

[HYGCEN GERMANY GMBH | BORNHÖVEDSTRASSE 78 | 19055 SCHWERIN]

ROPILEX R. OPEL GmbH
Bildstocker Str. 12-14

66538 Neunkirchen



2018-10-29
Dr. We/Te

**Bacoban DL
EN 13624**

**Quantitativer Suspensionsversuch - fungizide Wirkung (*Trichophyton interdigitale*)
(Phase 2, Stufe 1)**

***Quantitative suspension test - fungicidal activity (Trichophyton interdigitale)*
(phase 2, step 1)**

modifizierter Test / modified test

niedrige Belastung / clean conditions

PRÜFBERICHT / TEST REPORT

Proben-Nr. / <i>identification of the test laboratory:</i>	SN 26185
Prüfungsnummer / <i>test number:</i>	2018-1978
Prüfprodukt / <i>test product:</i>	Bacoban DL
Chargen-Nr. / <i>batch number:</i>	8071113
Auftraggeber / <i>customer:</i>	ROPILEX R. OPEL GmbH
Auftragsdatum / <i>date of order:</i>	2018-09-12
Materialeingang / <i>date of delivery:</i>	2018-09-14
Lagerbedingungen / <i>storage conditions:</i>	die des Herstellers / <i>those of the manufacturer</i>
Vom Hersteller empfohlenes Verdünnungs- mittel / <i>product diluent recommended by the manufacturer for use:</i>	konzentrierte Anwendung / <i>concentrated application</i>
Aussehen / <i>appearance:</i>	klare, farblose Flüssigkeit / <i>clear, colourless liquid</i>
Geruch / <i>odour:</i>	aromatisch / <i>aromatic</i>
Wirkstoff(e) laut Herstellerangaben in 100g / <i>active substance(s) per 100g:</i>	nicht angegeben / <i>not indicated</i>

SN 26185 EN 13624 Seite / page 1 von / of 5

Prüfmethode / test method:	EN 13624 (2013/prA1: 2018) Quantitativer Suspensionsversuch zur Prüfung der fungiziden oder levuroziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1)
	EN 13624 (2013/prA1: 2018) Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity in the medical area – test method and requirements (phase 2, step 1)
	SOP 02-051
Prüfzeitraum / <i>period of analysis</i> :	2018-09-28 bis / <i>to</i> 2018-10-25
Prüftemperatur / <i>test temperature</i> :	20°C ± 1°C
Prüfkonzentration(en) / <i>product test concentration(s)</i> :	97% (v/v) Endkonzentration(en) / <i>end concentration(s)</i>
Einwirkzeit(en) / <i>contact time(s)</i> :	5, 30 und / <i>and</i> 60 Minuten / <i>minutes</i>
Auszählverfahren / <i>counting procedure</i> :	Plattengussverfahren / <i>pour plate method</i>
Inkubation / <i>incubation</i> :	30°C ± 1°C – 14d
Probenverdünnungsmittel / <i>diluent used for product test solution</i> :	destilliertes Wasser / <i>distilled water</i>
Methode der Neutralisation / <i>method of neutralisation</i> :	Membranfiltration / <i>membrane filtration</i>
Stabilität und Aussehen des Prüfproduktes während der Prüfung / <i>stability and appearance of the mixture during the procedure</i> :	kein Niederschlag oder Ausfällungen / <i>no flocculent or precipitation</i>
Neutralisationsmittel/Spülflüssigkeit / <i>neutralizer/rinsing liquid</i> :	Verdünnungsflüssigkeit + 0,5% Tween 80 / <i>dilution + 0.5% polysorbate 80</i>
Belastungssubstanz(en) / <i>interfering substance(s)</i> :	niedrige Belastung / <i>clean conditions</i> : 0,3g/l Rinderserumalbumin / <i>0.3g/l bovine serum albumin</i>
Prüfkeim(e) / <i>test strain(s)</i> :	<i>Trichophyton interdigitale</i> ATCC 9533
<u>Prüfanforderung / requirement:</u>	
EN 13624:	Reduktion / <i>reduction</i> ≥ 4lg

Prüfergebnisse / test results EN 13624

Prüfprodukt / test product: Bacoban DL
 Prüfkeim / test strain: T. interdigitale

Chargen-Bez.: / batch no.:
 Belastungssubstanz / interfering substance:

8071113
 niedrige Belastung / clean conditions

SN 26185

Einwirkzeit / contact time:	Validierungsprüfung / Validation test						Keimsuspension / test suspension		Prüfung (Na) bei Produktkonzentrationen von (v/v) Test procedure (Na) at concentration (v/v)			
	Validierungs- suspension / fungal suspension (N _v)		Kontrolle / control (A)		Kontrolle / control (B) (N _{vB} /1000)		Kontrolle / control (97%) (C)		(N and N ₀)			
5min.	Vc: N _{vo} :	20+30+33 34+27+42 93.0	Vc: A:	85 81 83.0	Vc: B:	48 46 47.0	Vc: C:	41 54 47.5	10 ⁻⁶ : 10 ⁻⁷ : N: lgN: lgN ₀ :	63+53+52 60+60+45 5+7+6 6+7+4 1.67x10 ⁸ 8.22 6.22	Vc 10 ⁰ : Na: lgNa: lgR:	0 <140 <2.15 >4.07
Ergebnis gültig / test valid:	ja / yes		ja / yes		ja / yes		ja / yes		ja / yes		lgR≥4	ja / yes
30min.	Vc: N _{vo} :	20+30+33 34+27+42 93.0	Vc: A:	84 80 82.0	Vc: B:	48 46 47.0	Vc: C:	56 47 51.5	10 ⁻⁶ : 10 ⁻⁷ : N: lgN: lgN ₀ :	63+53+52 60+60+45 5+7+6 6+7+4 1.67x10 ⁸ 8.22 6.22	Vc 10 ⁰ : Na: lgNa: lgR:	0 <140 <2.15 >4.07
Ergebnis gültig / test valid:	ja / yes		ja / yes		ja / yes		ja / yes		ja / yes		lgR≥4	ja / yes
60min.	Vc: N _{vo} :	20+30+33 34+27+42 93.0	Vc: A:	88 80 -84.0	Vc: B:	48 46 47.0	Vc: C:	40 52 56.0	10 ⁻⁶ : 10 ⁻⁷ : N: lgN: lgN ₀ :	63+53+52 60+60+45 5+7+6 6+7+4 1.67x10 ⁸ 8.22 6.22	Vc 10 ⁰ : Na: lgNa: lgR:	0 <140 <2.15 >4.07
Ergebnis gültig / test valid:	ja / yes		ja / yes		ja / yes		ja / yes		ja / yes		lgR≥4	ja / yes
pH-Werte / values:											6.33	

Verifikation und Legende / verification and legend

N	ist zwischen $1,5$ und $5,0 \times 10^7$ KBE/ml ($7,17 \leq \lg N \leq 7,70$) / <i>is between 1.5 and 5.0 x 10⁷ cfu/ml (7.17 ≤ lgN ≤ 7.70)</i>	Vc	= Lebendkeimzahl / <i>viable count</i>
N _{modified}	ist zwischen $1,5$ und $5,0 \times 10^8$ KBE/ml ($8,17 \leq \lg N \leq 8,70$) / <i>is between 1.5 and 5.0 x 10⁸ cfu/ml (8.17 ≤ lgN ≤ 8.70)</i>	N	= Anzahl der KBE/ml der Prüfsuspension / <i>number of cfu/ml of the test suspension</i>
N ₀	ist zwischen $1,5$ und $5,0 \times 10^6$ KBE/ml ($6,17 \leq \lg N_0 \leq 6,70$) / <i>is between 1.5 and 5.0 x 10⁶ cfu/ml (6.17 ≤ lgN₀ ≤ 6.70)</i>	N ₀	= Anzahl der KBE/ml in dem Prüfgemisch zu Beginn der Einwirkzeit, sie beträgt ein Zehntel (im modifizierten Verfahren ein Hundertstel) von N aufgrund der Verdünnung durch Zugabe von Produkt und Belastungssubstanz / <i>number of cfu/ml in the test mixture at the beginning of the contact time, it is one-tenth (in the modified method a hundredth) of N due to the dilution by adding product and interfering substance</i>
N _{v0}	ist zwischen 30 und 160 (3×10^1 und $1,6 \times 10^2$) / <i>is between 30 and 160 (3 x 10¹ and 1.6 x 10²)</i>	N _v	= Anzahl der Zellen je ml in der Validierungssuspension; Sie ist zehnmal so hoch wie die Zellzahl als Vc Wert aufgrund des Verdünnungsschrittes von 10^{-1} . / <i>number of cells per ml in the validation suspension; tenfold higher than the Vc value because of the dilution step of 10⁻¹</i>
N _v	ist zwischen 300 und 1600 / <i>is between 300 and 1600</i>	N _{v0} , N _{vB}	= Anzahl der Zellen je ml in den Prüfgemischen A, B und C zu Beginn der Einwirkzeit / <i>number of cfu/ml in the mixtures A, B and C at the beginning of the contact time</i> Im Falle der Kontrolle des Neutralisationsmediumskontrolle B im Verdünnungs-Neutralisationsverfahren / <i>In the case of neutralizer control B (dilution neutralisation method) ist es die Anzahl der Zellen je ml nach 100-facher Verdünnung. N_{v0} ist 1/10 des Mittelwertes der berücksichtigten Vc- Werte von N_v, sofern N_{vB} ein Tausendstel ist. / it is the number of cells per ml after 100-fold dilution. N_{v0} is one-tenth of the mean of the Vc values of N_v taken into account, in case of N_{vB} it is one thousandth.</i>
N _{v modified}	ist zwischen 3×10^3 und $1,6 \times 10^4$ / <i>is between 3 x 10³ and 1.6 x 10⁴</i>	R	= Reduktion der Lebendkeimzahl / <i>reduction of viability</i>
N _{vB (x1000)}	ist zwischen 3×10^4 und $1,6 \times 10^5$ / <i>is between 3 x 10⁴ and 1.6 x 10⁵</i>	Na	= Anzahl der überlebenden Zellen per ml in dem Prüfgemisch am Ende der Einwirkzeit und vor der Neutralisation oder Membranfiltration / <i>number of survivors per ml in the test mixture at the end of the contact time and before neutralisation or membrane filtration</i>
A,B,C	ist gleich oder größer als $0,5 \times N_{v0}$ / <i>is equal to or greater than 0.5 times N_{v0}</i>	A	= Anzahl der überlebenden Zellen in der Kontrolle der Prüfbedingungen am Ende der Einwirkzeit. Sie entspricht dem Mittelwert der berücksichtigten Vc- Werte des Gemisches. / <i>Number of survivors of the experimental conditions control at the end of the contact time. It corresponds of the mean of the Vc-values of the mixture taken into account.</i>
nd	ist nicht durchgeführt / <i>not done</i>	B	= Anzahl der überlebenden Zellen in der Kontrolle des Neutralisationsmediums oder des Filtrationsvorganges in der definierten Zeit von 5 Minuten (im Falle von Produkten mit einer Einwirkzeit von ≤ 10 min nur 10 Sekunden). Sie entspricht dem Mittelwert der berücksichtigten Vc- Werte des Gemisches. / <i>Number of survivors of the neutralizer control or the filtration control at the defined time 5 minutes (in the case of products with a contact time of ≤ 10 min only 10 seconds). It corresponds of the mean of the Vc-values of the mixture taken into account.</i>
n.a.	ist nicht auswertbar, <i>is not evaluable</i>	C	= Anzahl der überlebenden Zellen in der Verfahrensvalidierung in der definierten Zeit von 30 Minuten. Sie entspricht dem Mittelwert der berücksichtigten Vc- Werte des Gemisches. / <i>Number of survivors of the method validation at the defined time 30 minutes. It corresponds of the mean of the Vc-values of the mixture taken into account.</i>

Bei der Kontrolle der gewichteten Mittelwerte der Auszählungen sind die Quotienten nicht kleiner als 5 und nicht größer als 15. / *In the control of the weighted mean the quotients are not less than 5 and not greater than 15.*

**Validierung /
Validation:**

Alle Kontrollen und Validierungen lagen innerhalb der Grenzwerte /
all controls and validations were within the basic limits.

**Abweichungen /
Deviations:**

Beobachtete Abweichungen der geltenden Norm und Verfahren /
observed deviations from applicable standard and procedure:

Prüfung mit *Trichophyton interdigitale* ATCC 9533, Präparation des Testkeimes und Inkubation gemäß „Standardmethoden der DGHM“ (2001) / *test with Trichophyton interdigitale ATCC 9533, preparation of the test organism and incubation according to „standard methods of DGHM“ (2001).*

**Unwirksame
Konzentrationen /
Ineffective
concentrations:**

keine / *none*

**Schlussfolgerung /
Conclusion:**

Nach EN 13624 (modifiziert), weist die Charge 8071113 des Produktes Bacoban DL unter niedriger Belastung bei 20°C nach 5, 30 und 60 Minuten bei Verdünnung auf 97% (v/v) eine fungizide Wirkung ($\geq 4lg$ Reduktion) gegen den Testkeim *Trichophyton interdigitale* auf.

*According to EN 13624 (modified), the batch 8071113 of the product Bacoban DL shows a fungicidal activity ($\geq 4lg$ reduction) under clean conditions at 20°C in 5, 30 and 60 minutes when diluted at 97% (v/v) for the referenced test strain *Trichophyton interdigitale*.*

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 Germany GmbH.



Dr. med. univ. S. Werner
Head of Scientific-Technical Affairs
Microbiological Test Methods



K. Naujox
Division Manager