

[ HYGCEN AUSTRIA GMBH | WERKSGELÄNDE 28 | 5500 BISCHOFSHOFEN ]

hollu Systemhygiene GmbH  
Salzstraße 6  
6170 Zirl  
Österreich

Akkreditierte  
Prüfstelle nach  
ÖNORM EN ISO 17025



Bischofshofen, 08.09.2020

## **Prüfbericht / test report B 25215a** **Aersolverteilung / aerosol distribution**

**Labor-Nr. / identification of the test laboratory:**

B 25215

**Auftraggeber / ordered by:**

hollu Systemhygiene GmbH

**Auftragsdatum / date of order:**

2020-07-20

**Produkt / product:**

Generator zur Kaltvernebelung Protec Tube + im Testraum von HygCen Austria GmbH  
entsprechend EN 17272 /  
*Generator for cold nebulization Protec Tube + in the test room of HygCen Austria GmbH  
in accordance with EN 17272*

Desinfektionsmittel: Diosol 3 (Charge: 200429) /  
*Disinfectant: Diosol 3 (batch: 200429)*

**Prüfung vor Ort / inspection on site:**

2020-07-29

**Prüfzeitraum / period of analysis:**

2020-07-29 bis / to 2020-07-31

**Prüfmethoden / test methods:**

EN 17272 (2020) – Verfahren zur luftübertragenen Raumdesinfektion durch automatisierte Verfahren – Bestimmung der bakteriziden, mykobakteriziden, sporiziden, fungiziden, levuroziden, viruziden, tuberkuloziden und Phagen-Wirksamkeit.  
SOP 02-059 /  
*EN 17272 (2020) - Methods for airborne room disinfection by automated methods - Determination of bactericidal, ycobactericidal, sporicidal, fungicidal, yeasticidal, virucidal, tuberculocidal and phage effectiveness.*  
SOP 02-059

## Anschmutzung von Prüfkörpern / contamination of test specimens

<b>Datum der Anschmutzung / date of contamination</b>	2020-07-29
<b>Prüfkörper / test specimens</b>	Edelstahl-Plättchen (Carrier), rund, Durchmesser 40 mm, Dicke 1,5 mm, Edelstahl 1.4301 nach EN 10088-1. / <i>Stainless steel discs (carriers), round, diameter 40 mm, thickness 1.5 mm, stainless steel 1.4301 according to EN 10088-1.</i>
<b>Prüfkeim / test microbe</b>	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
<b>Organische Belastung / organic loading</b>	0,3 g/L BSA
<b>Herstellung der Keimsuspension / preparation of the microbial suspension</b>	Herstellen der Keimsuspensionen gem. SOP 05-002. Mit Verdünnungsflüssigkeit photometrisch einstellen auf 1,5 bis $5 \times 10^9$ KBE/ml. / <i>Preparation of the microbial suspensions in accordance with SOP 05-002. Photometric adjustment with dilution liquid for bacteria to 1.5 to <math>5 \times 10^9</math> CFU/ml.</i>
<b>Prüfsuspensionen zur Kontamination / test suspension for contamination</b>	Verdünnung der Prüfkeime auf einen Keimgehalt von $10^8$ KBE/ml und jeweils Zugabe von 10 facher Belastungssubstanz (Die Keimsuspension wird so mit der Belastungssubstanz versetzt, dass ein Verhältnis von 1/10 von Belastungssubstanz zum Gesamtvolumen entsteht, d.h. zu 9 Teilen Keimsuspension wird 1 Teil Belastungssubstanz gegeben). / <i>Dilution of the test microbes to a content of <math>10^8</math> CFU/ml and addition of 10-fold interfering substance respectively (the microbial suspension is mixed with the interfering substance to result in a proportion of 1/10 interfering substance to total volume i.e. 1 part interfering substance is added to 9 parts microbial suspension).</i>
<b>Kontaminations- methode / contamination method</b>	Eine entsprechende Anzahl von Prüfkörpern, unter sterilen Bedingungen in sterile Petrischalen (Durchmesser 140 mm) auslegen. 0,05 ml der Prüfsuspension auf den Prüfkörper mittels Pipette so aufbringen, dass im oberen Drittel Raum zur Befestigung der Prüfkörper bleibt und mit einem Spatel auf einer Fläche von $3 \text{ cm}^2$ ( $\pm 0,5 \text{ cm}^2$ ) homogen verteilen. / <i>A corresponding number of test specimens are placed in sterile petri dishes (diameter 140 mm) under sterile conditions. 0.05 ml test suspension is applied to the test specimens using a pipette so that there is still sufficient space to affix the discs in the upper third; the suspension is spread homogenously over an area of <math>3 \text{ cm}^2</math> (<math>\pm 0.5 \text{ cm}^2</math>) using a spatula.</i>
<b>Trocknung der Prüfanschmutzung / drying the test contamination</b>	Bis zur optischen Trockenheit der Prüfkörper im Brutschrank bei $37^\circ\text{C}$ , jedoch nicht länger als 90 Minuten. Anschließend die Prüfkörper in der Werkbank auf Raumtemperatur abkühlen lassen. / <i>The test discs are dried in an incubator at <math>36^\circ\text{C}</math> until visual dryness; however no longer than 90 minutes. The discs are then left to cool to room temperature in the bench.</i>
<b>Prüfbedingungen / test conditions</b>	Die obligaten Testbedingungen sind $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ Versuchstemperatur. Die relative Luftfeuchte betrug zu Beginn der Vernebelung 40 – 55 %. Die Parameter Temperatur, relative Luftfeuchte und $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration wurden mit Geräten der Fa. Testo und Dräger aufgezeichnet. Das Volumen des Prüfraumes beträgt $71,4 \text{ m}^3$ . / <i>The obligatory test conditions are <math>20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}</math> test temperature and a relative humidity between 40 and 55 %. The temperature, relative humidity and <math>\text{H}_2\text{O}_2</math>- concentration were recorded by devices of Testo and Dräger. The volume of the test room is <math>71.4 \text{ m}^3</math>.</i>

## Prüfung der Wirksamkeit der aerogenen Desinfektion / testing the effectiveness of aerogene disinfection

<b>Applikation der Prüfkörper zur Kontrolle der Aerosolverteilung / application of test specimen to control the aerosol distribution</b>	<p>8 Keimträger werden mit <i>S. aureus</i> Testsuspension angeschmutzt.</p> <p>Je 2 Prüfkörper werden in gegenüberliegenden Ecken des Raumes am Boden, mit einem Abstand von 50 cm zu den Wänden und zum Boden platziert. In jeder Ecke wird 1 Keimträger vertikal mit der kontaminierten Seite von der Vernebelungsquelle abgewandt und 1 Keimträger horizontal mit der kontaminierten Seite zum Boden gewandt positioniert.</p> <p>Je 2 Prüfkörper werden in gegenüberliegenden Ecken des Raumes an der Decke, mit einem Abstand von 50 cm zu den Wänden und zur Raumdecke platziert. In jeder Ecke wird 1 Keimträger vertikal mit der kontaminierten Seite von der Vernebelungsquelle abgewandt und 1 Keimträger horizontal mit der kontaminierten Seite zur Decke gewandt positioniert. /</p> <p><i>8 germ carriers are soiled with S. aureus test suspension.</i></p> <p><i>Two test specimens are placed in opposite corners of the room on the floor, at a distance of 50 cm from the walls and the floor. In each corner, 1 germ carrier is positioned vertically with the contaminated side facing away from the nebulization source and 1 germ carrier is positioned horizontally with the contaminated side facing the ground.</i></p> <p><i>Two test specimens are placed in opposite corners of the room on the ceiling, at a distance of 50 cm from the walls and the ceiling. In each corner 1 germ carrier is positioned vertically with the contaminated side facing away from the nebulization source and 1 germ carrier is positioned horizontally with the contaminated side facing the ceiling.</i></p>
<b>Desinfektionsmittel / disinfectant</b>	Diosol 3 (3 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> laut Herstellerangabe / according to manufacturer information)

## Elution der Prüfkörper / elution of the test specimens

<b>Elutionsdatum / elution date</b>	2020-07-29
<b>Elutionslösung / elution solution</b>	CSL / TSB
<b>Elutionsvolumen / elution volume</b>	10 ml
<b>Beschreibung der Elution / description of the elution</b>	<p>Die Prüfkörper wurden in 100 ml- Bechern mit 10 ml Elutionslösung, unter Zuhilfenahme von Glaskugeln, mit der angeschmutzten Seite der Prüfkörper zum Becherboden gerichtet für 10 Minuten auf einem Rotationschüttler bei 150 rpm eluiert. /</p> <p><i>The test specimens were eluted for 10 minutes in 100-ml beakers containing 10 ml elution solution using glass beads with the contaminated side downwards on an orbital shaker at 150 rpm.</i></p>

## **Kultivierung der Elutionslösung und Prüfkörper im Hauptversuch / cultivation of the eluate solution and test specimens in the main test**

<b>Elutionslösung (n`1) / eluate solution (n`1)</b>	In Doppelbestimmung wird 1,0 ml der Probe mit CSA (Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar) im Plattengussverfahren untersucht. Der Rest der Elutionslösung wird membranfiltriert und der Filter (Sartorius, Microsart CN-Filter; Lot: 0320 1146 2000943) auf einer CSA Platte exponiert. / <i>In duplicate is 1.0 ml of the sample used investigated with TSA (casein peptone soybean meal peptone agar) in the pour plate method. The remainder of the elution solution is membrane-filtered and the filter (Sartorius, Microsart CN-Filter; Lot: 0320 1146 2000943) is exposed on a TSA plate.</i>
<b>Prüfkörper (n`2) / test specimens (n`2)</b>	Die Keimträger werden nach der Membranfiltration entnommen und mit CSA übergossen. / <i>The microbial carriers are removed after membrane filtration and covered with TSA.</i>
<b>Inkubation / incubation</b>	48h bei / at 36°C

## **Kontrollen / Controls**

### **Positivkontrollen / positive controls**

<b>Prüfkeimsuspension N1 / test microbe suspension N1</b>	Mit Verdünnungsflüssigkeit (0,1 % Trypton und 0,85 % NaCl = VF) werden von der Prüfsuspension Verdünnungen von $10^{-6}$ und $10^{-7}$ hergestellt und 1,0 ml in Doppelbestimmung mit CSA übergossen. / <i>With dilution liquid (0,1 % Trypton und / and 0,85 % NaCl = VF) dilutions of <math>10^{-6}</math> and <math>10^{-7}</math> of the test suspension are prepared and 1.0 ml is poured over with CSA in duplicate.</i>
<b>Prüfkeimsuspension N2 / test microbe suspension N2</b>	Mit VF werden von der Prüfsuspension Verdünnungen von $10^{-6}$ und $10^{-7}$ hergestellt und 1,0 ml in Doppelbestimmung membranfiltriert und der Filter auf CSA überführt. / <i>Test suspension dilutions of <math>10^{-6}</math> and <math>10^{-7}</math> are prepared with VF and 1.0 ml membrane filtered and the filters transferred to TSA in repeat determination.</i>
<b>Anschmutzungskontrolle Ko / contamination control Ko</b>	2 Keimträger je Keim-/Belastungskombination werden direkt nach der Trocknung analysiert. Die Elution erfolgt wie oben beschrieben. Mit VF werden Verdünnungen von $10^{-3}$ und $10^{-4}$ hergestellt und 1,0 ml in Doppelbestimmung mit CSA übergossen. / <i>2 microbial carriers per microbe/organic loading combination are analyzed directly after drying. Elution is performed as described above. Dilutions of <math>10^{-3}</math> and <math>10^{-4}</math> are prepared with VF and 1.0 ml covered in TSA in repeat determination.</i>
<b>Trocknungskontrolle T / drying control T</b>	2 Keimträger je Keim-/Belastungskombination werden nach der Trocknung für die Dauer des Prozesses im Labor gelagert und anschließend zusammen mit den Prüfkörpern des Hauptversuches analysiert. Die Elution erfolgt wie oben beschrieben. Mit VF werden Verdünnungen von $10^{-3}$ und $10^{-4}$ hergestellt und 1,0 ml in Doppelbestimmung mit CSA übergossen. / <i>2 microbial carriers per microbe/organic loading combination are stored in the laboratory for the duration of the process and then analyzed together with the test specimens from the main test. Elution takes place as described above. Dilutions of <math>10^{-3}</math> and <math>10^{-4}</math> are made with VF and TSA is poured over 1.0 ml in duplicate.</i>

### Validierungskontrollen / validation controls

#### **Inhibitorischer Effekt des Mediums n1 / inhibitory effect of the medium n1**

Keimträger werden mit Belastungssubstanz angeschmutzt und dem Prozess ausgesetzt. Prüfkörper nach Prozessende eluieren. 1,0 ml der Elutionsflüssigkeit und 1,0 ml der in VF  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  verdünnten Bakteriensuspension in eine Petrischale geben und in Doppelbestimmung mit CSA übergießen und mischen.

*Microbial carriers are contaminated with interfering substance and exposed to the process. The test specimens are eluted after the end of the process. 1.0 ml eluate solution and 1.0 ml bacteria suspension diluted in VF  $10^{-5}$  and  $10^{-6}$  are added to a petri dish and covered with TSA and mixed in repeat determination*

#### **Inhibitorischer Effekt der Membranfiltration n2 / inhibitory effect of the membrane filtration n2**

Keimträger werden mit Belastungssubstanz angeschmutzt und dem Prozess ausgesetzt. Prüfkörper nach Prozessende eluieren. In Doppelbestimmung wird die Elutionsflüssigkeit membranfiltriert und anschließend ohne Filtertausch 1,0 ml der in VF  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  verdünnten Bakteriensuspension in 50 ml Spülflüssigkeit membranfiltriert. /

*Microbial carriers are contaminated with interfering substance and exposed to the process. The test specimens are eluted after the end of the process. In repeat determination, the eluate solution is membrane filtered and then, without changing the filter, 1.0 ml bacterial suspension diluted in VF  $10^{-5}$  and  $10^{-6}$  is membrane filtered in 50 ml rinsing liquid.*

#### **Carrier-vermittelter inhibitorischer Effekt im Medium n3 / carrier-mediated inhibitory effect in the medium n3**

Keimträger werden mit Belastungssubstanz angeschmutzt und dem Prozess ausgesetzt. Die Prüfkörper werden in Petrischalen gelegt und zusammen mit 1,0 ml der in VF  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  verdünnten Bakteriensuspension mit CSA übergossen. /

*Microbial carriers are contaminated with interfering substance and exposed to the process. The test specimens are placed in petri dishes and together with 1.0 ml bacterial suspension diluted in VF  $10^{-6}$  and  $10^{-7}$  covered with TSA.*

**Prozessdaten / process data**

**Konzentration / concentration**

3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Konditionierungsphase / conditioning phase:**

60 Minuten / minutes

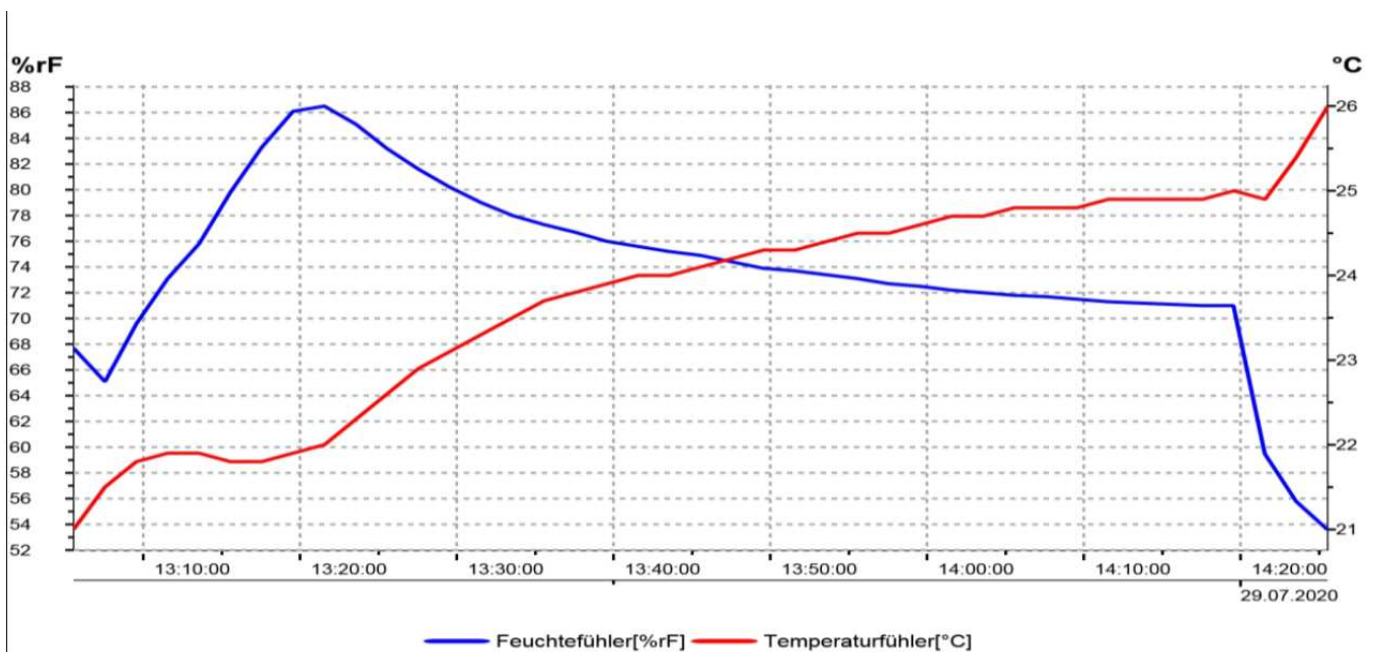


Abb. 1 / Fig. 1: Kontrolle der Umgebungsbedingungen im Versuchsraum / Control of the environmental conditions in the test room

Temperatur / temperature: bei Start / at start 21,0 °C;  
 relative Luftfeuchte / relative humidity: min. 53,6 %; max. 86,5 %  
 Max. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration / concentration: 56 ppm

## Ergebnisse / results

### Kontrollen / controls

Prüfkeimsuspension N1 Plattenguss / test microorganism suspension N1 Plate pouring			Prüfkeimsuspension N2 Membranfiltration / test microorganism suspension N2 Membrane filtration		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10 <sup>-6</sup>	209	218	10 <sup>-6</sup>	>165	>165
10 <sup>-7</sup>	20	21	10 <sup>-7</sup>	23	22
$\bar{x} \log = 8,33$			$\bar{x} \log = 8,35$		
7,70 ≤ logN1 ≤ 9,70 valide / valid: <b>ja / yes</b>			7,70 ≤ logN2 ≤ 9,70 Valide / valide: <b>ja / yes</b>		

Inhibitorischer Effekt des Mediums n1 / inhibitory effect of the medium n1				Inhibitorischer Effekt der Membranfiltration n2 / inhibitory effect of the membrane filtration n2				Carrier-vermittelter inhibitorischer Effekt im Medium n3 / carrier-mediated inhibitory effect in the medium n3							
		C1		C2				C1		C2					
10 <sup>-5</sup>	>33 0	>330	>330	>330	>330	10 <sup>-5</sup>	>165	>165	>165	>165	10 <sup>-5</sup>	>33 0	>330	>330	>330
10 <sup>-6</sup>	26	29	26	27	27	10 <sup>-6</sup>	32	32	28	30	10 <sup>-6</sup>	30	33	33	29
$\bar{x} \log = 8,43$				$\bar{x} \log = 8,49$				$\bar{x} \log = 8,49$							
n1 > 0,5 N1 valide / valid: <b>ja / yes</b>				n2 > 0,5 N2 valide / valid: <b>ja / yes</b>				n3 > 0,5 N1 valide / valid: <b>ja / yes</b>							

Anschmutzungskontrolle Ko / contamination control Ko				Trocknungskontrolle T / Drying control T							
		C1		C2				C1		C2	
10 <sup>-3</sup>	>33 0	>330	>330	>330	>330	10 <sup>-3</sup>	>330	>330	>330	>330	
10 <sup>-4</sup>	53	64	49	51	51	10 <sup>-4</sup>	38	42	39	35	
$\bar{x} \log = 6,74$				$\bar{x} \log = 6,59$							
				T > 6 valide / valid: <b>ja / yes</b>							

## Kontrolle der Aerosolverteilung / *control of aerosol distribution*

Position / <i>position</i>	KBE Elutionslösung n`1 / <i>CFU elution solution n`1</i>	KBE PK n`2 / <i>CFU PK n`2</i>	Log KBE/PK/ <i>Log CFU/PK</i>	RF T	≥ 5 log
vorne Boden waagrecht / <i>front floor horizontally</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
vorne Boden senkrecht / <i>front floor vertically</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
vorne Decke waagrecht / <i>front ceiling horizontally</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
vorne Decke senkrecht / <i>front ceiling vertically</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
hinten Boden waagrecht / <i>back floor horizontally</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
hinten Boden senkrecht / <i>back floor vertically</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
hinten Decke waagrecht / <i>back ceiling horizontally</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>
hinten Decke senkrecht / <i>back ceiling vertically</i>	0	0	0,00	≥6,59	<b>ja / yes</b>

### Legende / legend:

KBE / CFE = Koloniebildende Einheiten / *colony forming Units*

PK = Prüfkörper / *test specimens*

MW = Mittelwert / *Mean*

RF T = Reduktionsfaktor: log Trocknungskontrolle T – log KBE/PK /  
*reduction Factor: log drying control T – log CFU/PK*



## Schlussfolgerung / conclusion:

Gemäß EN 17272:2020 kann bestätigt werden, dass in der Verteilungsprüfung mit dem verwendeten Generator zur Kaltvernebelung Protec Tube + in Kombination mit dem Desinfektionsmittel Diosol 3 jeder Prüfkörper eine ausreichende Reduktion von  $\geq 5$  log Stufen gegenüber *S. aureus* erzielt hat.

*In accordance with EN 17272:2020, it can be confirmed that in the distribution test with generator for cold nebulization Protec Tube + in combination with the disinfectant Diosol 3, each test body achieved a sufficient reduction of  $\geq 5$  log levels compared to *S. aureus*.*

### Archivierung / Archiving:

Eine Ausfertigung des Berichtes wird zusammen mit den Rohdaten im Archiv der HygCen Austria GmbH aufbewahrt. / *A copy of this report is kept together with the raw data in the archive of HygCen Austria GmbH.*

### Hinweis / Note:

Der vorliegende Prüfbericht bezieht sich ausschließlich auf die dem Labor vorliegenden Prüfgegenstände. Jede auszugsweise Vervielfältigung bedarf der schriftlichen Genehmigung durch die HygCen Austria GmbH. / *The present test report refers exclusively to the test objects available to the laboratory. Any duplication in extracts requires the written permission of HygCen Austria GmbH.*



Prof. Dr. med. H.-P. Werner  
Technischer Leiter / *technical manager*



Sonja Steinlechner, MSc.  
Labor Leitung / *laboratory manager*