

| | | | |
|---|---|-------------|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 1 di 18 |
| Oggetto dello studio: | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | | |
| Sostanza in esame: | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | | |

Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000

Committente: MPCD SERVICE SRL
 Viale Andrea Doria 24
 20124 MILANO (MI)

Centro di Saggio: Chelab srl - Via Fratta, 25 - 31023 Resana (TV)

Direttore dello studio: Federica Cattapan

Date:

- inizio dello studio: 07/02/2008
- inizio della sperimentazione: 11/02/2008
- conclusione della sperimentazione: 29/02/2008
- conclusione dello studio: 07/03/2008



| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 2 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

INDICE

| | |
|---|----|
| Stato del documento | 3 |
| Storia del documento | 3 |
| Dichiarazione di conformità alle Buona Pratica di Laboratorio | 4 |
| Dichiarazione di Assicurazione della Qualità | 5 |
| 1.0 Date di inizio e conclusione della sperimentazione | 6 |
| 2.0 Descrizione di materiali e metodi utilizzati..... | 6 |
| 2.1 Sostanza in esame | 6 |
| 2.2 Sistemi di saggio | 6 |
| 2.3 Materiali di riferimento (Mezzi di coltura e reagenti) | 7 |
| 2.4 Apparecchiature..... | 7 |
| 2.5 Preparazione delle sospensioni di microrganismi e delle soluzioni di prova..... | 9 |
| 3.0 Risultati | 13 |
| 4.0 Conclusioni | 15 |
| Tabella 1 | 16 |
| Tabella 2..... | 17 |

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 3 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Stato del documento

| | Nome | Funzione/Ruolo | Firma | Data |
|-------------------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------|
| Preparato | Lucia Gottardo | Analista | <i>Lucia Gottardo</i> | 07/03/2008 |
| Verificato e Approvato | Federica Cattapan | Direttore dello studio | <i>Federica Cattapan</i> | 8/03/08 |

Storia del documento

| Rev. | Descrizione e motivo della revisione | Rif. Punti |
|------|--------------------------------------|------------|
| 0 | Prima emissione | / |
| | | |

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 4 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Dichiarazione di conformità alle Buone Pratiche di Laboratorio

Il sottoscritto dichiara che lo studio descritto nella presente relazione finale è stato condotto sotto la propria direzione ed in conformità ai principi di Buona Pratica di Laboratorio:

- Decreto Legislativo 2 marzo 2007, n.50.

Lo studio è stato condotto presso il Centro di Saggio CHELAB S.r.l. in possesso delle Certificazioni di conformità alla Buona Pratica di Laboratorio n. 38/2007 emesse in data 23/04/2007 e valide fino al 22/04/2009.

Data: 07/03/2008

Il Direttore dello Studio

(Federica Cattapan)

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 5 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Dichiarazione di Assicurazione della Qualità

Il sottoscritto certifica che:

- In data ____ / ____ / ____ ha condotto un'ispezione sul presente studio verificando:
 - a) il programma di studio ed il metodo di prova adottato;
 - b) i dati grezzi dello studio;
 - c) la conformità dello studio al programma ed al metodo di prova adottato.
- In data ____ / ____ / ____ ha comunicato i dati di ispezione al Direttore del Centro di Saggio ed al Direttore dello studio (in qualità anche di coordinatore dei ricercatori che hanno svolto lo studio).
- In data ____ / ____ / ____ ha verificato la presente relazione finale.
- In data ____ / ____ / ____ ha comunicato l'esito della verifica della presente relazione finale al Direttore del Centro di Saggio ed al Direttore dello studio

Data: ____ / ____ / ____

Resp. Assicurazione Qualità
(Stefano Cazzaro)



| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 6 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

1.0 Date di inizio e conclusione della sperimentazione

inizio: 11/02/2008

fine: 29/02/2008

2.0 Descrizione di materiali e metodi utilizzati

2.1 Sostanza in esame

Nome: MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM

Il prodotto testato è il detergente sgrassante MPCD Industry 95 che contiene il disinfettante Sterilin 100M alle seguenti concentrazioni indicate dal cliente:

- 2%: concentrazione d'uso
- 1%
- 5%

Lotto: 01/08

Data di preparazione: 28/01/2008

Data di scadenza 28/01/2010

Data di ricevimento: 11/02 /2008

N° di accettazione: 08.025646.01

2.2 Sistemi di saggio

CEPPI MICROBICI

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442 (Microbiologics)

Staphylococcus aureus ATCC 6538 (DSMZ)

Enterococcus hirae ATCC 10541 (DSMZ)

Escherichia coli ATCC 10536 (DSMZ)

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 7 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

2.3 Materiali di riferimento (Mezzi di coltura e reagenti)

- **Acqua**

Acqua esente da sostanze tossiche o inibitrici rispetto ai batteri. Si tratta di acqua distillata di recente, non demineralizzata, autoclavata a 121°C per 15 minuti.

- **Diluyente**

| | |
|---|----------------|
| Triptone, digestione pancreatica di caseina | 1,0 g |
| Cloruro di sodio | 8,5 g |
| Acqua | fino a 1000 mL |

Sterilizzato in autoclave a 121°C per 15 minuti. Dopo sterilizzazione è stato controllato che il pH fosse $7,0 \pm 0,2$.

- **Triptone Soia Agar (TSA)**

Biomerieux

- **Brodo di coltura triptone di soia (TSB)**

Biomerieux

- **Soluzione di lavaggio**

Tween 80 soluzione acquosa 0,2 %

Sterilizzato in autoclave a 121°C per 15 minuti.

- **Sostanza interferente (condizioni di sporco)**

| | |
|-----------------|--------|
| Albumina bovina | 3,0 g |
| Acqua | 100 mL |

Sterilizzata per filtrazione con filtro di porosità 0,45 µm.

Tale soluzione nel corso dell'esecuzione della prova ha subito una diluizione 1:10; pertanto la concentrazione finale dell'albumina bovina nel test è 3,0 g/L.

2.4 Apparecchiature

- Autoclave a $121 \pm 1^\circ\text{C}$

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 8 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

- Bilancia analitica ($\pm 0,0001$ g)
- Bilancia tecnica ($\pm 0,01$ g)
- Incubatore a $36 \pm 1^\circ\text{C}$
- pHmetro con una accuratezza di taratura di $\pm 0,1$ unità di pH a 25°C
- Cronometro
- Pipette graduate di capacità nominale 10 mL, 5 mL, 2 mL, 1 mL
- Pipetta automatica di capacità 200-1000 μL
- Bagno termostatico a $45 \pm 1^\circ\text{C}$
- Bagno termostatico a $20 \pm 1^\circ\text{C}$
- Dispositivo di filtrazione su membrana
- Membrane per filtrazione di diametro compreso fra 45 mm e 50 mm, con pori del diametro di $0.45 \mu\text{m}$
- Vortex® mixer
- Spettrofotometro
- Contenitori sterili di idonea capacità
- Sfere in vetro di diametro compreso fra 3 mm e 4 mm
- Cappa a flusso laminare
- Capsule Petri diametro 90 mm
- Normale vetreria (di classe A) ed attrezzatura di laboratorio

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 9 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Tutta la vetreria utilizzata e le parti di apparecchiatura che sono venuti a contatto con i mezzi di coltura e/o i reagenti e/o il campione sono stati sterilizzati in autoclave a 121°C per 15 min.

2.5 Preparazione delle sospensioni di microrganismi e delle soluzioni di prova

2.5.1 **PREPARAZIONE DELLE SOSPENSIONI DI MICRORGANISMI**

2.5.1.1 Preparazione delle colture di lavoro batteriche

Per ogni ceppo batterico, la coltura stock è stata strisciata su una piastra di TSA e incubata per 24 ore a 36°C ± 1°C; dalla subcoltura ottenuta ne è stata ricavata una seconda ripetendo la stessa procedura e le stesse modalità di incubazione. Allo stesso modo è stata generata una terza subcoltura. La seconda o terza subcoltura costituiscono le colture di lavoro ai fini dell'analisi.

2.5.1.2 Preparazione delle sospensioni di lavoro batteriche

Per ogni ceppo batterico, alcune colonie cresciute sulla seconda o terza subcoltura sono state trasferite in contenitori sterili contenenti sfere di vetro e 12 mL di diluente.

Dopo aver agitato fino allo scioglimento delle sospensioni, le stesse sono state trasferite in altri contenitori sterili e, dopo aver valutato il numero di cellule contenute mediante lettura spettrofotometrica, la concentrazione è stata aggiustata con diluente per ottenere da $1,5 \times 10^8$ ufc/mL a $5,0 \times 10^8$ ufc/mL. Tali sospensioni sono state mantenute in bagno termostatico a 20°C ± 1°C ed utilizzate entro le 2 ore successive.

2.5.1.3 Conteggio delle sospensioni batteriche di prova

Per ogni ceppo batterico, sono state allestite diluizioni scalari della sospensione batterica di prova in diluente fino ad ottenere diluizioni 10^{-6} e 10^{-7} .

E' stato prelevato un campione da 1,0 mL, in doppio, di ciascuna diluizione e trasferito in capsule Petri alle quali sono stati aggiunti circa 15 mL di TSA fuso e raffreddato a 45°C ± 1°C. Le piastre sono state incubate a 36°C ± 1°C per 48 ore e su queste, dopo aver scartato le piastre non conteggiabili, è stata eseguita la conta delle colonie. Per ciascuna piastra è stato determinato il numero più alto di colonie Vc, dal quale è stato poi ricavato il numero di ufc/mL nella sospensione di prova (N).

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 10 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

2.5.2 PREPARAZIONE DELLE SOLUZIONI DEL PRODOTTO SOTTOPOSTO A PROVA

Il prodotto testato è il detergente sgrassante MPCD Industry 95 che contiene il disinfettante Sterilin 100M alle seguenti concentrazioni indicate dal cliente:

- 2 %: concentrazione d'uso
- 1%
- 5%

Le concentrazioni sono state ottenute applicando le opportune correzioni previste dalla norma stessa, utilizzando acqua sterile. La concentrazione iniziale del campione nella soluzione di prova deve essere 1,25 volte la concentrazione desiderata. La successiva diluizione ottenuta con l'aggiunta dell'inoculo e della sostanza interferente porta le soluzioni di prova alla concentrazione richiesta.

2.6 Procedimento

2.6.1 ESECUZIONE DELLA PROVA SECONDO UNI EN 1276 SUL CAMPIONE DI SAGGIO: ATTIVITÀ BATTERICIDA

La prova è stata eseguita secondo il metodo di filtrazione su membrana, con temperatura di contatto di $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, tempo di contatto di 5 minuti \pm 10 secondi, in condizioni di sporco con albumina bovina (3,0 g/L).

2.6.1.1 **Protocollo del test: metodo di filtrazione su membrana**

In una provetta è stato messo 1,0 mL di sostanza interferente. A questo è stato aggiunto 1,0 mL di sospensione batterica di prova facendo immediatamente partire il cronometro. Trascorsi 2 minuti \pm 10 secondi, sono stati aggiunti 8,0 mL di soluzione di prova del campione. Trascorso il tempo di contatto, due aliquote da 0,1 mL di tale miscela sono state prelevate e trasferite in dispositivi separati per filtrazione su membrana, muniti di una membrana e precedentemente riempiti con 50 mL di liquido di lavaggio. Immediatamente la miscela è stata filtrata, per un tempo massimo di 1 minuto, quindi le membrane sono state risciacquate prima con circa 250 mL di liquido di lavaggio e poi con 50 mL di acqua. Le membrane sono state infine trasferite sulla superficie di due capsule Petri separate, contenenti TSA solidificato, ed incubate a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ore.

Durante l'esecuzione della prova, le provette sono state mescolate accuratamente prima e dopo ciascun prelievo e mantenute il più possibile in bagno termostatico a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 11 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Tale procedimento è stato seguito per ogni ceppo batterico utilizzato per l'esecuzione della prova.

2.6.1.2 Conteggi

Al termine del periodo di incubazione, dopo aver scartato le piastre non conteggiabili, per ciascuna piastra è stato valutato il più alto numero di unità formanti colonie V_c . Tali valori sono stati utilizzati per calcolare N_a che è il numero di ufc/mL nella miscela di prova.

2.7 Verifiche

2.7.1 PREPARAZIONE DELLA SOSPENSIONE BATTERICA PER LE CONVALIDE

La sospensione batterica di prova è stata diluita con diluente fino ad ottenere un numero di cellule compreso tra 6×10^2 ufc/mL e 3×10^3 ufc/mL.

Per effettuare il conteggio di questa sospensione (sospensione batterica diluita), è stata preparata una diluizione 10^{-1} con diluente. Dopo aver mescolato, è stato prelevato in duplicato 1 mL, trasferito in capsule Petri alle quali sono stati aggiunti circa 15 mL di TSA fuso e raffreddato a $45^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Le piastre sono state incubate a $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ per 48 ore. Da tali piastre, per ciascun mL seminato, è stato calcolato il numero più alto di colonie che poi è servito per calcolare N_v , cioè il numero di ufc/mL della sospensione batterica usata nelle convalide.

2.7.2 PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI PROVA DEL PRODOTTO PER LE CONVALIDE

È stato utilizzato il campione alla massima concentrazione di Sterilin 100M testata (vedi paragrafo 2.5.2).

2.7.3 VALIDAZIONE DEL METODO DI FILTRAZIONE SU MEMBRANA PER LA NORMA UNI EN 1276

Quanto di seguito riportato è stato eseguito per ogni ceppo batterico.

2.7.3.1 Verifica dell'assenza di qualsiasi effetto letale nelle condizioni di prova

In una provetta sterile sono stati introdotti 1,0 mL di soluzione di sostanza interferente e 1,0 mL della sospensione batterica diluita, facendo immediatamente partire il cronometro. La provetta è rimasta in bagno termostatico a $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ per 2 minuti \pm 10 secondi, dopo di che sono stati aggiunti 8,0 mL di acqua distillata. La

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 13 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

eseguito un ulteriore lavaggio con 50 mL di acqua. Le membrane sono state poste su capsule Petri ciascuna contenente circa 15 mL di TSA solidificato. Le piastre sono state incubate a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ore. Da tali piastre, per ciascun mL seminato, è stato calcolato il numero più alto di colonie che poi è servito per calcolare C, cioè il numero di ufc sopravvissute nella convalida del metodo di filtrazione su membrana. Durante l'esecuzione delle convalide, le provette sono state mescolate accuratamente prima e dopo ciascun prelievo e mantenute il più possibile in bagno termostatico a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

3.0 Risultati

3.1 Verifica del metodo

Per ogni ceppo batterico è stato verificato che:

- N fosse compreso tra $1,5 \times 10^8$ ufc/mL e 5×10^8 ufc/mL
- N_v fosse compreso tra 6×10^2 ufc/mL e 3×10^3 ufc/mL
- B fosse $\geq 0,05 N_v$
- C fosse $\geq 0,5 B$
- A fosse $\geq 0,05 N_v$

3.2 Espressione dei risultati

Per ciascun organismo di prova è stato registrato:

- il numero di ufc/mL nella sospensione batterica di prova (N)
- il numero di ufc/mL sopravvissute dopo il procedimento di prova per l'attività battericida del prodotto ad ogni concentrazione (N_a).

Per ciascun organismo di prova e per ogni concentrazione di prova del prodotto la riduzione delle cellule vive è stata calcolata e registrata nel modo seguente:

$$\text{riduzione delle cellule vive} = \frac{N \times 10^{-1}}{N_a}$$

dove:

10^{-1} = fattore di diluizione

L'attività battericida per applicazioni generali è caratterizzata dalla concentrazione del prodotto sottoposto a prova per la quale si è dimostrata una riduzione della conta delle unità vitali di almeno 10^5 o maggiore nelle condizioni di prova richieste:

5 minuti \pm 10 sec.;

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 12 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

provetta è rimasta ancora in bagno termostatico a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 5 minuti ± 10 secondi. Quindi è stato prelevato da essa in duplicato 1,0 mL, e trasferito in dispositivi separati per filtrazione su membrana, muniti di una membrana e precedentemente riempiti con 50 mL di liquido di lavaggio. Immediatamente la miscela è stata filtrata, per un tempo massimo di 1 minuto, quindi le membrane sono state risciacquate con 50 mL di acqua. Le membrane sono state infine trasferite sulla superficie di due capsule Petri separate, contenenti TSA solidificato, ed incubate a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ore. Da tali piastre, per ciascun mL seminato, è stato calcolato il numero più alto di colonie che poi è servito per calcolare A, cioè il numero di ufc/mL sopravvissute nella convalida delle condizioni di prova scelte. Durante l'esecuzione delle convalide, le provette sono state mescolate accuratamente prima e dopo ciascun prelievo e mantenute il più possibile in bagno termostatico a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2.7.3.2 Convalida della procedura di filtrazione

In dispositivi separati per filtrazione su membrana, muniti di una membrana e precedentemente riempiti con 50 mL di liquido di lavaggio è stato trasferito, in duplicato, 0,1 mL dalla sospensione batterica diluita, procedendo immediatamente alla filtrazione. Dopo aver risciacquato con 50 mL di acqua, le membrane sono state poste su capsule Petri ciascuna contenente circa 15 mL di TSA solidificato. Le piastre sono state incubate a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ore. Da tali piastre è stato calcolato il numero più alto di colonie che poi è servito per calcolare B, cioè il numero di ufc sopravvissute nella convalida della procedura di filtrazione. Durante l'esecuzione delle convalide, le provette sono state mescolate accuratamente prima e dopo ciascun prelievo e mantenute il più possibile in bagno termostatico a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2.7.3.3 Convalida del metodo di filtrazione su membrana

In una provetta, mantenuta in bagno termostatico a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, sono stati messi 1,0 mL di sostanza interferente, 1,0 mL di diluente e 8,0 mL di soluzione del campione (preparata come indicato al paragrafo 2.7.2), facendo immediatamente partire il cronometro.

Trascorsi 5 minuti ± 10 secondi, 0,1 mL di tale sospensione è stato trasferito, in duplicato, in dispositivi separati per filtrazione su membrana, muniti di una membrana e precedentemente riempiti con 50 mL di liquido di lavaggio e si è immediatamente proceduto alla filtrazione. Dopo aver risciacquato con 250 mL di liquido di lavaggio, le membrane sono state ricoperte con 50 mL di liquido di lavaggio. In questo, sempre in duplicato, è stato introdotto 0,1 mL di sospensione batterica diluita e si è proceduto alla filtrazione. Al termine della filtrazione è stato

| | | | |
|---|---|-------------|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 14 di 18 |
| Oggetto dello studio: | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | | |
| Sostanza in esame: | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | | |

20°C ± 1°C;

condizioni sporco;

organismi di prova:

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Enterococcus hirae ATCC 10541

Escherichia coli ATCC 10536

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 15 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

4.0 Conclusioni

Vedi **tabelle 1 e 2.**

In accordo con la norma UNI EN 1276, il campione in esame MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM, numero d'accettazione 08.025646.01, quando STERILIN 100 M viene utilizzato alle concentrazioni

- 2%: concentrazione d'uso
- 1%
- 5%

possiede attività battericida [cioè provoca una riduzione della conta delle unità vitali superiore a 10^5 ($R > 5 \log$)], nelle seguenti condizioni:

- Tempo di contatto: 5 minuti;
- Temperatura: $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
- Condizioni operative: condizioni di sporco (albumina bovina 3,0 g/L)

Il campione in esame risulta infatti attivo per i ceppi di riferimento:

| | |
|-------------------------------|------------|
| <i>Escherichia coli</i> | ATCC 10536 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 15442 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 6538 |
| <i>Enterococcus hirae</i> | ATCC 10541 |

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 16 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Tabella 1

Risultati della prova UNI EN 1276: attività battericida in condizioni di sporco
 Campione in esame: MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM
 Numero d'accettazione: 08.025646.01

| Organismi di prova | PROVE DI CONVALIDA | | | |
|---|--------------------------------------|-------------------------------------|--|---|
| | Sospensione batterica diluita | Condizioni sperimentali A | Controllo della procedura di filtrazione B | Controllo del metodo di filtrazione su membrana C |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | Vc: 142-152 Nv: 1.5×10^3 | Vc: 135-163 A: 1.5×10^3 | Vc: 119-123 B: 1.2×10^3 | Vc: 120-127 C: 1.2×10^3 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | Vc: 120-121 Nv: 1.2×10^3 | Vc: 155-179 A: 1.7×10^3 | Vc: 144-153 B: 1.5×10^3 | Vc: 144-150 C: 1.5×10^3 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 | Vc: 180-180 Nv: 1.8×10^3 | Vc: 169-170 A: 1.7×10^3 | Vc: 178-192 B: 1.9×10^3 | Vc: 140-160 C: 1.5×10^3 |
| <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 | Vc: 95-97 Nv: 9.6×10^2 | Vc: 81-91 A: 8.6×10^2 | Vc: 96-103 B: 1.0×10^3 | Vc: 111-111 C: 1.1×10^3 |

Vc = numero delle cellule vive

Nv = numero di UFC/mL della sospensione batterica diluita

A = numero di UFC/mL nella convalida delle condizioni sperimentali

B = numero di UFC/mL nella convalida della procedura di filtrazione

C = numero di UFC/mL nella convalida del metodo di filtrazione

| | | | |
|---|---|---|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 17 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000 | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Tabella 2

Risultati della prova UNI EN 1276: attività battericida in condizioni di sporco
 Campione in esame: MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM
 Numero d'accettazione: 08.025646.01

| Organismi di prova | Sospensione batterica di prova | Procedimento di prova (tempo di contatto 5 minuti) | | |
|---|--|---|---|---|
| | | STERILIN 100 M 5% | STERILIN 100 M 2% | STERILIN 100 M 1% |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | 10 ⁻⁶ : >300->300 10 ⁻⁷ : 30-35 N: 3.3 × 10 ⁸ | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 10 ⁻⁶ : 239-240 10 ⁻⁷ : 24-24 N: 2.4 × 10 ⁸ | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 | 10 ⁻⁶ : >300->300 10 ⁻⁷ : 43-47 N: 4.5 × 10 ⁸ | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO |
| <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 | 10 ⁻⁶ : 166-171 10 ⁻⁷ : 12-12 N: 1.7 × 10 ⁸ | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO | Vc: 0-0 Na: <1,5 × 10 ² R: >10 ⁵ ATTIVO |

- N** = numero di UFC/mL della sospensione batterica di prova
Vc = numero delle cellule vive
Na = numero di UFC/mL nella miscela di prova
R = riduzione delle cellule vive

| | | | |
|---|---|--|------------|
| CHELAB Centro di Saggio Certificazione Ministero della Salute n. 38/2007 | Relazione finale sui risultati dello studio | Studio nr.: | 07/2008 |
| | | Revisione: | 0 |
| | | Data: | 07/03/2008 |
| | | Pagina: | 18 di 18 |
| Oggetto dello studio: | | <i>Attività battericida secondo UNI EN 1276:2000</i> | |
| Sostanza in esame: | | MPCD INDUSTRY 95 + STERILIN 100 M = ECOSANISYSTEM | |

Archiviazione

| Documento/Registrazione | Tempo di archiviazione |
|--|---|
| materiali specifici dello studio | <i>10 anni</i> |
| controcampione della sostanza in esame e della sostanza di riferimento | <i>Nessun controcampione è stato affidato dal Committente al Centro di Saggio</i> |
| materiali di supporto dello studio | <i>10 anni</i> |

Allegati

nessuno