

Spett  
 ICM SRL  
 C.DA TORRE SNC - 89040  
 PORTIGLIOLA (RC) ITALY

**VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ  
 BATTERICIDA DI DISINFETTANTI CHIMICI E  
 PRODOTTI ANTISETTICI  
 TEST QUANTITATIVO PER LA VALUTAZIONE  
 BATTERICIDA E LIEVITICIDA SU SUPERFICI  
 UNI EN UNI EN 17387:2021 (FASE 2 STEP 2)**

**EVALUATION OF THE BACTERICIDAL  
 ACTIVITY OF CHEMICAL DISINFECTANTS  
 AND ANTISEPTIC PRODUCTS  
 QUANTITATIVE TEST FOR THE  
 EVALUATION OF BACTERICIDE AND  
 YEASTEWILL ON SURFACES  
 UNI EN UNI EN 17387:2021 (PHASE 2 STEP 2)**

0	16.01.2023	1° Emissione	Christian Cirilo	Giuseppe Chindemi	Giuseppe Chindemi
Rev.	Data	Causale	Relazione	Verifica	Approvazione

Pag. 1 a 10

Eurolab S.r.l.

- inserito negli elenchi del Ministero della Salute con Prot. n. 600.5/59.735/3102).
- Iscritto al n.6 del Registro Regionale dei Laboratori di Analisi per l'autocontrollo nelle Aziende Alimentari

- Approvato dalla Regione Calabria per l'istituzione di percorsi formativi degli alimentaristi ed operatori del settore alimentare (OSA)
- Laboratorio accreditato ACCREDIA n° 0843 solo per le prove soggette ad accreditamento

Sede Legale: Viale Mare Ionio, 4 – 89040  
 Marina di Caulonia (RC) – P.I. 02052720808  
 e-mail:eurolab\_srl@libero.it  
[www.eurolab-srl.it](http://www.eurolab-srl.it)  
 Tel./Fax 0964/82185  
 Mob. 3929622100

## INDICE

<b>1 INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION .....</b>	<b>3</b>
1.1 CAMPIONE ANALIZZATO / TESTED SAMPLE .....	3
1.2 TEST / ASSAY .....	3
1.3 DATE DELLO STUDIO / STUDY DATES .....	3
<b>2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN.....</b>	<b>4</b>
2.1 SCOPO DEL TEST / PURPOSE OF THE TEST .....	4
2.2 CEPPO UTILIZZATO E METODICA / USED STRAIN AND METHOD .....	5
2.3 CONDIZIONI DEL TEST / TESTING CONDITIONS .....	6
2.4 VALUTAZIONE DEI RISULTATI / EVALUATION OF RESULTS .....	7
<b>3 RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS .....</b>	<b>9</b>
3.1 RISULTATI / RESULTS .....	9
3.2 CONCLUSIONI / CONCLUSIONS .....	9
<b>4 ALLEGATI / ANNEXES .....</b>	<b>10</b>
<b>5 BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>10</b>

Il risultato dei test citati nel presente rapporto si riferisce esclusivamente al/ai prodotto/i testato/i e alle particolari condizioni sperimentali impiegate nel test. Il presente rapporto non può essere riprodotto parzialmente senza il consenso preliminare scritto degli sperimentatori.

Riferimenti a limiti e/o norme non sono oggetto di accreditamento ACCREDIA

Le prove effettuate sono state affidate presso altro laboratorio

The results of the test in this report refer only to the tested product/s and to the particular experimental conditions here employed. This report cannot be partially duplicated without the preliminary written approval of the experimenters.

References to limits and/or standards are not subject to ACCREDIA accreditation

The tests carried out were entrusted to another laboratory

Pag. 2 a 10

EuroLab S.r.l.

- inserito negli elenchi del Ministero della Salute con Prot. n. 600.5/59.735/3102).
- Iscritto al n.6 del Registro Regionale dei Laboratori di Analisi per l'autocontrollo nelle Aziende Alimentari

- Approvato dalla Regione Calabria per l'istituzione di percorsi formativi degli alimentaristi ed operatori del settore alimentare (OSA)
- Laboratorio accreditato ACCREDIA n° 0843 solo per le prove soggette ad accreditamento

Sede Legale: Viale Mare Ionio, 4 – 89040

Marina di Caulonia (RC) – P.I. Q2052720808

e-mail: eurolab\_srl@libero.it

[www.eurolab-srl.it](http://www.eurolab-srl.it)

Tel./Fax 0964/82185

Mob. 3929622100

# 1 INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION

## 1.1 CAMPIONE ANALIZZATO / TESTED SAMPLE

Campione/Sample	Codice interno/Internal Code	Descrizione/Description
EC STER - Concentrazione 0,45% = 4,5 g/l Lotto/Batch: S5/22 DEL 13/12/2022	ICM/01/23	polvere/powder

Produttore/Manufacturer: ICM Srl

Data di arrivo/Date of delivery: 03.01.2023

Data di scadenza/expiring date: N/A

Diluyente indicato /Recommended diluent: acqua rete idrica comunale/ municipal water mains

Condizioni di conservazione/Storage conditions: Il campione è stato conservato a temperatura ambiente/ the sample has been stored at room temperature

Concentrazione testata/Tested concentration: 100%

## 1.2 TEST / ASSAY

Valutazione dell'attività battericida di disinfettanti chimici e prodotti antisettici test quantitativo per la valutazione battericida e lieviticida su superfici UNI EN 17387:2021 <sup>1</sup> (fase 2 step 2) test eseguito su *Stafilococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*

Evaluation of the bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptic products quantitative test for the bactericidal and yeasticidal evaluation of UNI EN 17387:2021 surfaces (phase 2 step 2) test performed on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*

## 1.3 DATE DELLO STUDIO / STUDY DATES

Inizio / Start: 03/01/2023

Fine / End: 07/01/2023

## 2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN

### 2.1 SCOPO DEL TEST / PURPOSE OF THE TEST

Lo scopo del test esplorativo è valutare l'efficacia del prodotto nei confronti di *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* nelle condizioni di test indicate dal cliente, riassunte nella Tabella 2.1.1.

The aim of the explorative test is to evaluate the product efficacy against *Enterococcus hirae* following the experimental conditions requested by the customer, as explained in Table 2.1.1.

**Tabella / Table 2.1.1 – Condizioni del test / Test conditions**

Condizioni del test/ Test conditions	Attività battericida/Bactericidal activity
Ceppo testato / Tested strain	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Candida albicans</i>
Temperatura di test /Test temperature	Temperature ambiente/ room temperature 18 - 25°C
Tempo di contatto / Contact time	1 minuto / minutes
Condizioni di pulito / Clean condition	0,3 g/l bovine serum albumin
Riduzione logaritmica per l'attività battericida/ Log reduction	≥ 5 Log
Riduzione logaritmica per l'attività fungicida/ Log reduction for bactericidal activity	≥ 4 Log
Diluizione del campione / Dilution of the sample	100%, (il campione al 125% viene preparato in acqua sterile per iniezione) / 100% (the 125% sample is prepared with sterile water for injection)
Diluizioni del ceppo / Dilution of the strain	Acqua sterile per iniezione / Sterile water for injection
Superficie di prova/ Test surface	Lama bisturi in acciaio inossidabile 304/ Scalpel blade in 304 stainless steel
Temperatura di incubazione del test/ Test incubation temperature	36 ± 1°C per 48 h per i ceppi microbici/ for microbial strains 30 ± 1°C per 48 h per i ceppi fungini/ for fungal strains

## 2.2 CEPPO UTILIZZATO E METODICA / USED STRAIN AND METHOD

Il ceppo utilizzato è stato preparato in accordi con la norma UNI EN 12353:2021<sup>2</sup>, ma è poi stato diluito in acqua sterile per iniezione, come richiesto dal cliente, in modo tale da non far entrare il prodotto in contatto con residui di nutrienti o altre sostanze

The strain used is prepared in accordance with the UNI EN 12353:2021 standard [2], but it has been diluted with sterile water for injection, as requested by the customer, to be sure that the product tested does not come into contact with nutrients or other substances.

Tabella / Table 2.2.1 – Ceppo utilizzato e inoculo / Used strain and inoculum

CEPPO/STRAIN	Condizioni di crescita/Growth conditions	Inoculo richiesto/required inoculum (CFU/ml)	Inoculo testato/Tested inoculum (CFU/ml)
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Prima coltura Tryptic soy agar (1-2 giorni – 36°C)	1,5 – 5,0 X 10 <sup>9</sup>	3.8 X 10 <sup>9</sup>
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442	seconda coltura altri (1-2 giorni – 36°C) / First tryptic soy agar culture (1-2 days – 36°C) second culture others (1-2 days – 36°C)	1,5 – 5,0 X 10 <sup>9</sup>	3.6 X 10 <sup>9</sup>
Candida albicans ATCC 10231	Prima coltura Malt extract agar (2 giorni – 30°C) seconda coltura altri (2 giorni – 30°C) / First culture Malt extract agar (2 days – 30°C) second culture others (2 days – 30°C)	1,5 – 5,0 X 10 <sup>8</sup>	4.4 X 10 <sup>8</sup>

**Tabella / Table 2.2.2 – Soluzione Neutralizzante / Neutralizer composition**

Tween 80

Lecitina di soia

L-histidin

Sodium thiosulphate

Sodium Chloride

Potassium dihydrogen phosphate

Sodium phosphate dibasic

Peptone

Water

**2.3 CONDIZIONI DEL TEST / TESTING CONDITIONS**

Il campione viene preparato secondo indicazioni del cliente, seguendo la procedura che ci è stata fornita:

- Versare l'intero flacone di polvere in un contenitore pulito e solubilizzarla in 562,5 ml di acqua rete idrica per ottenere una soluzione al 125%;
- Mescolare bene la soluzione e attendere fino alla completa dissoluzione della polvere;
- Attendere 30 minuti prima dell'esecuzione della prova;

The sample is prepared according to the customer instructions, following the procedure that is provided to the laboratory:

- Pour the entire bottle of powder into a clean container and solubilize it in 562.5 ml of tap water to obtain a 125% solution;
- Mix the solution well and wait until the powder is completely dissolved;
- Wait 30 minutes before performing the test.

Trascorsi i 30 minuti e misurato il pH (9,41 a 20°C), il test è condotto sulla concentrazione 100% del prodotto e in parallelo su un controllo con acqua sterile per iniezione.

La sospensione batterica miscelata con BSA 0,3 g/l viene lasciata a contatto con la superficie e con l'acqua sterile per il tempo indicato dal cliente (1 minuto).

Trascorso il tempo di contatto, aggiungere 1 ml di interferente in una provetta, aggiungere 1 ml della sospensione di prova

Collocare la superficie di prova inoculata con 0.05 ml in una scatola petri asciugare la superficie a 37°C

Pipettare 0.1 ml di ognuna delle soluzioni precedentemente preparate e posizionare alle temperature scelte per il test

**Pag. 6 a 10**

Eurolab S.r.l.

- inserito negli elenchi del Ministero della Salute con Prot. n. 600.5/59.735/3102).
- Iscritto al n.6 del Registro Regionale dei Laboratori di Analisi per l'autocontrollo nelle Aziende Alimentari

- Approvato dalla Regione Calabria per l'istituzione di percorsi formativi degli alimentaristi ed operatori del settore alimentare (OSA)
- Laboratorio accreditato ACCREDIA n° 0843 solo per le prove soggette ad accreditamento

Sede Legale: Viale Mare Ionio, 4 – 89040

Marina di Caulonia (RC) – P.I. 02052720808

e-mail: eurolab\_srl@libero.it

[www.eurolab-srl.it](http://www.eurolab-srl.it)

Tel./Fax 0964/82185

Mob. 3929622100

Aggiungere ciascuna delle superfici testate ad una provetta con 10 ml di neutralizzante indicata in (Tabella 2.2.2) e 5 g di sfere in vetro

Agitare per 1 minuto ed attendere 5 minuti, tempo necessario per la neutralizzazione

A questo punto, vengono eseguite diluizioni scalari e ciascuna diluizione è piastrata in piastre Petri nelle quali viene aggiunto il terreno di crescita del ceppo batterico.

Le piastre vengono incubate per 1-2 giorni nelle condizioni ideali di crescita del ceppo.

After 30 minutes and the pH is measured (9.41 at 20°C), the test is conducted on 100% concentration of the product and in parallel on a control with sterile water for injection.

The bacterial suspension mixed with 0.3 g/l BSA is left in contact with the surface and with the sterile water for the time indicated by the customer (2 minutes).

After the contact time, add 1 ml of the interferent to a test tube, add 1 ml of the test suspension

Place the test surface inoculated with 0.05 ml in a petri dish and dry the surface at 37°C

Pipette 0.1 ml of each of the above prepared solutions and place at the temperatures chosen for the test

Add each of the tested surfaces to a test tube with 10 ml of neutralizer indicated in (Table 2.2.2) and 5 g of glass beads

Shake for 1 minute and wait 5 minutes, time required for neutralization

At this point, gradual dilutions are performed and each dilution is plated in Petri dishes in which the growth medium of the bacterial strain is added.

The plates are incubated for 1-2 days in the ideal growth conditions of the strain.

## 2.4 VALUTAZIONE DEI RISULTATI / EVALUATION OF RESULTS

L'efficacia antimicrobica e fungicida del trattamento viene valutata in base all'abbattimento logaritmico  $R =$  valore dell'attività antimicrobica. / The antimicrobial and fungicidal efficacy is evaluated according to the logarithmic reduction  $R =$  value of antimicrobial activity.

Per calcolare l'abbattimento logaritmico viene utilizzata la seguente formula / The logarithmic reduction is calculated as follows:

$$\text{Log } R = \log N_0 - \log N_a$$

Dove/where

R: abbattimento logaritmico / logarithmic reduction

No: numero di microorganismi inoculati espresso in CFU/ml (vedere Tabella 2.2.1) che deve essere compreso tra  $1,5 - 5,0 \times 10^9$  CFU/ml / number of inoculated microorganisms CFU/ml (ref. Table 2.2.1) that must be within the range  $1,5 - 5,0 \times 10^9$  CFU/ml

Numero di lieviti inoculati espresso in CFU/ml (vedere Tabella 2.2.1) che deve essere compreso tra  $1,5 - 5,0 \times 10^8$  / Number of inoculated yeasts CFU/ml (ref. Table 2.2.1) that must be within the range  $1,5 - 5,0 \times 10^8$  CFU/ml

Na: numero di microorganismi e/o lieviti (CFU/ml) sopravvissuti alla fine del tempo di contatto prima della neutralizzazione / number of microorganisms and/or yeasts (CFU/ml) at the end of the contact time before the neutralization.

Il campione viene considerato battericida quando mostra un abbattimento della carica microbica di almeno 5 log rispetto all'inoculo a 36°C

Il campione viene considerato lieviticida quando mostra un abbattimento della carica di almeno 4 log rispetto all'inoculo a 30°C

in presenza di sostanze interferenti dopo il tempo di contatto definito.

The sample is considered bactericidal when it shows a reduction of the microbial load of at least 5 log compared to the inoculum at 36°C

The sample is considered yeasticide when it shows a charge reduction of at least 4 logs compared to the inoculum at 30°C

### 3 RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS

#### 3.1 RISULTATI / RESULTS

Concentrazione prodotto 100%/ Product concentration 100%

Ceppo/strain	No (CFU/ml)	Na (CFU/ml)	Riduzione della conta microbica/Microbial count reduction (Log R = log No - log Na)	Valutazione/Evaluation
<b>Staphylococcus aureus</b>	3.8 x10 <sup>9</sup>	<1.4 x 10 <sup>9</sup>	7.68 – 2.5 = 5.18	efficace / effective
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	3.2 x10 <sup>9</sup>	1.4 x 10 <sup>9</sup>	7.20 - 1.8 = 5.40	efficace / effective
<b>Candida albicans</b>	4.1 x10 <sup>8</sup>	1.6 x 10 <sup>8</sup>	7.00 – 2.8 = 4.20	efficace / effective

#### 3.2 CONCLUSIONI / CONCLUSIONS

Sulla base dei risultati sopra riportati il prodotto: / on the base of the results above reported, the product:

EC STER - Concentrazione 0,45% = 4,5 g/l

Lotto/Batch: S5/22

Ha dimostrato una riduzione di 5 log della popolazione microbica sul ceppo testato Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa con un tempo di contatto di 1 minuti alla concentrazione dell'100% (v/v) in condizioni di pulito (BSA 0,3g/l) / Does not show a 5 logs microbial reduction on the tested strain Enterococcus hirae with a contact time of 1 minutes at a concentration of 100% (v/v) in clean condition (BSA 0.3 g/l).

Ha dimostrato una riduzione di 4 log della popolazione dei lieviti sul ceppo testato Candida albicans con un tempo di contatto di 1 minuto alla concentrazione dell'100% (v/v) in condizioni di pulito (BSA 0,3g/l) / Demonstrated a 4 log reduction in yeast population on Candida albicans tested strain with a contact time of 2 minutes at 100% concentration (v/v) under clean conditions (BSA 0.3g/l)

Data 22/12/2022



Il Direttore del Laboratorio  
Giuseppe Chindemi

Pag. 9 a 10

EuroLab S.r.l.

- inserito negli elenchi del Ministero della Salute con Prot. n. 600.5/59.735/3102).
- Iscritto al n.6 del Registro Regionale dei Laboratori di Analisi per l'autocontrollo nelle Aziende Alimentari

- Approvato dalla Regione Calabria per l'istituzione di percorsi formativi degli alimentaristi ed operatori del settore alimentare (OSA)
- Laboratorio accreditato ACCREDIA n° 0843 solo per le prove soggette ad accreditamento

Sede Legale: Viale Mare Ionio, 4 – 89040

Marina di Caulonia (RC) – P.I. 02052720808

e-mail: eurolab\_srl@libero.it

[www.eurolab-srl.it](http://www.eurolab-srl.it)

Tel./Fax 0964/82185

Mob. 3929622100

## 4 ALLEGATI / ANNEXES

### ALLEGATO 1: RISULTATI/RAW DATA

Dati grezzi campione concentrazione 100%/ Raw data of the 100% sample:

	Replicate 1 UFC/ml	Replicate 2 UFC/ml	Average UFC/ml
<b>Staphylococcus aureus</b>	1.2 x 10 <sup>9</sup>	1.4 x 10 <sup>9</sup>	1.3 x 10 <sup>9</sup>
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	1.6 x 10 <sup>9</sup>	1.5 x 10 <sup>9</sup>	1.4 x 10 <sup>9</sup>
<b>Candida albicans</b>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.4 x 10 <sup>8</sup>	1.6 x 10 <sup>8</sup>

Dati grezzi controllo con acqua sterile per iniezione /Raw data of the sterile water for injection control:

	Replicate 1 UFC/ml	Replicate 2 UFC/ml	Average UFC/ml
<b>Staphylococcus aureus</b>	4.0 x 10 <sup>9</sup>	3.6 x 10 <sup>9</sup>	3.8 x 10 <sup>9</sup>
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	3.4 x 10 <sup>9</sup>	3.0 x 10 <sup>9</sup>	3.2 x 10 <sup>9</sup>
<b>Candida albicans</b>	3.9 x 10 <sup>8</sup>	4.2 x 10 <sup>8</sup>	4.1 x 10 <sup>8</sup>

## 5 BIBLIOGRAFIA

<sup>1</sup> UNI EN 17387:2021 Disinfettanti chimici ed antisettici - Prova quantitativa in sospensione per la valutazione dell'attività battericida, levuricida e/o fungicida di disinfettanti chimici in area medica, su superfici non porose senza azione meccanica - Metodo di prova e requisiti (fase 2, stadio 2)

<sup>2</sup> UNI EN 12353:2021 Disinfettanti chimici e antisettici - Conservazione degli organismi per i test al fine della determinazione dell'attività: battericida (Legionella inclusa), micobattericida, sporicida, fungicida e virucida (inclusi i batteriofagi).