

ecoscope · Hochgratweg 12 · 88279 Amtzell · Germany

orca GmbH  
Herrn Rainer Orbach  
Hungenbach 1D  
51515 Kürten  
Germany

Hochgratweg 12  
88279 Amtzell, Germany  
Tel +49 7520 953 660  
Fax +49 7520 953 661  
info@ecoscope.de  
www.ecoscope.de

12.12.2019

## PRÜFBERICHT

### Validierung der Desinfektionsleistung der UVpro EKB 100 Entkeimungsbox

#### 1. Zusammenfassung

Sporen des Schimmelpilzes *Aspergillus brasiliensis* DSM 1988 wurden durch Bestrahlung in der UVpro EKB 100-Entkeimungsbox wirksam inaktiviert. Bei einer Bestrahlungsdauer von 16,5 Minuten wurde eine Keimzahlreduktion von 4 log<sub>10</sub>-Stufen erreicht, nach 8,6 min eine Reduktion von 3 log<sub>10</sub>-Stufen.

Die Sporen des verwendeten Testkeims werden aufgrund ihrer schwarzen Pigmentierung als besonders widerstandsfähig gegen UVC-Strahlung angesehen.

Amtzell, 12.12.2019

Dr. Ingo Maier (Prüfleiter)

Seite 1 von 4



## 2. Testgerät

Eine UVpro EKB 100-Entkeimungsbox (Prototyp ohne Seriennummer) wurde von der orca GmbH, Kürten, zur Verfügung gestellt. Das Gerät besteht aus einer Kammer aus Edelstahlblech, die oben und am Boden mit UVC-Entkeimungslampen ausgestattet ist. Am Boden befindet sich ein Edstahlgitter zur Aufstellung der zu desinfizierenden Gegenstände (Abb. 1). Die Bestrahlungsdauer wird über ein Potentiometer mit Drehknopf variabel eingestellt.

## 3. Durchführung

### 3.1. Testkeime

Die Prüfung wurde mit reifen, schwarzpigmentierten Sporen des Schimmelpilzes *Aspergillus brasiliensis* DSM 1988 durchgeführt. Die Stammkultur des Testkeims wurde von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) bezogen. Die Anzucht des Schimmelpilzes erfolgte auf Kartoffelextrakt-Glucose-Agar (PDA, Roth) bei 25 °C über 4 Wochen. Die Sporen wurden mit NaCl/Tween 80-Lösung abgewaschen, über eine Glasfritte (Porosität 2) filtriert und dreimal durch Zentrifugation (500 g, 20 min) gewaschen. Zur Bestimmung der Ausgangskeimzahl und für die Tests wurde eine dezimale Verdünnungsreihe bis zur Stufe  $10^{-5}$  in NaCl/Tween 80-Lösung hergestellt. Die Keimzahl in der Ausgangssuspension (Stufe 0) betrug  $1,28 \times 10^7$  KBE/mL (koloniebildende Einheiten pro Milliliter).

### 3.2. Testansatz

Für die Bestrahlungsversuche wurden jeweils 100 µL der verschiedenen Verdünnungsstufen auf PDA-Agar in 90 mm Polystyrol-Petrischalen gleichmäßig ausgespatelt (entsprechend einer Sporenzahl von  $1,3 \times 10^6$  KBE in Stufe 0). Ein Randbereich von 1 cm Breite wurde ausgespart, um eine Beschattung durch die Seitenwand der Petrischale zu vermeiden. Die Agarschicht hatte eine Höhe von ca. 5 mm. Da der Nährboden die UVC-Strahlung von unten weitgehend abschirmt, erfolgte die Bestrahlung im Wesentlichen von oben und durch Reflektion von den Seitenwänden. Die Versuche wurden im Dreifach-Ansatz durchgeführt, wobei die Petrischalen wie in Abb. 1 angeordnet wurden: vorne links (Position 1), Mitte (Position 2) und hinten rechts (Position 3).



Abb. 1 Die Anordnung der Testplatten

### 3.3. Bestrahlung

Für die UVC-Bestrahlung wurde der "Bereich 2" über die Zeitsteuerung ausgewählt und der Drehknopf des Potentiometers auf die Stellungen 1, 2, 4 oder 8 (Anschlag) eingestellt. Die jeweiligen Bestrahlungszeiten wurden mit Stoppuhr gemessen. Die genannten Drehknopf-Stellungen ergaben im Mittel folgende Bestrahlungszeiten: 1,0 min, 3,6 min, 8,6 min und 16,5 min (Tab. 1-2).

### 3.4. Auswertung

Die Petrischalen wurden 4 Tage bei  $25 \pm 1$  °C bebrütet. Die aus überlebenden Sporen entwickelten Pilzkolonien wurden nach 2, 3 und 4 Tagen manuell ausgezählt.

## 4. Ergebnisse

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen nach Behandlung. Als Kontrolle wurden unbestrahlte Petrischalen bebrütet, wobei gleichzeitig die Ausgangskeimzahl für die Testansätze bestimmt wurde. Die Einzelwerte sind in Reihenfolge der Testpositionen 1-3 (siehe oben) angegeben. Da die verschiedenen Testpositionen in der Entkeimungsbox keine signifikanten Unterschiede im Entkeimungsergebnis zeigten, wurden die Messwerte bei der Berechnung der logarithmischen Inaktivierungsfaktoren (Tabelle 2) gemittelt.



Tabelle 1: Ergebnisse der Bestrahlungsversuche mit verschiedenen Bestrahlungszeiten und Verdünnungen der *Aspergillus*-Sporenpräparation

| Stufe | Keimzahl (KBE*) nach Bestrahlung (min) |            |            |            |               |
|-------|--|------------|------------|------------|---------------|
|       | 16,5 +0,3/-0,2                         | 8,6 ± 0,1  | 3,6 ± 0,1  | 1,0 ± 0,0  | Kontrolle     |
| 0     | 61, 41, 56                             | n.a.       | n.a.       | n.a.       | n.b.          |
| -1    | 15, 10, 12                             | 22, 24, 28 | n.a.       | n.a.       | n.b.          |
| -2    | 3, 2, 1                                | 13, 7, 6   | 50, 23, 24 | n.a.       | n.b.          |
| -3    | 0, 0, 0                                | 2, 0, 1    | 4, 8, 7    | 42, 28, 42 | n.b.          |
| -4    | 0, 0, 0                                | 0, 0, 0    | 0, 0, 0    | 5, 8, 8    | 108, 110, 144 |
| -5    | 0, 0, 0                                | 0, 0, 0    | (1), 0, 0  | 0, 0, 0    | 12, 21, 26    |

\*KBE: koloniebildende Einheiten

n.a.: nicht auswertbar, Koloniezahl >>150

n.b.: nicht bestimmt

Tabelle 2: Keimzahlreduktion von *Aspergillus*-Sporen nach unterschiedlicher Bestrahlungsdauer

| Stufe | Keimzahlreduktion (log <sub>10</sub> ) nach Bestrahlung (min) |           |           |           |
|-------|---|-----------|-----------|-----------|
|       | 16,5 +0,3/-0,2  | 8,6 ± 0,1 | 3,6 ± 0,1 | 1,0 ± 0,0 |
| 0     | 4,4   | n.a.      | n.a.      | n.a.      |
| -1    | 4,0   | 3,7       | n.a.      | n.a.      |
| -2    | 3,8   | 3,2       | 2,6       | n.a.      |
| -3    | ≥ 3,1   | 3,0       | 2,3       | 1,5       |
| -4    | ≥ 2,1   | ≥ 2,1     | ≥ 2,1     | 1,3       |
| -5    | ≥ 1,1   | ≥ 1,1     | ≥ 1,1     | ≥ 1,1     |

n.a.: nicht auswertbar, Koloniezahl >>150