund der nicht erfolgreichen Neutralisationskontrolle der oben genannten bakteriellen Teststämmen keine sichere Aussage zur Absterbekinetik dieser sieben Teststämmen getroffen werden.

Für eine vollständige Reduktion des Schimmelpilzes *Aspergillus brasiliensis* bis zur methodisch bedingten Nachweisgrenze werden 60 min Einwirkzeit benötigt.

Für eine vollständige Reduktion der Hefe *Candida albicans* bis zur methodisch bedingten Nachweisgrenze werden 15 min Einwirkzeit benötigt.

Nach einer Einwirkzeit von 60 min des nachhaltigen Desinfektionsmittels ES-safe konnten alle 12 geprüften Teststämmen abgetötet werden.

Zusammenfassend konnte unter den beschriebenen Prüfungsbedingungen der Probe ES-safe eine sehr gute bakterizide Wirksamkeit, eine gute fungizide Wirksamkeit und eine gute levurizide Wirksamkeit gegenüber den ausgewählten Teststämmen nachgewiesen werden.

erstellt:



Alexander Kintzel
M. Sc. Biotechnologie
Prüfleitung Mikrobiologie Pharma

geprüft:



Kira Harms
B. Sc. Biotechnologie
Prüfleitung Mikrobiologie Pharma