

Analyserapport

RAPPORTNUMMER:
962712



**TEKNOLOGISK
INSTITUT**

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

Side 1 af 8
Bilag: 3
Init.: ENB/HSA

- Rekvirent:** Nanobiz ApS
Wibroesvej 3
DK-9000 Aalborg
- Emne:** Analyse af den antibakterielle effekt af overflade behandlet med Bacoban Danmark efter berøringsslid. Den antibakteriel effekt blev testet i henhold til ISO 22196:2011, modificeret udgave.
- Udtagning:** Teknologisk Institut
- Periode:** Prøvemodtagelse: 2 februar 2021
Prøvningen er gennemført: 3 – 11. februar 2021
- 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. februar 2021
Teknologisk Institut, Aarhus
Kemisk og Mikrobiologisk Laboratorium
- Digitally signed by: Ebbe Norskov Bak
Date: 2021.02.22 13:42:09 +01'00'
- Underskrift:** Ebbe Norskov Bak
Seniorspecialist

Indledning

Bacoban Danmark er et produkt beregnet til behandling af overflader, for at gøre overfladerne antimikrobielle. Formålet med denne test er at teste stabiliteten af den antibakterielle virkning ved slid som følge af gentagen berøring.

Testen blev udført ved at simulere slid ved gentagen åbning af en dør på dørgreb, som var behandlet med Bacoban Danmark og efterfølgende test af den antibakterielle effekt med 15 min. kontakttid.

Testprocedure

Som model for overflader, der udsættes for løbende dagligt slid ved berøring, blev der brugt dørgreb i børstet, rustfrit stål. Produktet blev påført dørgrebene med spray og fordelt med en klud, i henhold til anvisning for produktet. Dette efterlod en vandig film på overfladen, der tørrede ind i løbet af få minutter.

Billeder af testopstilling, påføring af produktet, slidtest og evaluering af den bakterielle effekt kan ses i Bilag 2 og Bilag 3.

Slidtest

Dørgrebene, der skulle udsættes for slid efter behandling med produktet, blev monteret på en plade. Slidtesten blev udført ved, at dørgrebet blev grebet om og vredet let nedad som ved begyndende åbning af en dør. Der blev foretages 25 sådanne berøringer i træk for hvert dørgreb. Dette blev gentaget i løbet af én dag indtil det ønskede samlede antal berøringer var udført.

Følgende emner blev testet i triplikat:

- dørgreb uden overfladebehandling og uden slid (reference)
- dørgreb med overfladebehandling uden slid
- dørgreb med overfladebehandling og med slid ved 50 berøringer
- dørgreb med overfladebehandling og med slid ved 100 berøringer
- dørgreb med overfladebehandling og med slid ved 200 berøringer

Eftersom overfladerne ikke kunne rengøres efter slidtest og før test af den antibakterielle virkning, desinficerede testpersonerne først deres hænder med 2x 3 ml 60% isopropanol i 2x30 sek i henhold til DS/EN1500:2013. Efter desinfektion blev hænderne lufttørret og efter yderligere 5 min. blev slidtesten udført.

Test af antibakteriel effekt

Den antibakterielle effekt af dørgreb behandlet med Bacoban Danmark blev testes i henhold til en modificeret udgave af ISO 22196:2011 dagen efter slidtesten.

Metoden blev modificeret på følgende punkter:

- Testen blev kun udført med bakterien, *E. coli*.
- Der blev testet med en kontakttid på 15 min. Eftersom der ikke forventedes at være ændring i cfu-koncentrationen i referencen med denne kontakttid, blev referencen evalueret efter kravene til test med udvaskning umiddelbart efter afsætning af testsuspension.
- For at mindske vækst af evt. kontaminering fra slidtesten blev der brugt TSSA som vækstmedie til evaluering af cfu-koncentrationen (colony-forming-unit).

Efter simuleret slid af de behandlede testoverflader, blev en bakteriesuspension tilført testemnerne på den flade del af oversiden af dørgrebene og inkuberet i 15 min. For at undgå udtørring af bakteriesuspensionen, blev den dækket med en tynd plastfilm.

Koncentrationen af levedygtige bakterier efter inkubation blev målt ved udvaskning i 10 ml neutraliseringsmiddel, udpladning af fortyndingsrækker, inkubering og tælling af cfu.

Den antibakterielle effektivitet blev udregnet ved sammenligning af antallet af cfu på behandlede og ubehandlede overflader.

Eksperimentelle betingelser

Testorganismer:	<i>Escherichia coli</i> DSM 1576
Opformeringsmedier:	Nutrient agar og Nutrient broth
Suspensionsmedie:	1:500 nutrient broth
Inokulum:	188 µl
Testoverflade:	Dørhåndtag af børstet, rustfrit stål. Samme materiale er benyttet til både emner med den antibakterielle behandling og som referenceemne.
Rengøring af testoverflader:	Rengøring med neutral sæbe og skyllet med demineraliseret vand. Desinficeres med 70% ethanol, efterfulgt af lufttørring
Replikater:	3
Dækfilm:	Polysilke fra en Stomacher-pose (15x50±1 mm, 0,06 mm tyk.)
Kontakttid:	15 min. ±10 sek.
Testtemperatur:	Stuetemperatur (20 - 25) °C
Neutraliseringsmiddel	Polysorbate 80: 30 g/L Na-thiosulfat 5 g/L Saponin 30 g/L Lecithin 3 g/L Histidin 1g /L Opløst i 0,25 M fosfat buffer, pH 7,2
Fortyndingsmedie:	Isotonisk saltopløsning i fosfatbuffer
Vækstmedie:	Tryptic Soy Selective Agar (TSSA)
Inkubation for cfu-bestemmelse:	35±1°C i 44-48 timer

Produkt

Nedenstående data om produktet er information tilgængelig på produktets emballage.

Produktnavn:	Bacoban Danmark, Desinfektion 10 dage
Reg. Nr.:	4268144
Produktbeskrivelse:	Flydende produkt til overfladebehandling for at opnå en antibakteriel overflade
Aktivstoffer:	Benzalkoniumchlorid, 0,26% (w/w) CAS Nr. 68424-85-1
	Pyridin-2-thiol-1-oxid natriumsalt, 0,025% (w/w) CAS Nr. 3811-73-2
Producent:	Nanobiz ApS
Produktionsdato:	10/09/2020

Se bilag 1 for billede af produkt.

Resultater

Tablet 1: Den antibakterielle effekt overfor *E. coli* med en kontakttid på 15 min. af dørgræb behandlet med Bacoban Danmark efter slidtest.

Slidtest	0 berøringer	50 berøringer	100 berøringer	200 berøringer
Log reduktion	≥3,7	2,4	0,8	0,8
% reduktion	≥99,98%	99,61%	85,15%	85,40%

Se Bilag 1 for detaljerede resultater.

Analysemetode

Prøverne blev analyseret i henhold til en modificeret udgave af ISO 22196:2011 - Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces.

Bilag 1

Resultater fra test med *Escherichia coli*, ATCC 8739, DSM 1576

Cfu-koncentrationen af testsuspensionen og på referencerne samt variationen mellem referencerne var inden for det ønskede område, se tabel 2 og 3. Effektiviteten af neutralisering af produktet blev testet ved at skylle 3 behandlede dørgreb med neutraliseringsmiddel og tilsætte valideringssuspensionen. Denne test (kontrol C) viste at produktet effektivt blev neutraliseret efter kontakttiden og at testforholdene ikke var toksiske for testorganismen.

Tabel 2. Log(FF) er log-værdien af fortyndingsfaktoren. N er antallet af cfu pr ml i testsuspensionen. Nv er antallet af cfu pr ml i valideringssuspensionen. Kontrol C er antallet af cfu pr ml efter test for effektivitet af neutraliseringen. Kun cfu-tællinger mellem 30 og 300 er brugt til beregninger.

Testsuspension og validering						
	log(FF)	Vc1	Vc2	Værdi	Kontrol Check	
N	3	>330	>330	6,8E+05	2,5E5 ≤ N ≤ 1,0E6	OK
	4	69	67			
Nv	1	40	44	4,2E+02	VS ≥ 3,0E2	OK
Kontrol C	0	49	51	50	TC ≥ 0,05*VS	OK
		47	55			
		51	45			

Tabel 3. Log(FF) er log-værdien af fortyndingsfaktoren. U_{tx} er log-værdien af cfu koncentrationen og U_t er gennemsnittet af disse. Kun tællinger mellem 30 og 300 er brugt til beregninger.

Referencer uden behandling og berøring									
	log(FF)	Vc1	Vc2	cfu/cm ²	Kontrol Check			U _{tx}	U _t
Reference #1	2	127	133	1,7E+04	6,2E3 ≤ ref ≤ 2,5E4	OK	(Lmax- Lmin)/Lmean ≤ 0,2	OK	4,2
Reference #2	2	138	146	1,9E+04		OK			4,3
Reference #3	2	123	129	1,7E+04		OK			4,2

Tabel 4. Log(FF) er log-værdien af fortyndingsfaktoren. A_{tx} er log-værdien af cfu koncentrationen og A_t er gennemsnittet af disse. R_{tx} er log-reduktionen i forhold til referencen for hvert testemne og logR er den gennemsnitlige log-reduktionen i forhold til referencen. %R er den procentvise reduktion beregnet ud fra logR. Kun tællinger mellem 30 og 300 er brugt til beregninger med undtagelse af, når de ufortyndede prøver gav <30.

Behandlede overflader uden berøring									
	log(FF)	Vc1	Vc2	cfu/cm ²	A _{tx}	R _{tx}	A _t	logR	%R
Test #1	0	<1	1	<1,2E+00	<0,1	≥4,1	<0,5	≥3,7	≥99,98%
Test #2	0	13	12	1,7E+01	1,2	3,0			
Test #3	0	<1	2	<2,0E+00	<0,3	≥3,9			

Tabel 5. Log(FF) er log-værdien af fortyndingsfaktoren. A_{tx} er log-værdien af cfu koncentrationen og A_t er gennemsnittet af disse. R_{tx} er log-reduktionen i forhold til referencen for hvert testemne og $\log R$ er den gennemsnitlige log-reduktionen i forhold til referencen. %R er den procentvise reduktion beregnet ud fra $\log R$. Kun tællinger mellem 30 og 300 er brugt til beregninger med undtagelse af, når de ufortyndede prøver gav <30.

Behandlede overflader efter 50 berøringer									
	log(FF)	Vc1	Vc2	cfu/cm ²	A_{tx}	R_{tx}	A_t	logR	%R
Test #1	0	16	22	2,5E+01	1,4	2,8			
Test #2	0	48	42	6,0E+01	1,8	2,5			
Test #3	0	163	165	2,2E+02	2,3	1,9	1,8	2,4	99,61%

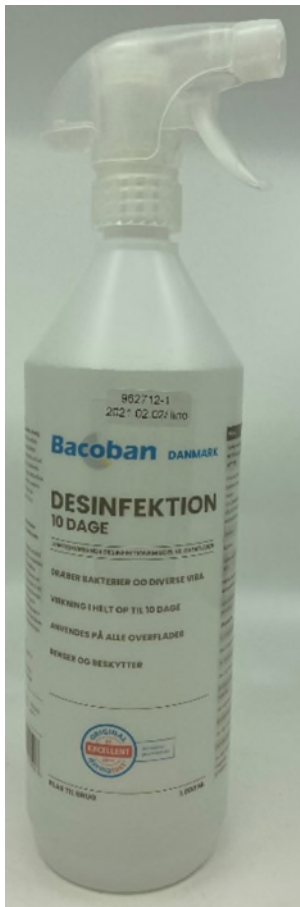
Tabel 6. Log(FF) er log-værdien af fortyndingsfaktoren. A_{tx} er log-værdien af cfu koncentrationen og A_t er gennemsnittet af disse. R_{tx} er log-reduktionen i forhold til referencen for hvert testemne og $\log R$ er den gennemsnitlige log-reduktionen i forhold til referencen. %R er den procentvise reduktion beregnet ud fra $\log R$. Kun tællinger mellem 30 og 300 er brugt til beregninger med undtagelse af, når de ufortyndede prøver gav <30.

Behandlede overflader efter 100 berøringer									
	log(FF)	Vc1	Vc2	cfu/cm ²	A_{tx}	R_{tx}	A_t	logR	%R
Test #1	1	179	191	2,5E+03	3,4	0,9			
Test #2	1	268	279	3,6E+03	3,6	0,7			
Test #3	1	149	152	2,0E+03	3,3	0,9	3,4	0,8	85,15%

Tabel 7. Log(FF) er log-værdien af fortyndingsfaktoren. A_{tx} er log-værdien af cfu koncentrationen og A_t er gennemsnittet af disse. R_{tx} er log-reduktionen i forhold til referencen for hvert testemne og $\log R$ er den gennemsnitlige log-reduktionen i forhold til referencen. %R er den procentvise reduktion beregnet ud fra $\log R$. Kun tællinger mellem 30 og 300 er brugt til beregninger med undtagelse af, når de ufortyndede prøver gav <30.

Behandlede overflader efter 200 berøringer									
	log(FF)	Vc1	Vc2	cfu/cm ²	A_{tx}	R_{tx}	A_t	logR	%R
Test #1	1	141	154	2,0E+03	3,3	1,0			
Test #2	1	201	233	2,9E+03	3,5	0,8			
Test #3	1	224	228	3,0E+03	3,5	0,8	3,4	0,8	85,40%

Bilag 2 – Produkt og testopstilling



Figur 1: Bacoban Danmark. Lab. Nr. 962712-1 benyttet til behandlede af overfalder for at opnå en anti bakteriel effekt.



Figur 2: Testopstilling med håndgreb til udførelse af slidtest.

Bilag 3 – Billeder fra testproceduren



Figur 3: Påføring af produkt fra sprayflaske (venstre) og fordeling af produktet med klud (højre).



Figur 4: Greb ved slidtest



Figur 5: Test af den antibakterielle effekt. Plaststykket viser det testede område.