

Büttner KG
Oberdorf 52

09518 Großrückerswalde



Deutsche
Akkreditierungsstelle
D-PL-18818-02-01
D-PL-18818-02-02



Anerkannt durch/Recognized by
Zentralstelle der Länder
für Gesundheitsschutz
bei Arzneimitteln und
Medizinprodukten
ZLG-AP-314.10.23
www.zlg.de

2015-07-14
Prof. We/Sei

“Mikrobac forte“
EN16615 (2015)
4-Felder-Test - bakterizide (*S. aureus*) Wirkung
(Phase 2, Stufe 2)
Prüfung sofort und nach einer Standzeit von 28 Tagen
4-field-test - bactericidal (*S. aureus*) activity
(Phase 2, step 2)
test immediately and after 28 days storage
Screening

PR Ü F B E R I C H T / T E S T R E P O R T

| | | |
|--|--|------------|
| Prüfprodukt (Tränkflüssigkeit) / <i>test product</i> (<i>soaking liquid</i>): | Mikrobac forte | - SN 18916 |
| Chargen-Bez. / <i>batch no.</i> : | 385029 | |
| Prüfprodukt (Tuchmaterial) / <i>test product</i> (<i>wipe material</i>): | Vliestücher bümedes, 100% PET | - SN 18831 |
| Chargen-Bez. / <i>batch no.</i> : | - | |
| Spendereimer / <i>dispenser bucket</i> : | Spendereimer | - SN 18832 |
| Auftraggeber / <i>customer</i> :: | Büttner KG | |
| Auftragsdatum / <i>date of order</i> : | 2015-05-19 | |
| Materialeingang / <i>date of delivery</i> : | SN 18831; SN 18832: 2015-05-21 SN 18916: 2015-06-03 | |

SN 18916; SN 18831; SN 18832 Seite / page 1 von / of 8

| | |
|---|--|
| Lagerbedingungen / <i>storage conditions:</i> | Raumtemperatur / <i>room temperature</i> |
| Vom Hersteller empfohlenes Verdünnungsmittel / <i>product diluent</i> <i>recommended by the manufacturer for use:</i> | Leitungswasser / <i>tap water</i> |
| Aussehen / <i>appearance:</i> | klare, farblose Flüssigkeit / <i>clear, colorless liquid</i> |
| Geruch / <i>odour:</i> | produktspezifisch / <i>product specific</i> |
| Wirkstoff(e) nach Firmenangaben in 100 g / <i>active substance(s) per 100 g:</i> | - |

| | |
|--|--|
| Prüfmethode / test method: | <p>EN16615 (2015) Quantitatives Prüfverfahren zur Bestimmung der bakteriziden und levuroziden Wirkung auf nicht porösen Oberflächen mit mechanischer Einwirkung mit Hilfe von Tüchern im humanmedizinischen Bereich (4-Felder-Test) (Phase 2, Stufe 2) Für den Versuch wurde je ein Spendereimer mit einer Tuchrolle sowie der Tränkflüssigkeit befüllt. Es wurden sofort (nach 30 Minuten) und nach einer Standzeit von 28 Tagen bei Raumtemperatur die Tücher entnommen und der Oberflächentest durchgeführt.</p> <p>EN16615 (2015) Quantitative test method for the evaluation of bactericidal and yeasticidal activity on non-porous surfaces with mechanical action employing wipes in the medical area (Phase 2, step 2) <i>For these test a dispenser bucket was filled with one roll of wipes and disinfectant solution. The surface test was performed immediately (after 30 minutes) and after storage period of 28 days at room temperature with the removed wipes.</i></p> |
| Prüfzeitraum / test period: | 2015-06-08 – 2015-07-08 |
| Prüftemperatur / test temperature: | Raumtemperatur / room temperature |
| Prüfkonzentration der Tränkflüssigkeit / product test concentration of soakage liquid: | 2.0 % Endkonzentration / end concentration (v/v) |
| Einwirkzeit / exposure time: | 30 Minuten / minutes |
| Belastungssubstanz / interfering substance: | 0,3g/l Rinderalbumin (geringe Belastung) / 0.3g/l bovine albumine (clean conditions) |
| Methode der Neutralisation / method of neutralisation: | Verdünnungs-Neutralisation / dilution neutralisation |
| Neutralisationsmittel / neutraliser: | 3,0% Tween 80 + 3,0% Saponin + 0,1% Histidin + 0,1% Cystein / 3,0% polysorbate 80 + 3.0% sapanine + 0,1% histidine + 0,1% cysteine |
| Auszählverfahren / counting procedure: | Oberflächenverfahren / spread plate method |
| Probenverdünnungsmittel / diluent: | Wasser standardisierter Härte / water of standardised hardness |

Stabilität und Aussehen während
des Prüfverfahrens / *stability and
appearance of the mixture during
the procedure:*

Inkubation / *incubation:*

36 °C ± 1 °C – 48h

Prüfkeim / *test strain:*

Staphylococcus aureus

ATCC 6538

pH-Werte / *pH values:*

2,0% der ausgepressten Wirkstofflösung /

2.0% of the squeezed solution: direkt / *direct* pH = 7.59

28 Tage / *days* pH = 8.05

Resultate / results:

Prüfprodukt / test product:
 Prüfprodukt (Tuchmaterial) / test product (wipe material):

Mikrobac forte - SN 18916
 Vliestücher bümedes, 100% PET - SN 18831

Produkt für Wasserkontrolle / product for water control:
 Prüfung nach Standzeit von / test after storage period of:
 Konzentration Tränkflüssigkeit / concentration soaked liquid:

SN 18831
 sofort / immediately
 2.0 % (v/v)
 30 Minuten / minutes
 geringe Belastung / clean conditions

Einwirkzeit / contact time:
 Belastung / loading:
 Tränkmenge Testprodukt in Spendereimer / amount of test product in dispenser bucket:

2.0 l
 16 ml WSH+0,1% Tween80 / polysorbat 80
 PVC

Tränkmenge für Wasserkontrolle / amount for water control:

35 Minuten / minutes
 21.3 – 21.8 °C / 31 - 32 %

Prüfbelag / test carrier:

Dauer der Antrocknung / duration of drying:
 Temp. u. Feuchte (Antrocknung) / temp. and humidity (drying):

21.8 – 22.0 °C / 32 %

Temp. u. Feuchte (Einwirkzeit) / temp. and humidity (exposure time):

Auszählverfahren / counting procedure:

Oberflächenverfahren / spread plate method

| Gewicht des Wischtuches / weight of wipe cloth (g): | vorher / before | nachher / after | Differenz / difference |
|---|-----------------|-----------------|------------------------|
| Ansatz / approach 1 | 2492.32 | 2491.81 | 0.51 |
| Kontrolle / control | 2489.73 | 2489.02 | 0.71 |

Testkeim / test strain: **Staphylococcus aureus ATCC 6538**

| Testsuspension / Test suspension (N und / and N0) | N | Vc1 | Vc2 | N | |
|--|------------------|-----------|-----------|--------------------|------------------------|
| (9,17 ≤ lgN ≤ 9,70) | 10 ⁻⁷ | 85+94 | 86+95 | lgN: | 9.26 |
| (7,88 ≤ lgN ₀ ≤ 8,40) | 10 ⁻⁸ | 14+6 | 5+4 | N ₀ : | 9.0 x 10 ⁷ |
| X Ja <input type="checkbox"/> Nein | | | | lgN ₀ : | 7.95 |
| Trocknungskontrolle / drying control (T ₀) | | Vc1 | Vc2 | T ₀ | |
| (6,88 ≤ lgT ₀ ≤ 8,40) | 10 ⁻⁴ | >330+>330 | >330+>330 | T ₀ : | 1.15 x 10 ⁷ |
| X Ja <input type="checkbox"/> Nein | 10 ⁻⁵ | 78+39 | 76+37 | lgT ₀ : | 7.06 |
| Trocknungskontrolle / drying control (T _t) | | Vc1 | Vc2 | T _t | |
| (6,88 ≤ lgT _t ≤ 8,40) | 10 ⁻⁴ | >330+>330 | >330+>330 | T _t : | 1.05 x 10 ⁷ |
| Ja <input checked="" type="checkbox"/> Nein | 10 ⁻⁵ | 57+44 | 54+54 | lgT _t : | 7.02 |

| Validierungssuspension / validation suspension (Nv0) | Validierung / validation | | | | | |
|--|--------------------------|------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|--|
| | Kontrolle (B) | | | Kontrolle (C) | | |
| 10 ⁻¹ Vc1: | 21+19 | Vc1: | 33+18 | Vc1: | 17+19 | |
| 10 ⁻¹ Vc2: | 27+20 | Vc2: | 14+29 | Vc2: | 24+14 | |
| Nv ₀ : | 43.5 | B: | 47 | C: | 35.5 | |
| (30 ≤ Nv ₀ ≤ 160) | | (≥ 0,5xNv ₀) | | (≥ 0,5xNv ₀) | | |
| X Ja <input type="checkbox"/> Nein | | X Ja <input type="checkbox"/> Nein | | X Ja <input type="checkbox"/> Nein | | |

Testfeld 1 (Reduktion)

| Ansatz / approach | Verd./ dilution | Feld / field 1 | | | | |
|-------------------|-----------------|----------------|-----|----|------|------------------------------------|
| | | Vc1 | Vc2 | Na | lgNa | lg/R (lgT _t - lgNa) |
| Na | 1ml dir | 2+5 | 3+4 | 7 | 0.85 | 6.17 RF ≥ 5 lg |
| | | | | | | X Ja <input type="checkbox"/> Nein |

Testfeld 2 – 4 (KBE/25cm²)

| Ansatz / approach | Verd./ dilution | Feld 2 | | Feld 3 | | Feld 4 | | V Feld 2-4 (x5) |
|-------------------|------------------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------------|
| | | Vc1 | Vc2 | Vc1 | Vc2 | Vc1 | Vc2 | |
| Na | 1ml dir | 0+0 | 0+0 | 0+0 | 0+0 | 0+0 | 0+0 | <50 |
| Nw | 1ml dir | >330+ >330 | >330+ >330 | >330+ >330 | >330+ >330 | >330+>330 | >330+>330 | >10 |
| | 10 ⁻¹ | 225+233 | 218+197 | 173+135 | 194+156 | 70+149 | 129+129 | |

| | | | |
|--|--------------------------------|----------|---------|
| Test Feld 2 – 4 (KBE/25cm ²) | Mittel / mean Na: <10 KBE/CFU | X Ja/yes | Nein/no |
| | Mittel / mean Nw: >100 KBE/CFU | X Ja/yes | Nein/no |

Resultate / results:

Prüfprodukt / test product:
 Prüfprodukt (Tuchmaterial) / test product (wipe material):

Mikrobac forte - SN 18916
 Vliestücher bümedes, 100% PET - SN 18831

Produkt für Wasserkontrolle / product for water control:
 Prüfung nach Standzeit von / test after storage period of:
 Konzentration Tränkflüssigkeit / concentration soaked liquid:
 Einwirkzeit / contact time:
 Belastung / loading:
 Tränkmenge Testprodukt in Spendereimer / amount of test product in dispenser bucket:
 Tränkmenge für Wasserkontrolle / amount for water control:
 Prüfbelag / test carrier:
 Dauer der Antrocknung / duration of drying:
 Temp. u. Feuchte (Antrocknung) / temp. and humidity (drying):
 Temp. u. Feuchte (Einwirkzeit) / temp. and humidity (exposure time):
 Auszählverfahren / counting procedure:

SN 18831
 28 Tage / days
 2.0 % (v/v)
 20 Minuten / minutes
 geringe Belastung / clean conditions
 2.0 l
 16 ml WSH+0,1% Tween80 / polysorbat 80
 PVC
 35 Minuten / minutes
 21.1°C / 32 %
 21.0 – 21.4 °C / 31- 32 %
 Oberflächenverfahren / spread plate method

| Gewicht des Wischtuches / weight of wipe cloth (g): | vorher / before | nachher / after | Differenz / difference |
|---|-----------------|-----------------|------------------------|
| Ansatz / approach 1 | 2494.33 | 2493.73 | 0.60 |
| Kontrolle / control | 2489.61 | 2489.14 | 0.47 |

Testkeim / test strain: Staphylococcus aureus ATCC 6538

| Testsuspension / Test suspension (N und / and N0) | N | Vc1 | Vc2 | N | |
|--|------------------|---------|---------|--------------------|------------------------|
| (9,17 ≤ lgN ≤ 9,70) | 10 ⁻⁷ | 111+41 | 63+77 | lgN: | 9.16 |
| (7,88 ≤ lgN ₀ ≤ 8,40) | 10 ⁻⁸ | 12+12 | 10+6 | N ₀ : | 7.3 x 10 ⁷ |
| X Ja Nein | | | | lgN ₀ : | 7.86 |
| Trocknungskontrolle / drying control (T ₀) | | Vc1 | Vc2 | T ₀ | |
| (6,88 ≤ lgT ₀ ≤ 8,40) | 10 ⁻⁴ | 286+277 | 310+245 | T ₀ : | 5.61 x 10 ⁶ |
| Ja X Nein | 10 ⁻⁵ | 24+41 | 27+25 | lgT ₀ : | 6.75 |
| Trocknungskontrolle / drying control (T _t) | | Vc1 | Vc2 | T _t | |
| (6,88 ≤ lgT _t ≤ 8,40) | 10 ⁻⁴ | 129+125 | 96+148 | T _t : | 2.60 x 10 ⁶ |
| Ja X Nein | 10 ⁻⁵ | 11+28 | 16+18 | lgT _t : | 6.41 |

Testfeld 1 (Reduktion)

| Ansatz / approach | Verd./ dilution | Feld / field 1 | | | | |
|-------------------|-----------------|----------------|-----|----|------|--------------------------------|
| | | Vc1 | Vc2 | Na | lgNa | lg/R (lgT _t - lgNa) |
| Na | 1ml dir | 0+0 | 0+0 | 0 | 0 | 6.41 RF ≥ 5 lg |
| | | | | | | X Ja Nein |

Testfeld 2 – 4 (KBE/25cm²)

| Ansatz / approach | Verd./ dilution | Feld 2 | | Feld 3 | | Feld 4 | | V Feld 2-4 (x5) |
|-------------------|-----------------------------|------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|
| | | Vc1 | Vc2 | Vc1 | Vc2 | Vc1 | Vc2 | |
| Na | 1ml dir | 0+0 | 0+0 | 0+0 | 0+0 | 0+0 | 0+0 | <50 |
| Nw | 1ml dir 10 ⁻¹ | 100+120 13+15 | 100+199 14+14 | 35+41 4+4 | 60+42 7+3 | 52+42 3+5 | 48+44 5+4 | >10 |

| | | | | |
|--|--------------------------------|---|--------|---------|
| Test Feld 2 – 4 (KBE/25cm ²) | Mittel / mean Na: <10 KBE/CFU | X | Ja/yes | Nein/no |
| | Mittel / mean Nw: >100 KBE/CFU | X | Ja/yes | Nein/no |

Verifizierung und Legende / *Verification and Legend:*

| | | | |
|-------------------|--|------------------------|---|
| KBE | = Koloniebildende Einheiten | <i>cfu</i> | = <i>colony forming units</i> |
| RF | = Reduktionsfaktor | <i>RF</i> | = <i>reduction factor</i> |
| n | = nicht zählbar | <i>n</i> | = <i>not countable</i> |
| nd | = nicht durchgeführt | <i>nd</i> | = <i>not done</i> |
| (E) | = Eigenhemmung | <i>(E)</i> | = <i>inhibition</i> |
| WSH | = Wasser standardisierter Härte | <i>WSH</i> | = <i>water of standardised hardness</i> |
| Vc: | = Lebendkeimzahl | <i>Vc:</i> | = <i>viable count</i> |
| N: | = die Anzahl der Keime in der Prüfsuspension | <i>N:</i> | = <i>count of cfu in the test suspension</i> |
| N ₀ : | = die Anzahl der KBE per 0,05ml Prüfsuspension | <i>N₀:</i> | = <i>count of cfu per 0.05ml test suspension</i> |
| N _{v0} : | = Anzahl der KBE/ml in den Prüfgemischen A,B und C zu Beginn der Einwirkzeit | <i>N_{v0}:</i> | = <i>count of cfu/ml in the mixtures A,B and C at the beginning of the contact time</i> |
| N: | = Anzahl der KBE in der Prüfsuspension | <i>N:</i> | = <i>count of cfu in the test suspension</i> |
| B: | = Kontrolle des nicht vorhanden seins von Toxizität des Neutralisationsmediums | <i>B:</i> | = <i>control of the absence of toxicity of the neutralizer</i> |
| C: | = Validierung des Verdünnungs-Neutralisationsverfahrens | <i>C:</i> | = <i>dilution- neutralization validation</i> |
| T ₀ : | = Kontrolle nach der Antrocknung | <i>T₀:</i> | = <i>control after initial drying</i> |
| T _i : | = Kontrolle nach der Einwirkzeit | <i>T_i:</i> | = <i>control after exposure time</i> |
| RC | = verbliebene Kontamination | <i>RC</i> | = <i>residual contamination</i> |

Ergebnisübersicht / *summary*

SN 18916– *S. aureus*

| Ansatz / <i>approach</i> | Feld / <i>field</i> 1 | Feld / <i>field</i> 2 – 4 (x5) |
|------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| | lg RF | |
| sofort / <i>immediately</i> | | |
| 30 min | 6.17 | <50 |
| 28 Tage / <i>days</i> | | |
| 30 min | 6.41 | <50 |

RF = Reduktionsfaktor / *reduction factor*

**Validierung /
Validation:**

Alle Kontrollen und Validierungen lagen innerhalb der Grenzwerte,
/ all controls and validations where within the basic limits.
Ausnahme / exception: T₀, T_t

**Abweichungen /
Deviations:**

Beobachtete Abweichungen der geltenden Norm und Verfahren /
observed deviations from applicable standard and procedure:
keine / none

**Schlussfolgerung /
Conclusion:**

Gemäß EN 16615 (2015) weist die Charge 385029 des Produktes Mikrobac forte in Kombination mit Vliestücher bümedes, 100% PET bei Raumtemperatur unter geringer Belastung (0,3g/l Rinderalbumin) nach 30 Minuten bei Verdünnung auf 2,0% (v/v) im 2,0 Liter- Spendersystem sofort und nach 28 Tagen Standzeit eine bakterizide Wirkung gegen den Testkeim *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 auf.

According to EN 16615 (2015), the batch 385029 of the product Mikrobac forte in combination with Vliestücher bümedes, 100% PET possesses a bactericidal activity at room temperature under clean conditions (0.3 g/l bovine albumin) in 30 minutes when diluted at 2.0% (v/v) in a 2.0 liter- dispenser bucket system against the test strain Staphylococcus aureus ATCC 6538 immediately and after 28 days storage.

Archivierung:

Eine Ausfertigung des Berichtes wird zusammen mit den Rohdaten im Archiv des Auftragnehmers aufbewahrt.

Archive:

The raw data with respect to this test and a copy of the report will be maintained by HygCen in the archive.

Hinweis:

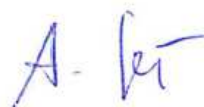
Die Prüfergebnisse beziehen sich ausschließlich auf den genannten Prüfgegenstand. Auszugsweise Wiedergabe dieses Berichtes nur mit schriftlicher Genehmigung der HygCen Germany GmbH.

Information:

The test results are valid for the named test subject only. Reproduction of any part of this report requires the written permission of HygCen GmbH.



Prof. Dr. med. H.-P. Werner
Head of Scientific-Technical Affairs



A. Seidel
Vice Division Manager