



Miljø- og  
Fødevareministeriet  
Miljøstyrelsen

# Udvikling af teststandard for desinfektionsklude

Miljøprojekt nr. 1897

November 2016

Udgiver: Miljøstyrelsen

Redaktion:

Christian Stab Jensen, Brian Kristensen og  
Jeanette Berg, Central Enhed for Infektionshygi-  
ejne, Statens Serum Institut

Jesper Heeno Andersen, Wet Wipe A/S

ISBN: 978-87-93529-37-3

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse.

# Indhold

<b>Forord</b> .....	<b>4</b>
<b>Sammenfatning og konklusion</b> .....	<b>5</b>
<b>Summary and conclusion</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Indledning</b> .....	<b>7</b>
1.1 Baggrund .....	8
1.2 Problemstilling.....	10
1.3 Projektets partnere .....	11
1.4 Formål .....	12
1.5 Forudsætning for den udviklede standardiserede testprotokol.....	13
1.5.1 Parametre som er blevet adresseret under udviklingen af den standardiserede testprotokol.....	13
<b>2. Resultater og beslutninger</b> .....	<b>15</b>
2.1 Testorganismer og kontaminering af testoverfladen .....	15
2.2 Kvantificeringsmetoden af testorganismer hhv. før og efter aftørring med klude .....	16
2.3 Testoverflade.....	18
2.4 Aftørringsmetodikken.....	19
2.5 Aftørringsmetodikken og kludenes evne til at flytte bakterier fra kontamineret område til ikke-kontamineret område.....	19
2.6 Typer af biocider og neutralisering .....	20
2.7 Testklude og imprægnering af kludene.....	22
2.8 Kontakttid (den indvirkningstid, hvor biocider vil være i kontakt med testorganismene og have en desinfektionseffekt) .....	23
2.9 Testresultater fra den nyudviklede testmetode sammenholdt med resultater fra suspensions- og passiv overfladetests.....	23
2.9.1 Baggrund for de præsenterede testresultater .....	23
2.9.2 Kriterier for dipsildemetodikkens reproducerbarhed og variation .....	24
2.9.3 Resultater fra dipslidemetoden i relation til resultater fra suspensionstests og passiv overfladetests .....	25
2.10 Diskussion .....	27
<b>3. Hvad er de forventede miljømæssige effekter, den teknologiske nyhedsværdi og det forretningsmæssige potentiale</b> .....	<b>33</b>
3.1 Perspektivering af den forventede teknologiske effekt .....	33
3.2 Perspektivering af det forretningsmæssige potentiale .....	34
3.3 Perspektivering af de forventede miljømæssige effekter .....	34
<b>4. Konklusion og perspektivering af projektets resultater</b> .....	<b>35</b>
4.1 Næste trin.....	36
<b>5. Referencer</b> .....	<b>37</b>
<b>Bilag 1: Metode til test af desinfektionskludes effekt ved aftørring af laminat</b> .....	<b>39</b>
<b>Bilag 2. Faktorer som teoretisk har betydning for desinfektionseffekten af en præimprægneret desinfektionsklud og som producenter bør adressere ved udviklingen af desinfektionsklude</b> .....	<b>46</b>

# Forord

I denne rapport redegøres for resultaterne af udviklingsprojektet: ”Udvikling af teststandard for desinfektionsklude”.

Projektet er gennemført i perioden januar 2013- marts 2016. Projektet er finansieret af Miljøstyrelsens Program for Grøn Teknologi (MUDP), Statens Serum Institut og Wet Wipe A/S.

Projektet er udarbejdet på Central Enhed for Infektionshygiejne, Statens Serum Institut (SSI), af M.Sc. Ph.D. Jeanette Berg under projektejer Overlæge Brian Kristensen, Projektleder cand. scient. Ph.D. Christian Stab Jensen, med samarbejde og ekspertrådgivning fra Udviklingschef cand. scient. Jesper Heeno Andersen, Wet Wipe A/S. Laborant Liselotte Scharff Bugge-Hansen har assisteret i laboratoriet.

Projektets fremdrift er fulgt af en følgegruppe bestående af:

Ph.D. Stephen Wessels (emeritus)

Overlæge Kurt Fuursted (SSI)

Prof. Susanne Knøchel (Københavns Universitet)

Hygiejneoverlæge Torsten Slotsbjerg (Hvidovre Hospital)

Scientific Consultant and Project Manager Michael Fink (DHI)

Kemiingeniør Ph.D. Birte Fønnesbech Vogel (Miljøstyrelsen)

# Sammenfatning og konklusion

Rapporten for projektet Udvikling af teststandard for desinfektionsklude har som formål at udvikle en teststandard, der simulerer virkelighedens brug af desinfektionsklude, for den biocid effekt (desinfektionseffekten) af desinfektionsklude på kontaminerede overflader. Dette vil også omfatte desinfektionsservietter, men af praktiske grunde anvendes kun betegnelsen ”klude” i rapporten.

Der er en stor efterspørgsel på ready-to-use (færdigpakkede) desinfektionsprodukter i form af færdigpakkede præimpregnerede desinfektionsklude i bl.a. hospitals-, pleje, og institutionssektoren, da det er nemt, hurtigt og sikkert at anvende. Desuden muliggør brugen af desinfektionsklude en reduktion af det samlede forbrug af biocider, da man mindsker spild og overforbrug.

Ved projektets start mangler nationale og internationale accepterede metoder og standarder til at vurdere desinfektionseffekten af desinfektionsklude. Helt overordnet er problemet, at vurderingen af desinfektionskludens desinfektionseffekt udelukkende baserer sig på vurderingen af den desinfektionsvæske, der er tilsat kluden og ikke det samlede klud-desinfektionsvæske-kompleks. De eksisterende europæiske standarder for test af desinfektionsmidler omfatter suspensionstests (EN 1276/13727) og en passiv overfladetest med henstand (EN 13697), som begge tager udgangspunkt i en kontakttid mellem testorganismer og desinfektionsmidlet på 5 minutter. Ingen af de nævnte standarder dækker den faktiske brugssituation, hvor aftørring med en desinfektionsklud foregår på mindre end et minut, eller forholder sig til kludens fysiske egenskaber til mekanisk at fjerne mikroorganismer. Ligeledes indebærer udførelsen af desinfektion med en desinfektionsklud en risiko for at flytte mikroorganismer fra et urent til et rent område.

Disse forhold betyder, at aftagere af desinfektionsklude mangler et objektivi grundlag for at vælge mellem de markedsførte produkter, og myndighederne mangler en valid test til at vurdere produkterne i henhold til de krav, der stilles i EU-lovgivningen på området (Biocidforordningen). Virksomhederne, der producerer desinfektionsklude, mangler ligeledes en standardiseret metode til at vurdere desinfektionseffekten af desinfektionsklude, som både kan kvalitetsstemple deres produkter til markedsføring og anvendes til at optimere kludenes produktdesign, herunder kludenes materialesammensætning og egenskaber, som vil kunne føre til et mere hensigtsmæssigt, rationelt og målrettet valg af biocid(er) og brugskoncentration, som skal tilsættes desinfektionsklude for at opnå den ønskede desinfektionseffekt.

Manglen på internationale standarder for test og vurdering af desinfektionsklude, der inkluderer den mekaniske effekt af klud-desinfektionsvæske-komplekset, efterlader dette område som mørklagt for flere interessenter herunder myndighederne, der skal vurdere desinfektionskludene, kunderne (hospitaller etc.) samt de virksomheder, der udvikler og producerer desinfektionsklude. En yderligere forhindring ved de nuværende europæiske standarder (EN test) for test af flydende desinfektionsmidler, er, at protokollerne er meget tidskrævende.

Konklusionen på projektet er, at det er lykkedes projektgruppen at udvikle en testprotokol for vurdering af desinfektionseffekten af desinfektionsklude. Den udviklede testprotokol tager udgangspunkt i en brugssituation, som afspejler de faktiske forhold under brug.

De fundne resultater viser også vigtigheden af, at der inddrages flere forskellige metodikker, når der skal foretages en samlet vurdering af desinfektionsmidlers desinfektionseffekt. Dette har især betydning, når desinfektionsmidlets effekt kombineres med applikationsmetoden - i dette tilfælde

en klud. Dette forhold er også erkendt af europæiske myndigheder, som i løbet af projektførelsen har udviklet og publiceret en 4-field test (EN 16615), som til dels minder om projektets udviklede testprotokol i og med at denne også bedre afspejler brugssituationen. Testresultater fra EN 16615 skal nu inddrages ved vurdering af desinfektionsklude.

Den udviklede metodik giver producenter mulighed for på en hurtig og valid måde at få et overblik over effektiviteten af en desinfektionsklud, samtidig med at myndigheder vil kunne anvende resultater fra test ved brug af protokollen i deres vurdering af desinfektionsklude.

Den beskrevne arbejdsproces for udførelsen af testprotokollen er baseret på de eksisterende EN standarder. Udarbejdelsen af testprotokollen og anvendelse af diapositiver viser, at det er muligt at optimere den anvendte arbejdstid, som det tager at udføre testen. Dette muliggør, at man kan udføre flere sideløbende tests, hvilket vil kunne effektivisere produktudviklingsarbejdet. Dette muliggør en mere effektiv ressource-udnyttelse især i afklaringen af, hvorvidt desinfektionseffekten af en given kombination af en biocidholdig væske og klud er hensigtsmæssigt.

Projektet har undersøgt flere parametre, som har betydning for desinfektionseffekten ved aftørring med en desinfektionsklud og derved opnået større viden om væsentlige faktorer vedrørende brugssituationen, som kan understøtte en mere rationel miljømæssig anvendelse af biocider, og som kan anvendes i en fremtidig beskrivelse og revision af standardiserede metoder til test af desinfektionsklude.

# Summary and conclusion

The efficacy of disinfection wipes must be demonstrated in internationally accepted standards for testing and evaluation, and these standards must include the mechanical action of the wipe. When this project started, there were no such standards, and this made efficacy a "black box" for several of the stakeholders of disinfection wipes, such as customers (e.g., hospitals), the authorities assessing the wipes as biocidal products, and companies developing and manufacturing the wipes. These stakeholders could only make use of EN standards (EN 1276/13727 and EN 13697) which do not simulate the use of wipes in the field, including the wiping action itself. A reliable test protocol was needed.

Therefore, the purpose of this project was to develop such a protocol that would be valid, reliable, and as cost-efficient as possible. Several factors were addressed to ensure the validation and reproducibility of the project's test protocol. The factors addressed were different test organisms, contamination of the test surface, methods of quantification (dipslide vs. swab methodology), how to conduct the wiping action, displacement of bacteria from the contaminated to uncontaminated areas, types of disinfectants and their neutralization, types of wipes, degree of wipe impregnation, and contact time.

The work resulted in a phase 2, step 2 test protocol that used dipslide methodology to assess the bactericidal activity of disinfection wipes. The protocol was tested on four different bacteria, using three different disinfectant active substances (PHMB, ethanol and hypochlorous acid) and two different types of wipes. The dipslide methodology quantifies bacteria in numeric categories of CFU/cm<sup>2</sup>. A swab methodology quantifies bacteria as log<sub>10</sub> reductions. The protocol developed in the project gave similar results for the two techniques. However, the use of dipslides was much more cost-efficient, as it was faster to conduct, and several tests could be performed simultaneously.

The test criterion was set at  $\leq 2.5$  CFU/cm<sup>2</sup> in both the contaminated area and an adjacent non-contaminated area. In addition, the tested disinfectant wipe should perform better than a control wipe impregnated with water and detergent. The developed test protocol with dipslide methodology was demonstrated to be valid and cost-efficient.

During the project, in April 2015, CEN/TC216 published the standard EN 16615. This protocol evaluates bactericidal and yeasticidal efficacy of wipes in the medical area when used on non-porous surfaces with mechanical action, which in principle is similar to the test protocol developed in this project. However, EN 16615 uses a swab methodology for quantification, which is much less cost-efficient than the protocol developed in this project. Therefore, companies developing and pre-testing new disinfection wipes could benefit from using this project's test protocol and its dipslide methodology.

# 1. Indledning

## 1.1 Baggrund

Desinfektionsmidler hører til gruppen af biocidprodukter, der anvendes til at mindske risikoen for spredning af infektioner i bl.a. hospitals-, pleje- og institutionssektoren<sup>1</sup>. Her er der en stor efterspørgsel på "ready-to-use" (klar-til-brug) desinfektionsprodukter i form af færdigpakkede præimpregnerede desinfektionsklude til desinfektion af overflader, da det er nemmere, hurtigere og mere sikkert for personalet at anvende desinfektionsklude end flydende desinfektionsprodukter og/eller produkter som skal opløses/fortyndes i vand.

Anvendelse af desinfektionsklude muliggør desuden, at man kan reducere det samlede forbrug af desinfektionsmidler, idet man mindsker spild og overforbrug<sup>2</sup>.

Miljøstyrelsen er den nationale myndighed i Danmark, som skal vurdere og godkende desinfektionsprodukter, der falder ind under den gældende lovgivning på området, Biocidforordningen<sup>3</sup>, når alle aktivstoffer (biocider til desinfektion) i de enkelte produkter er blevet vurderet og godkendt på EU-niveau.

Vurderingen af et produkts desinfektionseffekt tager primært udgangspunkt i harmoniserede EU-standarder for test af desinfektionsprodukter (EN-tests), som er udarbejdet af den europæiske standardiseringsorganisation CEN (Le Comité Européen de Normalisation). Producenter af desinfektionsprodukter skal derfor teste deres produkter efter disse EN-tests for at kunne dokumentere, at produktet har en ønsket desinfektionseffekt<sup>4</sup>. ECHA (det europæiske kemikalieagentur) og nationale ansvarlige myndigheder anbefaler, at desinfektionsprodukter bliver testet efter gældende EN-tests og ønsker at anvende denne dokumentation til at vurdere, om et givent produkt har tilstrækkelig desinfektionseffekt ved en given desinfektionsopgave. Desuden er det meningen, at tests ved hjælp af EN-tests skal give producenten af et givent desinfektionsprodukt, som ønskes anvendt inden for sundhedssektoren, en dokumentation for at produkt har desinfektionseffekt over for sygdomsfremkaldende mikroorganismer i tilstrækkelig grad til, at man hindre eller minimere smittespredning.

Ved projektets start fandtes to typer eksisterende europæiske standarder for test af desinfektionsmidler til overfladedesinfektion over for vegetative bakterier. Disse omfattede hhv. suspensionstests (EN 1276/EN 13727)<sup>5,6</sup> og passiv overfladetests med henstandsdesinfektion uden mekanisk påvirkning, såkaldt "carrier"-test (EN 13697)<sup>7</sup> som tager udgangspunkt i anvendelsen af en obligatorisk indvirkningstid (kontakttid mellem bakterier og desinfektionsvæske) på 5 minutter. Standarderne muliggør udførelse af tests ved kortere eller længere kontakttid.

Princippet bag suspensionstestene er, at en testsuspension af bakterier i et kendt antal ( $1,5 \times 10^8$ - $5 \times 10^8$ /ml) blandes med desinfektionsvæsken, som ønskes testet, i et bestemt tidsrum, som udgør kontakttiden. Efter endt kontakttid tilsættes et tidligere valideret neutraliseringsreagens, således at virkningen af desinfektionsmidlet stoppes øjeblikkeligt. Antallet af overlevende bakterier bestemmes kvantitativt ved efterfølgende udsåning af blandingen på agarplader, som efterfølgende inkuberes i hhv. 24 og 48 timer i varmeskab. Herefter bestemmes antallet af CFU ("Cell Forming Units"; kolonidannende enheder)/ml ved tælling af kolonidannende enheder på agarpladen. For at bestå suspensionstesten skal tilsætning af desinfektionsmidlet medføre en reduktionen i antallet af bakterier i forhold til det oprindelige antal med mindst en faktor 100.000 (udtrykkes ved at reduktionen er  $\geq 5 \log_{10}$ ).



Princippet bag den passive overfladetest er, at en testsuspension af bakterier i et kendt antal ( $1,5 \times 10^8$ - $5 \times 10^8$ /ml) tilføres overfladen på en rustfri stålskive, som efterfølgende udtørres. Desinfektionsvæsken, som ønskes testet, tilsættes overfladen, så de udtørrede bakterier dækkes. Desinfektionsmidlet efterlades på overfladen i en defineret kontakttid (obligatorisk 5 minutter) inden desinfektionsmidlet neutraliseres, så desinfektionseffekten stoppes. Efter neutralisation af desinfektionsmidlet frigøres eventuelt overlevende bakterier på stålskivens overflade til neutraliseringsreagensen ved hjælp af tilsatte glaskugler under rotation. Antallet af overlevende bakterier bestemmes kvantitativt ved udsåning på agarplader, som efterfølgende inkuberes i hhv. 24 og 48 timer i varmeskab. Herefter bestemmes antallet af CFU/ml eller CFU/cm<sup>2</sup> ved tælling af kolonidannende enheder på agarpladen. For at bestå den passive overfladetest skal tilsætning af desinfektionsmidlet medføre en reduktionen i antallet af bakterier i forhold til det oprindelige antal med mindst en faktor 10.000 (udtrykkes ved at reduktionen er  $\geq 4 \log_{10}$ ).

Når man tidligere har anvendt disse testmetodikker til test af desinfektionsklude, har man kun kunnet dokumentere effekten af det tilsatte desinfektionsvæske og/eller udvrid af desinfektionsvæsken fra desinfektionsklude. Dette udgør et problem, idet det ikke er muligt at dokumentere sammenspillet mellem desinfektionsvæsken og kluden, samt betydning af den mekaniske påvirkning af overfladen under aftørring. Der er desuden flere andre faktorer som teoretisk kan have betydning for en desinfektionskluds desinfektionseffekt<sup>2</sup>.

Kludens fibersammensætning og struktur, samt tykkelsen har betydning for hvilken desinfektionsvæske og hvor stor en imprægneringsgrad kluden kan imprægneres med. Imprægneringsgraden af kluden har betydning for den afgivne væskemængde, hvilket igen er afgørende for desinfektionseffekten.

Desinfektionsvæskens overfladespænding dvs. indholdet af overflade aktive stoffer i desinfektionsmidlet vil muligvis også have betydning for den afgivne væskemængde under aftørring.

En kluds fysiske egenskaber (fibersammensætning og struktur) har betydning for den mekaniske friktion der opstår ved aftørring, og for kludens evne til at binde og fjerne mikroorganismer<sup>3</sup>. Trykbelastning, aftørringsbevægelse og antal af aftørringer har betydning for den mekaniske fjernelse af mikroorganismer og for afgivelse af desinfektionsvæske til overfladen, og udførelsen af desinfektion med klud ved aftørring indebærer en risiko for at flytte mikroorganismer fra et urent område til et rent område<sup>4</sup>.

Overfladens materiale, struktur og coating har betydning for, hvordan den mekanisk påvirkes ved aftørring.

Endvidere vil en desinfektionsklud have et maksimalt areal, som kan desinficeres ved aftørring, og fordeling og udtørring har betydning for hvorvidt der opnås den ønskede desinfektionseffekt ved aftørring med en desinfektionsklud. Disse forhold tages der ikke højde for i de tidligere omtalte EN-tests<sup>5-7</sup>.

Det er derfor højest sandsynligt at desinfektionseffekten vurderet ved en passiv overfladetest vil blive underestimeret for nogen typer af desinfektionsmidler, idet der ikke tages højde for kludens andel i fjernelse af bakterier fra en overflade, når man bruger af en desinfektionsklud. Sandsynligvis medfører dette, at den koncentration af biocider man tilsætter desinfektionsvæsken, som man tilsætter en desinfektionsklud, kan blive overdoseret, hvis koncentrationen og kontakttiden følger de fundne resultater ved en passiv overfladetest, hvilket kan føre til et uhensigtsmæssigt overforbrug af biocider. De eksisterende standarder er derfor ikke hensigtsmæssige og er ikke umiddelbar anvendelige til at vurdere effekten af desinfektionsklude.

EN-testene<sup>5-7</sup> er alle baseret på en dyrkningsbaseret metode (udsåning på substratplader), som er arbejdstidskrævende, vanskeliggør automatiserede procedurer og udgør en omkostningstung fase i dokumentationen af desinfektionsmidlers desinfektionseffekt. Der er desuden kendte problemstillinger i førnævnte standarder mht. pålideligt at kunne dokumentere forekomsten af mikroorganismer<sup>2,8</sup>. Derfor er der fra producentens perspektiv en interesse i at etablere tests, der med samme kvalitet kan levere brugbare resultater på en mere ressource-effektiv måde.

Ud over de ovenfor beskrevne faktorer, som kun i begrænset omfang adresseres i de omtalte EN-tests<sup>5-7</sup>, er der flere andre faktorer, som teoretisk har betydning for desinfektionseffekten af desinfektionsklude. I Bilag 2 er kort skitseret en oversigt over disse faktorer. Alle de i Bilag 2 omtalte faktorer bør en producent af et kludeprodukt til desinfektion adressere for at sikre, at produktet opnår en optimal desinfektionseffekt.

Både producenter, brugere og ansvarlige myndigheder har en interesse i, at forbruget af biocider minimeres i forhold til den ønskede desinfektionseffekt af desinfektionsprodukterne der anvendes i sundhedssektoren, sådan at arbejdsmiljøriskoen ved anvendelse af desinfektionsmidler, samt en eventuel miljøbelastning minimeres mest muligt. Dette kan fx opnås ved at kombinere desinfektionsmidler med klude, hvor kludenes mekaniske påvirkning og fjernelse af bakterier betyder, at koncentration af biocider kan sænkes betydeligt i desinfektionsvæsken, der anvendes i kombination med kluden.

## 1.2 Problemstilling

Problemstillingen ved projektets start er, at vurderingen af desinfektionskludes desinfektionseffekt udelukkende baserer sig på vurderingen af den desinfektionsvæske, der er tilsat kluden- og ikke det samlede klud-desinfektionsvæske-kompleks. Der mangler nationale og internationale accepterede metoder og standarder til at vurdere desinfektionseffekten af desinfektionsklude.

Virksomheder, der producerer desinfektionsklude, mangler en standardiseret og ressource-effektiv metode til at vurdere desinfektionseffekten af desinfektionsklude. Såfremt en standardiseret metode eksisterer, vil man kunne optimere produktdesign, herunder kludens fibersammensætning og struktur, som derved ultimativt kunne føre til et mere hensigtsmæssigt, rationelt og målrettet valg af biocider og koncentrationer (herunder valg af de miljø- og arbejdsmiljømæssige mindst belastende biocider og koncentrationer), som skal tilsættes desinfektionsklude for at opnå den ønskede desinfektionseffekt.

Desuden mangler producenterne en valid metode, til myndighedsgodkendelse af deres produkter til deres markedsføring af desinfektionsklude såvel nationalt som internationalt. Aftagerne i hospitals-, pleje- og institutionssektoren mangler et objektivt grundlag for at vælge mellem de markedsførte produkter. Endeligt mangler de statslige myndigheder (p.t. Central Enhed for Infektionshygiejne (CEI), Statens Serum Institut (SSI) og i den kommende fremtid, Miljøstyrelsen, det Europæiske kemikalieagentur ECHA og andre EU-landes nationale myndigheder på området), en valid test til vurdering og godkendelse af desinfektionsklude, i henhold til de krav der stilles Biocidforordningen<sup>3</sup>.

I løbet af projektperioden har standardiseringsorganet CEN udarbejdet og publiceret en "4-field"-test (EN 16615) i 2015<sup>9</sup>, som primært kan anvendes til test af desinfektionsvæsker, som tilsættes standardiserede klude, dog med mulighed for tillige at teste færdigpakkede præimprægnerede desinfektionsklude. Testmetodikken bygger på samme principper som de omtalte EN-tests, hvor man efter en standardiseret aftørring med en desinfektionsklud, ønsker at eftervise en desinfektionseffekt ved en fastsat  $\geq 5 \log_{10}$  reduktion i antallet af bakterier på en prækontamineret overflade efter aftørring. Denne testmetodik er ligesom de andre EN-tests en dyrkningsbaseret metode (udsåning på substratplader), hvor man kvantificerer antallet af udtørrede bakterier på en standardiseret overflade ved hjælp af en swabmetodik.

Der er derfor i løbet af projektførelsen udviklet en EN-standard til test af desinfektionsklude, som til dels opfylder det anførte behov. Der er dog visse problematikker ved den nuværende EN 16615-test, som vil blive adresseret i diskussionsafsnittet (se afsnit 2.10).

### 1.3 Projektets partnere

Projektet er blevet gennemført i et samarbejde mellem Central Enhed for Infektionshygiejne (CEI) og firmaet Wet Wipe A/S. CEI stod for opsætning af metode og udførelse af tests og har det primære ansvar for at formulere et udkast til en ny testprotokol og -metode. Wet Wipe bidrog med klude, tensider og biocider til testning, egne udførte tests, samt ekspertise i forbindelse med design af testmetode og rådgivning om biocider og klude.

CEI har årelang erfaring med at udføre vurderinger af desinfektionsmidler til brug i sundhedssektoren, som producenter/leverandører på frivillig basis ønsker vurderet af CEI. Medarbejdere fra CEI er desuden nationale repræsentanter for Danmark i styregruppen CEN/TC 216 - Chemical disinfectants and antiseptics under the European Committee for Standardization (CEN), som har det overordnede ansvar for udvikling og revision af standardiserede test til belysning af desinfektionsmidlers desinfektionseffekt. CEI har derfor et indgående kendskab til vurdering af desinfektionsmidlers desinfektionseffekt. Endvidere har CEI i samarbejde med infektionshygiejnisk fagekspertise fra hele landet udarbejdet Råd og anvisninger om desinfektion i sundhedssektoren, som i løbet af projektperioden blev revideret og transformeret til Nationale Infektionshygiejniske Retningslinjer om desinfektion i sundhedssektoren<sup>1</sup>. CEI har desuden i samarbejde med infektionshygiejnisk fagekspertise fra hele landet udarbejdet et konsensusnotat: ”Principper for anvendelse af desinfektionsmidler i sundhedssektoren i Danmark, 2013”<sup>10</sup>, hvis formål er at redegøre for den sundhedsfaglige konsensus om de væsentligste principper for anvendelse af desinfektionsmidler i Danmark samt at være en hjælp ved indkøb og brug af desinfektionsmidler i den danske sundhedssektor. Medarbejdere fra CEI er sekretær og repræsentant for SSI i kontaktforum for desinfektion, med deltagelse af Miljøstyrelsen, Sundhedsstyrelsen, Regionernes kemikaliesamarbejde (REKS) Den Regionale kemirådgivning i Region Hovedstaden, DHI, Teknologisk Institut og Arbejdstilsynet.

Wet Wipe A/S er et dansk firma, som udvikler og sælger rengørings- og desinfektionsløsninger. Firmaets kerneprodukter er en serie engangsklude til rengøring og desinfektion af overflader. Siden 2007 har Wet Wipe arbejdet på at frembringe innovative kvalitetsløsninger. Firmaet har stor fokus på service – både over for kunder og samarbejdspartnere – og et meget vigtigt led i innovationsprocessen er dialogen med brugere af firmaets produkter, samt beslutningstagere og lovgivere. Et øget fokus på value-for-money inden for sundheds- og primærsektoren som følge af en stigende ældre befolkning, har inspireret Wet Wipe til at se på, hvordan man kan hjælpe med at spare processer – og derved penge – ved at udvikle produkter, som er smartere end de eksisterende løsninger.

Corporate Social Responsibility, CSR (Virksomhedens sociale ansvar) har inden for de sidste 20 år bidt sig fast som en væsentlig del af virksomheders profil udadtil. Det er ikke længere nok ”bare” at tjene penge. Virksomheden er også nødt til at forholde sig til den omverden, den agerer i og tage et aktivt ansvar for forbedringer.

Wet Wipe ser således også store muligheder i at hjælpe kunder med at forbedre deres ”grønne regnskab”. Ved brug af engangsklude minimeres forbruget væsentligt af vand og mængden af kemikalier, der hældes i kloakken i forhold til flergangsklude. Wet Wipe estimerer, at Wet Wipe’s klude – alene på danske sygehuse – har minimeret mængden af vand, der forbruges og derefter hældes tilbage i kloakkerne med 30.000 ton siden Wet Wipe startede i 2007.

Håndtering af risiko er ligesom CSR gennem de senere år blevet et vigtigt element blandt den øverste ledelse i danske virksomheder. Bedre og mere fokus på risikohåndtering har nemlig vist sig

at have positive indvirkninger på både antallet af sygedage og mængden af utilsigtede hændelser i virksomheder.

Eftersom Wet Wipe's produkter er klar-til-brug med det samme og altid indeholder den korrekte mængde biocider, minimeres risikoen for at forkerte kemikalier kommer i kontakt med hinanden, eller at doseringen bliver forkert og dermed måske potentiel farlig.

Wet Wipe ser det som en vigtig opgave at minimere brugen af koncentrat, da disse ved forkert brug – i selv små doser – kan forårsage store skader på både personer og materiel. Ved brug af færdigpakkepræimprægnerede klude elimineres disse farer, hvilket alle led i en organisation kan drage nytte af.

Wet Wipe er certificeret efter ISO 9001, ISO 13485 og Direktiv for Medicinsk Udstyr.

#### **1.4 Formål**

Formålet med projektet har været at udvikle og validere en ny standardiseret testmetode til test af desinfektionsklude. Den nye testmetode skal inkludere betingelser, som simulerer brugssituationen, til forskel fra de ved projektets start gældende europæiske standarder for suspensionstests og passiv overfladetests.

Projektet skal desuden teste, om en alternativ kvantiterings- og dyrkningsmetode (kvantitering og dyrkning ved anvendelse af aftrykplader (dipslides)) til den arbejdstidskrævende og omkostningstunge swabmetodik med efterfølgende udsåning på agarplader kan målrettes og samtidig anvendes som en hurtigere og billigere metode til dokumentation af desinfektionskludes desinfektionseffekt, således at virksomheders udviklingsarbejde lettes.

Etablering af en ny standardiseret testmetode skal:

- give virksomheder, der producerer desinfektionsklude en værdifuld metodik til at vurdere desinfektionseffekten af desinfektionsklude.
- kunne anvendes til at optimere produktdesign, herunder kludens fibersammensætning og struktur, som derved
- ultimativt kunne føre til et mere hensigtsmæssigt, rationelt og målrettet valg af biocider og brugskoncentrationer (herunder valg af de miljø- og arbejdsmiljømæssige mindst belastende biocider og koncentrationer), som skal tilsættes desinfektionsklude for at opnå den ønskede desinfektionseffekt.
- give virksomheder, aftagere og myndigheder et fælles redskab til at sammenligne desinfektionseffekten af desinfektionsklude.
- danne grundlag for at udvikle transparente og producentorienterede retningslinjer for produkter til overfladedesinfektion, hvilket kan blive en national og international konkurrenceparameter for virksomhederne.
- sammenholde testresultater af udvrid fra desinfektionsklude ved hjælp af suspensions- og passiv overfladetests med resultater fundet ved den nye testmetode for at kunne vurdere validiteten og relevansen af gældende tests til vurdering af desinfektionskludes desinfektionseffekt.
- dokumentere, hvorvidt der kan skabes et alternativ til de eksisterende dyrkningsmetoder, og derved få en hurtigere og billigere metode til vurdering af desinfektionskludes desinfektionseffekt, som kan udgøre et lettere anvendeligt værktøj for test af desinfektionsklude.
- ultimativt føre til en vurdering af udvalgte repræsentanter for forskelligvirkende desinfektionsmidler tilsat testklude på repræsentative testbakterier.

## **1.5 Forudsætning for den udviklede standardiserede testprotokol**

I udviklingsarbejdet af en standardiseret testprotokol for desinfektionsklude er det en forudsætning, at man skal sikre, at resultaterne er reproducerbare. Endvidere skal testprotokollen indeholde kontroltests, så testresultater efterviser den ønskede desinfektionseffekt af desinfektionsvæsken, som er tilsat kluden, samt klud-desinfektionsvæske-kompleksets samlede desinfektionseffekten. Dette indebærer, at en lang række parametre og kontroltests skal adresseres og efterprøves.

På forhånd har projektgruppen lagt sig fast på at testmetodikken skal basere sig på standardiseret aftørring af en struktureret laminatplade, der typisk forekommer i institutioner i sundhedssektoren. Endvidere var rationalet, at den strukturerede overflade vil fordrer, at kludene skal afgive en større væskemængde på overfladen, før der opnås en ønsket desinfektionseffekt<sup>2</sup>. Erfaringen er, at denne type laminat kan håndteres på praktisk vis i laboratoriet.

Den nye testmetodik skal kunne testes over for et panel af repræsentative testbakterier, den skal kunne teste forskellige kategorier af biocider og omfatte test af minimum to forskellig typer klude.

I udviklingen af testprotokollen blev flere forskellige metoder til kvantificering af testbakterierne afprøvet, og undervejs i projektet skulle flere forskellige parametre adresseres for at nå frem til en reproducerbar og valid testprotokol.

Projekt skal endvidere omfatte en alternativ dyrkningsbaseret metode ved anvendelse af aftryksplader (dipslides), som er lettere at håndtere, kræver minimalt udstyr og er mindre arbejdstidskrævende.

### **1.5.1 Parametre som er blevet adresseret under udviklingen af den standardiserede testprotokol**

I forbindelse med udviklingen af en standardiseret testprotokol, skulle følgende parametre adresseres.

1. Testorganismer og kontaminering af testoverfladen
  - Hvilke mikroorganismer er relevante at anvende?
  - Hvordan skal testoverfladen kontamineres med testorganismene – koncentration, fordeling og udtørring?
2. Kvantificeringsmetoden af testorganismer hhv. før og efter aftørring med klude
  - Afprøvning og valg af kvantificeringsmetode i relation til validitet, reproducerbarhed og metodens praktiske udførelse.
  - Valg af kriterier for, at en test dokumenterer en desinfektionseffekt.
3. Testoverflade
  - Hvilke type testoverflade er relevant at anvende?
  - Hvordan skal testoverfladen dekontamineres inden påbegyndelse af tests?
4. Aftøringsmetodikken
  - Hvordan udføres en standardiseret aftørring, som efterligner en i praksis udført aftørring, herunder trykbelastning og aftøringsbevægelse?
5. Aftøringsmetodikken og kludes evne til at flytte bakterier fra kontamineret område til ikke-kontamineret område
  - I hvor høj grad flytter desinfektionsklude og kontrolklude bakterier ved aftørring fra et kontamineret område til et ikke-kontamineret ("rent") område ved udført aftørring?

6. Typer af biocide og neutralisering
  - Hvilke typer af biocider er repræsentative for hvad de desinfektionsmidler, som anvendes i praksis i sundhedssektoren, indeholder?
  - Hvilken neutralisering kan anvendes ved test af de forskellige biocider?
7. Testklude og imprægnering af kludene
  - Hvilke typer testklude er repræsentative at anvende ved udviklingen af testmetodikken?
  - Hvor stor en mængde væske skal tilsættes kludene?
8. Kontakttid (den indvirkningstid, hvor biocider vil være i kontakt med testorganismene og have en desinfektionseffekt)
  - Hvilke(n) kontakttid(er) er relevant at anvende (vil efterligne en i praksis udført aftørring) i testmetoden?
9. Testresultater fra den nyudviklede testmetode sammenholdt med resultater fra suspensions- og passiv overfladetests.

# 2. Resultater og beslutninger

## Rationaler bag udviklingen af testmetodikken

Følgende er en opsummering af de resultater og beslutninger som løbende blev truffet på baggrund af fundne resultater i forbindelse med adresseringen af de før omtalte forudsætninger og parametre.

### 2.1 Testorganismer og kontaminering af testoverfladen

*Hvilke mikroorganismer er relevante at anvende?*

De fire testbakterier, som anvendes i henholdsvis suspensions- og passiv overfladetests dvs. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Enterococcus hirae* ATCC 10541 og *Escherichia coli* ATCC 10536 blev anvendt i de indledende tests.

For at sikre at undersøgelsesresultaterne er valide kontrolleredes det, hvorvidt testbakterierne kunne overleve afsætning og udtørring på den valgte laminatplade. Overlevelsen af testbakterierne igennem testproceduren detekteres ved at sammenligne antallet af dyrkbare testbakterier i den bakteriesuspension, der påføres laminatpladen, med antallet af dyrkbare testbakterier på laminatpladen, efter bakteriesuspensionen er afsat og tørret ind på laminatpladen. Den andel af testbakterier, der genfindes, udgør således den andel af testbakterierne, der både overlever selve indtørringsprocessen og efterfølgende kan frigøres fra laminatpladen.

Alle fire testbakterier, både de Gram-positive *S. aureus* og *E. hirae* og de Gram-negative *E. coli* og *P. aeruginosa* kunne overleve og genfindes med en reduktion på maksimal 2 log<sub>10</sub> enheder ved brug af de samme koncentrationer i testsuspensionerne, som anvendes ved den passive overfladetest.

Til alle yderligere forsøg med henblik på at videre udvikling af protokollen blev *S. aureus* anvendt, da denne testbakterie var den mest modstandsdygtige af de fire bakterier bedømt ud fra den passive overfladetest.

*Hvordan skal testoverfladen kontamineres med testorganismerne – koncentration, fordeling og udtørring?*

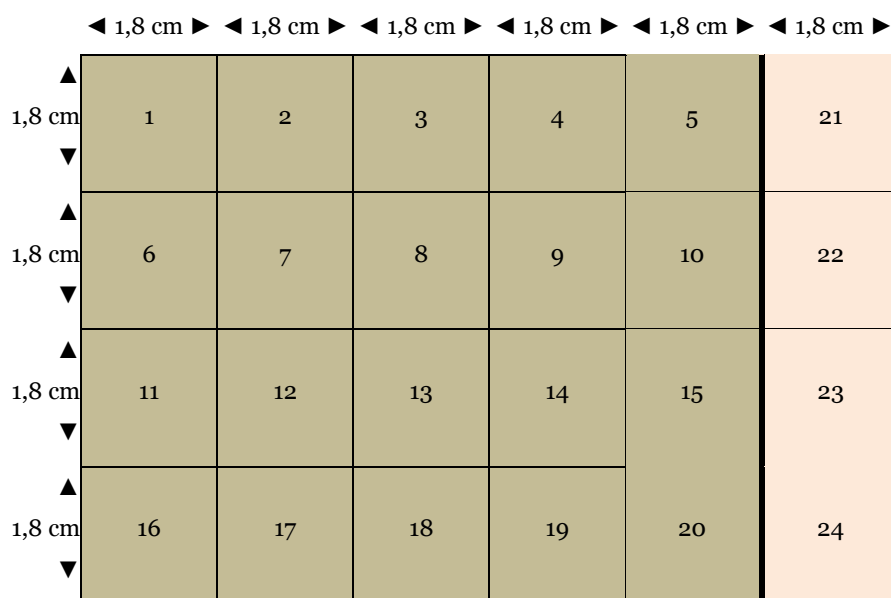
Forskellige metoder til kontaminering af testoverfladen blev afprøvet. Dette indebar 1) afprøvning med forskellige bakteriekoncentrationer, 2) hvordan testbakterierne kunne fordeles på testoverfladen og 3) hvordan udtørringen af testbakterierne blev optimal, så flest mulig testbakterier overlevede udtørringsprocessen.

Som tidligere anført skal en test for desinfektionseffekt detektere i hvor høj grad der sker et drab af mikroorganismer, og sammenholde dette med minimumskrav (som fx en  $\geq 5$  log<sub>10</sub> reduktion ved suspensionstest). I forståelsen af undersøgelsesresultater er det vigtigt at kunne skelne imellem inaktivering på grund af indtørring og aftørring samt inaktivering på grund af den biocidholdige desinfektionsvæske. Derfor er startkoncentration nødt til at være høj. Ved de indledende forsøg blev der fundet en reduktion i antallet af bakterier efter udtørring på ca. 2 log<sub>10</sub> og en reduktion efter aftørring med kontrolklud også på ca. 2 log<sub>10</sub>, dvs. at den samlede reducerende effekt på antallet af bakterier efter udtørring og mekanisk aftørring udgør ca. 4 log<sub>10</sub>. Ved at anvende en startkoncentration på ca.  $1 \times 10^8$  CFU/ml, som er lig de start koncentrationer der anvendes i EN-standarder (her anvendes  $1,5 \times 10^8$ - $5 \times 10^8$  CFU/ml), er det muligt at måle desinfektionseffekten af en klud tilsat biocidholdigt desinfektionsvæske i forhold til den samme klud tilsat et tensid (kontrol klud), da der er ca. 4 log<sub>10</sub> CFU tilbage på laminat overfladen efter aftørring med kontrol kluden.

Efter test af flere forsøgsopsæt var resultatet, at den mest optimale kontaminering af testoverfladen var ved at afsætte 8 x 10 dråber á 10 µl fra en 10<sup>8</sup> CFU/ml testbakteriesuspension, som blev fordelt jævnt over et areal på 7,2 x 9 cm (inddelt i 4 gange 5 felter á 1,8 mm \* 1,8 mm) på en ren laminatplade. Dette område af pladen benævnes **testfelt**. Et areal umiddelbart ved siden af testfeltet på 7,2 x 1,8 cm (inddelt i 1 gange 4 felter á 1,8 mm \* 1,8 mm) blev efterladt uden testbakterier som et **flyttefelt** (se Figur 1). Laminatpladen med dråber tørredes efterfølgende maksimalt i 1 time og var herefter klar til aftørringstesten med kontrolklud (klud, som ikke er tilsat desinfektionsvæske) eller desinfektionsklud.

Den anførte kontaminerings metode med en fordeling af mange små dråber gav den kortest mulige tørringstid og var også mest skånsom for testbakteriernes overlevelse efter udtørring.

Inddeling af laminatpladen i et testfelt og et flyttefelt giver mulighed for dels at bedømme det tilsigtede drab af mikroorganismer i testfelt (desinfektionseffekten), samt at bedømme den utilsigtede flytning af bakterier til et tidligere rent område ved aftørring med klud.



FIGUR 1. DESIGN AF TESTOVERFLADE. LAMINATPLADER AF TYPEN DU-1188 VV MÆRKES MED SPRITFAST PEN 4\*6 FELTER 1,8 MM \* 1,8 MM. FELTERNE NUMMERERES FRA 1 TIL 20 (TESTFELT ANGIVET MED ) OG FRA 21-24 (FLYTTEFELT ANGIVET MED ).

## 2.2 Kvantificeringsmetoden af testorganismer hhv. før og efter aftørring med klude

*Afprøvning og valg af kvantificeringsmetode i relation til validitet, reproducerbarhed og metodens praktiske udførelse*

Efter aftørring af laminatpladen med klud skal testbakterierne frigøres fra laminatpladen og overføres til dyrkningsmedium for at kunne detekteres.

Først blev testet en tilsvarende metodik med anvendelse af glaskugler, som beskrevet i den passive overfladetest. Denne metodik var dog for kompliceret at udføre, så metodikken blev vurderet til at være uegnet ved aftørringstest på laminatplader.

Derfor blev en swabmetodik afprøvet med henblik på frigørelse af testorganismer fra testoverfladen før og efter aftørring, hvor frigørelse af testorganismer blev foretaget ved to på hinanden følgende swabs med to sterile bomuldsvatpinde. Vatpindene med frigjorte testbakterier overførtes herefter til



neutraliseringsreagens, for efterfølgende at blive udsat i flere forskellige fortyndinger på dyrkningsplader til inkubation og efterfølgende kvantificering, efter samme metodik som også anvendes i EN-standarderne.

Denne metodik gav reproducerbare resultater, og herved opnås et resultat, hvor antallet af bakterier kan opgøres i antal CFU/ml eller CFU/cm<sup>2</sup>. Dette bevirker, at man kan opgøre bakterieforekomsten før og efter en aftørring og derved fremkomme med et tal for reduktionen i antallet af testbakterier efter aftørring opgjort som en log<sub>10</sub>-reduktion, der er den anvendte fremstillingsmåde i EN-standarderne.

Ved anvendelse af en startskoncentration af testorganismer på ca.  $1 \times 10^8$  CFU/ml, og en samlet estimeret reducerende effekt på antallet af bakterier efter udtørring og mekanisk aftørring på ca. 4 log<sub>10</sub>, muliggør swabmetodikken, at man kan påvise en forskel op til 4 log<sub>10</sub> CFU ved aftørring med en desinfektionsklud i forhold til en tilsvarende kontrollklud kun tilsat tensid.

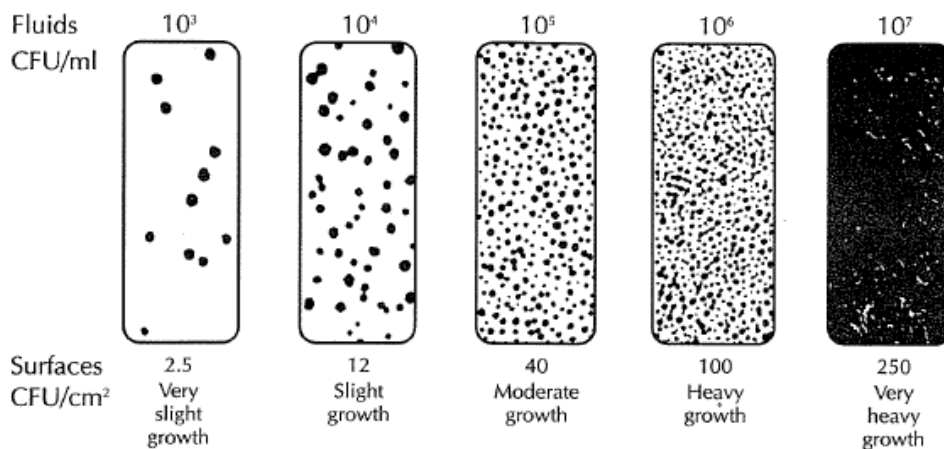
Swabmetodik var dog meget tidskrævende og rent logistisk medførte swabmetodikken, at man kun kan håndtere et begrænset antal sideløbende tests samtidig.

Derfor blev en tredje form for kvantificeringsmetodik undersøgt. Denne metodik var anvendelse af aftryksplader (dipslides).

Kvantificeringsmetodikken ved anvendelse af dipslides foregår ved, at dipslides trykkes mod laminatpladen hhv. før og efter en testaftørring (uden efterfølgende fortynding). Forekomst af testbakterier på en dipslide aflæses efter inkubering i 24 og 48 timer i varmeskab ved hjælp af et aflæsningsark (comparison chart), som vist på Figur 2, hvor antallet af CFU/cm<sup>2</sup> estimeres ud fra en visuel helhedsvurdering af vækst på en dipslide.

Begge former for kvantificeringsmetodik (swab og dipslides) anvendes ved udtagning af miljøprøver inden for sundhedssektoren. Dog må dipslidemetodikken anses for at være mere reproducerbar<sup>11,12</sup>, idet swabmetodikken kan være mere besværlig at udføre identisk fra gang til gang, foruden at denne metodik er mere tidskrævende.

## Comparison Charts Bacteria/Yeasts



FIGUR 2. AFLÆSNINGSARK TIL DIPSLIDES.

En række dipslides med forskellige næringsmedier, visuelle indikatorer og neutraliseringsmidler blev testet for deres evne til at påvise vækst af testbakterierne på laminatplader kontamineret med indtørrede testbakterier.

Afprøvninger viste, at dipslides kunne anvendes til at detektere de udvalgte testbakterier, samt at der var en entydig sammenhæng imellem antallet af testbakterier påvist ved swabmetodikken og ved brug af dipslidemetodikken.

#### *Valg af kriterier for, at en test dokumenterer en desinfektionseffekt*

I de standardiserede EN-tests er kriteriet for at bestå en test en påvist reduktion i antallet af bakterier på hhv.  $\geq 5 \log_{10}$  for suspensionstests, på  $\geq 4 \log_{10}$  for passive overfladetests og på  $\geq 5 \log_{10}$  for 4-felttesten (EN 16615) som blev publiceret efter projektets start. I EN 16615-testen er endnu et kriterie desuden, at der ikke må findes mere end 10 CFU bakterier i de tre rene felter på hver 25 cm<sup>2</sup> (svarende til flyttefeltet i den udviklede testmetode), som ikke er kontamineret før en aftørring.

Projektgruppen vurderede, at ved anvendelsen af dipslidemetodikken frem for swabmetodikken kan man mere ressource-effektivt udføre flere tests samtidig, herunder testning af flere forskellige testparametre, hvilket giver en stor tidsmæssig fordel. Ved en anvendelse af dipslidemetodikken frem for swabmetodikken vil den tidsbesparende fordel, man opnår, alt andet lige også medføre, at man tilsvarende opnår en økonomisk fordel.

Som følge af dette, og da der var en entydig sammenhæng imellem antallet af testbakterier påvist ved swabmetodikken og ved brug af dipslidemetodikken, blev dipslidemetodikken valgt frem for swabmetodikken.

#### *Valg af kriterier for at en test dokumenterer en desinfektionseffekt ved brug af dipslides.*

En udfordring ved at bruge dipslides fremfor den førnævnte swabmetodik er dog, at datainformationsniveauet bliver reduceret, idet man ikke opnår data som følger en logaritmiske skala, men data er i stedet inddelt i kategorier.

En forekomsten af  $\leq 2,5$  CFU (kolonidannende enheder) pr cm<sup>2</sup> på en overflade fundet ved dipslidemetodikken, svarer til en forekomst på  $10^3$  bakterier/ml (se Figur 2), hvilket vil svare til, at man kan detektere op til en  $\geq 5 \log_{10}$  reduktion i antallet af bakterier ved anvendelse af en startkoncentration på ca.  $1 \times 10^8$  CFU/ml.

Flere studier har desuden konkluderet at forekomsten af  $< 2,5$ -5 CFU (kolonidannende enheder) pr cm<sup>2</sup> på overflader kan anvendes som et mikrobiologiske kriterie for renhed<sup>12-18</sup>. Med dette som udgangspunkt blev der i forbindelse med afprøvningen af dipslidemetodikken fastlagt en grænseværdi på  $\leq 2,5$  CFU (kolonidannende enheder) pr cm<sup>2</sup>, som et kriterie for at der opnås en ønsket desinfektionseffekt.

Studier har vist, at bakterier kan flyttes fra urene til rene områder ved brug af desinfektionsklude<sup>19,20</sup>. Derfor er observationer om flytning af bakterier også inddraget i gengivelsen af resultaterne. Også her blev fastlagt en grænseværdi på  $\leq 2,5$  CFU (kolonidannende enheder) pr cm<sup>2</sup>, som et kriterie for at der opnås en ønsket desinfektionseffekt.

Desuden skal desinfektionskluden også være mere effektiv end en tilsvarende kontrolklud kun tilsat vand og tensid (svarende til en rengøringsklud).

### **2.3 Testoverflade**

#### *Hvilke type testoverflade er relevant at anvende?*

Som testoverflade blev det fastlagt at anvende laminat efter standarden DU-1188 VV til hele projektet. Rationalet var bl.a. at laminatoverflader benyttes i vid udstrækning i det danske

sundhedsvæsen. Det valgte laminat blev udvalgt af projektgruppen fordi det adskiller sig på væsentlige punkter fra den PUR-coatede overflade i EN16615 ved at have en struktureret overflade. En struktureret overflade vil sige, at overfladen ikke er decideret vandskyende, og den har en opbygning, som antages at kunne øge bakteriers mulige adhæsion til overfladen, og derved besværliggøre fjernelsen af bakterier ved aftørring.

Man vil dog have mulighed for at anvende den udviklede testprotokol på andre overflader, som kunne være relevant i forhold til, hvad man vil finde i fx et hospitalsmiljø.

*Hvordan skal testoverfladen dekontamineres inden påbegyndelse af tests?*

Laminatpladerne blev leveret rene. For at sikre, at laminatpladerne er uden kim efter optegningen af felter inden testen, blev UV-belysning anvendt for at undgå at laminatpladerne var kontamineret inden testene. Dette resulterede i kimfri laminat dokumenteret ved fravær af mikroorganismer (aftryk på agar).

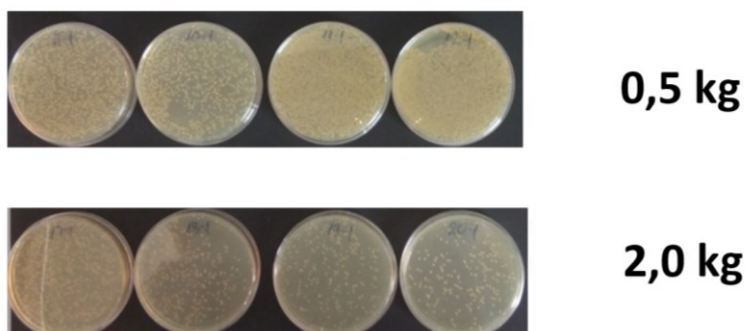
Autoklaving af laminat kunne ikke anvendes, idet autoklaving resulterede i skade på laminaten.

#### **2.4 Aftøringsmetodikken**

*Hvordan udføres en standardiseret aftørring, som efterligner en i praksis udført aftørring, herunder trykbelastning og aftøringsbevægelse?*

Der blev foretaget målinger af, hvor stor en trykbelastning på en overflade testpersoner udførte ved aftørring med en kontrolklude. Disse viste at trykbelastningerne var i mellem 150 -1.000 gram.

Andre forsøg viste, at ved stigende trykbelastning sås en øget reduktion af mikroorganismer ved aftørring med kontrolklud (se Figur 3).



**FIGUR 3. EKSEMPEL PÅ AT EN TRYKBELASTNING PÅ 2 KG GIVER EN REDUCERET FOREKOMST AF TESTBAKTERIER END VED EN TRYKBELASTNING PÅ 0,5 KG, ILLUSTRERET VED ANVENDELSE AF AFTRYKSPLADER.**

Ved aftørring med en kontrolklud og en trykbelastning på 0,5 kg observeredes en ca. 2 log reduktion af testorganismen.

En standardiseret aftørring blev efterfølgende defineret som en aftørring med en klud, hvor der anvendes en trykbelastning på 0,7 kg. Trykbelastningen udgøres af en 10,5 cm \* 10,5 cm plan flade, der fuldstændigt overstryger området med testbakterier. Aftøringsbevægelsen foretages i en sammenhængende bevægelse frem og tilbage to gange over den før beskrevne overflade (test- og flyttefelt).

#### **2.5 Aftøringsmetodikken og kludenes evne til at flytte bakterier fra kontamineret område til ikke-kontamineret område**

*I hvor høj grad flytter desinfektionsklude og kontrolklude bakterier ved aftørring fra et kontamineret område til et ikke-kontamineret ("rent") område ved udført aftørring?*

Aftørring indebærer en risiko for at mikroorganismer flyttes fra kontaminerede områder til rene områder, hvis ikke disse fanges og fastholdes i kluden og/eller dræbes som følge af desinfektionsvæskens desinfektionseffekt<sup>2</sup>. For at undersøge dette omfatter testoverfladen et

markeret områder som ikke initialt blev kontamineret, hvorfra der ligeledes tages prøver fra efter aftørring.

## 2.6 Typer af biocider og neutralisering

*Hvilke typer af biocider er repræsentative for hvad de desinfektionsmidler, som anvendes i praksis i sundhedssektoren, indeholder?*

Som udgangspunkt valgte projektet at arbejde med biocider, der hver især er repræsentanter for et givent antimikrobielt virkningsspektrum, som også indgår i CEI's vurderingspraksis. Valget af biocider afspejler desuden, hvilke typer af biocider, som anvendes i den danske sundhedssektor, og derfor er tilgængelige på det danske marked. Endvidere blev de inkluderede biocider valgt ud fra hvad projektgruppen havde tidligere erfaring med.

I Tabel 1 ses en oversigt over de valgte biocider og udvalgte relevante karakteristika.

TABEL 1. VALGTE BIOCIDER

Stof	Molekylærstruktur og -størrelse	Opløsningsforhold i desinfektionsvæsken
<b>Polyhexamethylenbiguanidhydroklorid (PHMB)</b> CAS nr.: 27083-27-8 / 32289-58-0	(C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> ) <sub>n</sub> .nHCl , n=1-40  Stor molekyle med gennemsnitlig molvægt: ca. 1600 g/mol	Vandbaseret
<b>Ethanol</b> CAS nr.: 64-17-5	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O  Lille molekyle med molvægt: 46,07 g/mol	Alkoholbaseret
<b>Hypoklorsyre</b> CAS nr.: 7790-92-3	HClO  Lille molekyle med molvægt: 52,46 g/mol	Vandbaseret

*Hvilken neutralisering kan anvendes ved test af de forskellige biocider?*

Ved vurdering og test af en desinfektionsvæske er det centralt, at definere hvor lang tid desinfektionsvæsken skal virke (kontakttiden) for at opnå den dokumenterede effekt. Derfor er det vigtigt at kunne neutralisere desinfektionseffekten af desinfektionsvæsken.

I de teststandarder, som projektet tager udgangspunkt i, stoppes desinfektionsvæskens indvirkning enten ved at tilsætte et neutraliseringsreagens som ophæver desinfektionsvæskens desinfektionseffekt, eller ved at desinfektionsvæsken fortyndes så den virksomme koncentration bliver ubetydelig. Valget af neutraliseringsreagens kan afhænge af flere faktorer så som sammensætningen af desinfektionsvæsken (herunder hvilke(n) biocid(er), der er tilsat), testbetingelserne og testbakterien.

Gennemgående må et neutraliseringsreagens ikke hæmme eller dræbe testbakterierne, og for en række af de forskellige biocider er der i de europæiske standarder angivet, hvilke neutraliseringsreagenser eller -metoder, der eventuelt kan anvendes.

I dipslides kan visse neutraliseringsreagenser støbes ind i agaren. Kommercielt tilgængelige dipslides, som er baseret på agartyper, der anvendes i de eksisterende EN-standarder blev foretrukket. Flere forskellige dipslides blev testet og for hver kombination af biocid og mulig

neutraliseringsreagens blev det verificeret, at den valgte kombination ikke hæmmede vækst af testbakterier, som illustreret i Figur 4.

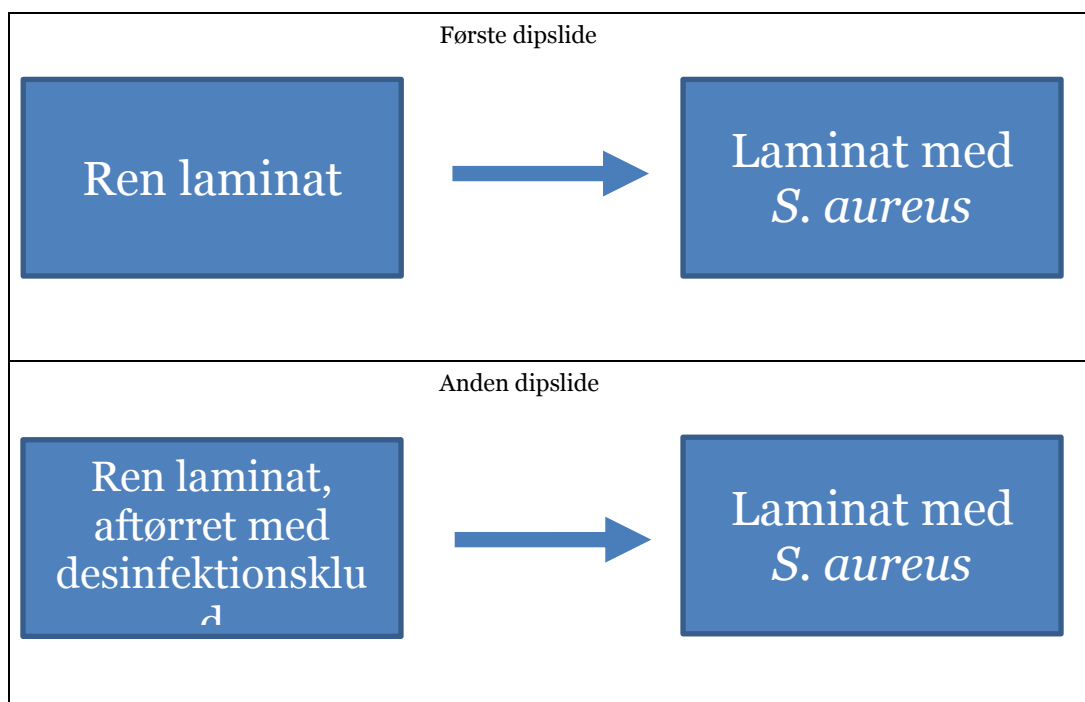
Metoden til verificering neutraliseringsreagens var følgende:

Den første dipslide er en positiv kontrol for kvantificering af testbakterien under de givne forsøgsbetingelser. Dipsliden trykkes først mod en ren laminatplade og derefter mod en laminatplade kontamineret med indtørret *S. aureus*.

Den anden dipslide er en verificering af, at eventuelle rester af biocid fra en aftørret laminatplade neutraliseres effektivt af neutraliseringsreagenset i dipsliden. En ren laminatplade aftørres med en desinfektionsklud. 5 minutter efter trykkes den anden dipslide først mod den aftørrede laminatplade, og derefter mod en laminatplade kontamineret med indtørret *S. aureus*.

Begge dipslides skulle gerne give identisk vækst af bakterier, hvis ellers eventuelle rester af biocid er blevet neutraliseret.

Ved afprøvning med biociderne ethanol og hypoklorsyre var neutraliseringseffekten i de kommercielt tilgængelig dipslides tilfredsstillende, idet der forekom ingen bakteriehæmmende effekt ved dipslides tilsat neutralisering og der sås en tilfredsstillende neutralisering af biociderne. For PHMB var neutraliseringseffekten ved at indstøbe et neutraliseringsreagens i dipsliden ikke tilstrækkelig. Derfor blev en alternativ metode afprøvet, hvor dipslides uden tilsat neutraliseringsreagens efterfølgende blev skyllet med et neutraliseringsreagens, som angives i de europæiske standarder. Denne metode var reproducerbar og påvirkede ikke væksten af testbakterier.



FIGUR 4. VERIFICERING AF NEUTRALISERINGSEFFEKTEN FOR DIPSLIDES MED NEUTRALISERINGSMIDDEL. ØVERST: POSITIV KONTROL AF VÆKST PÅ DIPSLIDE. NEDERST: KONTROL AF NEUTRALISERINGSEFFEKTEN VED DIPSLIDE ANVENDT PÅ OVERFLADE EFTER AFTØRRING MED DESINFEEKTIONSKLUD. I BEGGE SITUATIONER ER KONCENTRATIONEN AF BAKTERIEN ENS PÅ DE TO KONTAMINEREDE OVERFLADER. NEUTRALISERINGSEFFEKTEN ER TILFREDSSTILLEND, SÅFREMPT DER ER LIGE MEGEN VÆKST PÅ DIPSLIDE 1 OG DIPSLIDE 2.

## 2.7 Testklude og imprægnering af kludene

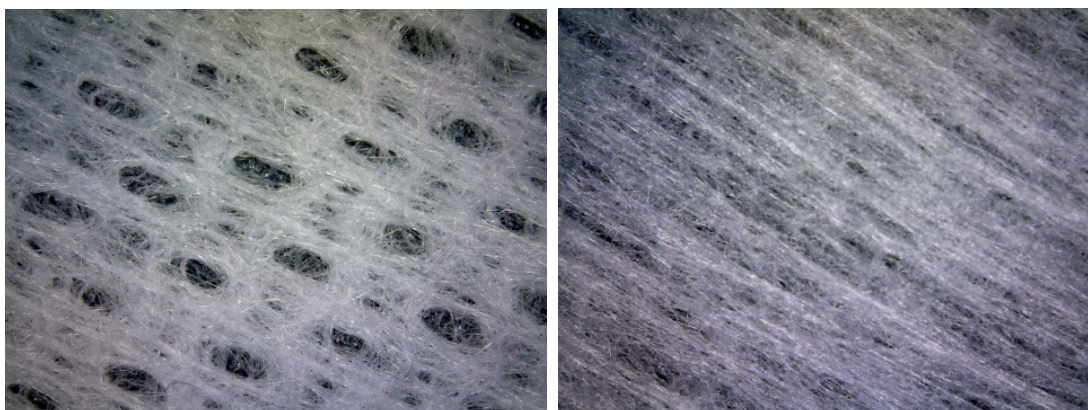
*Hvilke typer testklude er repræsentative at anvende ved udviklingen af testmetodikken?*

For at testmetodikken skulle kunne anvendes på et bredt udvalg af forskellige kludetyper blev flere typer nonwoven materialer undersøgt og testet. Herefter blev to typer nonwoven klude udvalgt, idet deres egenskaber i forhold til forskellige fibersammensætning og struktur forventes at udgøre yderpunkter i det spektrum af kludetyper, som findes kommercielt tilgængeligt (se Tabel 2). De to nonwoven typer er karakteriseret bl.a. ved de data, der fremgår af Tabel 2.

TABEL 2. UDVALGTE DATA FOR VISKOSE- OG POLYESTERKLUDE.

	Viskose-klud	Polyester-klud
<b>Viskose indhold</b>	70 %	20 %
<b>Polyester indhold</b>	30 %	80 %
<b>Tykkelse</b>	0,74 mm	0,50 mm
<b>Vægt</b>	70 g/m <sup>2</sup>	40 g/m <sup>2</sup>
<b>Overfladestruktur</b>	Perforeret med huller	Glat uden huller

I Figur 5 er vist nærbilleder af de to nonwoven typer, som blev udvalgt, hhv. viskose og polyester nonwoven.



FIGUR 5. NÆRBILLEDER AF DE ANVENDTE KLUDE: (T.V.) EN VISKOSE KLUD MED EN PERFORERET OVERFLADE OG (T.H.) EN POLYESTER SERVIET MED EN GLAT OVERFLADE.

*Hvor stor en mængde væske skal tilsættes kludene?*

For hvert biocid der testes blev der anvendt en kontrolklud kun tilsat vand og tensid med tilsvarende imprægneringsgrad.

For at opnå en ideel imprægnering af klude er der flere modsatrettede problematikker, som man er nødt til at tage højde for, i forhold til brugervenlighed, ønsket afgivelse og optagelse af væske for at opnå en desinfektionseffekt, samt hvordan den aftørrede overflade efterlades efter aftørring. Ud fra en brugers perspektiv ønskes en klud som er tilpas fugtig, men som ikke driver af væske. Ud fra et desinfektionsperspektiv ønskes en klud, som afgiver tilstrækkelig desinfektionsvæske, så man opnår en kontakttid mellem biocid i desinfektionsvæsken og mikroorganismene og derved et ønsket drab. Endvidere ønskes en klud, som også optager væsken igen for at fjerne mikroorganismene og samtidig holder på bakterier, så eventuelt ikke dræbte bakterier ikke spredes til ikke forurenede overflader.

Endelig må en aftørring med en desinfektionsklud ud fra et æstetisk synspunkt ikke efterlade striber i form af sæberester på en aftørret overflade.

Flere forsøg til belysning af disse faktor blev udført og i Tabel 3 ses en oversigt over de fundne ideelle imprægninger af klude ved test af hhv. PHMB, ethanol og hypoklorsyre i forskellige koncentrationer.

TABEL 3. IMPRÆGNERING AF KLUDE.

	Imprægneringsgrad (w/w) og lagringstid	Tilsat væske til kontrolklud	Tilsat væske til desinfektionsklude
<b>PHMB</b>	250 % ≥ 1 uge	Sterilt vand 0,1 % Berol tensid	Sterilt vand 0,125 % - 1,00 % PHMB 0,1 % Berol tensid
<b>Ethanol</b>	300 % ≥ 1 uge	Sterilt vand 0,1 % Berol tensid	Sterilt vand 40 % - 85 % vol./vol. ethanol
<b>Hypoklorsyre</b>	250 % 24 timer	Sterilt vand 650 ppm anionisk tensid	Sterilt vand 50 ppm – 1.000 ppm hypoklorsyre 650 ppm anionisk tensid

## 2.8 Kontakttid (den indvirkningstid, hvor biocider vil være i kontakt med testorganismerne og have en desinfektionseffekt)

### Fastlæggelse af kontakttid(er)

Drab af mikroorganismer kræver en vis kontakttid mellem testbakterie og desinfektionsvæske, idet biocidet fx skal trænge gennem mikroorganismens ydre lag. ECHA anbefaler at for test af biocider anvendt til overfladedesinfektion af kontaktpunkter anvendes en kontakttid på maksimalt 5 minutter. I den afprøvede testprotokol er der anvendte kontakttid på 5 minutter svarer til den standardiserede kontakttid mellem testbakterier og desinfektionsvæske, som også anvendes i de standardiserede EN-tests. Ingen af de nævnte EN-standarder dækker en faktisk brugssituation, hvor aftørring med en desinfektionsklud ofte foregår på mindre end et minut.

## 2.9 Testresultater fra den nyudviklede testmetode sammenholdt med resultater fra suspensions- og passiv overfladetests

### 2.9.1 Baggrund for de præsenterede testresultater

Som tidligere beskrevet har projektet til formål at udvikle en teststandard, og formålet er ikke at præsentere data om hvorvidt et givet klud-desinfektionsvæske-kompleks er bedre end et andet. Nedenfor vil der blive givet en opsummerende præsentation af de fundne resultater fra den nyudviklede testmetode (herefter kaldet **dipslidemetodikken**), og disse resultater sammenholdes med udvalgte resultater fra udførte suspensionstests og passiv overfladetests. Resultaterne fra suspensionstests og passiv overfladetests er primært udførte test på *S. aureus*, da denne bakterie var mest hårdfør efter udtørring på en overflade.

Der blev udført suspensionstests og passiv overfladetests med udvid af de respektive desinfektionsvæsker fra biocidimprægnede testklude for at bestemme den laveste koncentration af de forskellige biocider, som viser den ønskede desinfektionseffekt. Med udgangspunkt i den ved suspensionstest fundne laveste koncentration, er der for alle de inkluderede biocider udført tests ved denne og lavere koncentrationer (se Tabel 4).

Anvendelse af dipslidemetodikken blev testet over for de fire testbakterier (*S. aureus*, *E. hirae*, *E. coli* og *P. aeruginosa*) med brug af henholdsvis 70% viskose klude og 20% viskose klude tilsat hver især de tre typer af biocider i de nævnte koncentrationer, som fremgår af Tabel 4.

**TABEL 4. OVERSIGT OVER DE TESTEDE KONCENTRATIONER AF DESINFEKTIONSVÆSKER SOM BLEV TILSAT KLUDE.**

Biocid	Koncentrationer testet	Imprægneringsgrad
PHMB	0; 0,125; 0,250; 0,50; 1;0 (%*)	250 %
Ethanol	0; 40; 55; 70; 85 (%*)	300 %
Hypoklorsyre	0; 50; 100; 400; 1.000 (ppm**)	250 %

\*vol./vol. %, \*\* parts per million.

### 2.9.2 Kriterier for dipslidemetodikkens reproducerbarhed og variation

Et essentielt krav ved udvikling af en ny metodik er, at metodikken er reproducerbar og derfor udviser minimal variation, når man udføre identiske test og tester forskellige parametre, herunder forskellige bakterier, biocider, koncentrationer og kludetyper.

Der foreligger i alt testresultater fra 120 testkombinationer - baseret på fire bakterier, tre biocider, fem koncentrationer og to kludetyper ( $4 \times 3 \times 5 \times 2 = 120$ ). For testfelt gælder, at hver resultat er baseret på 16 gentagelser af dyrkninger udført med dipslide. For disse gentagelser defineres variationen som minimal, såfremt antallet af fundne bakterier falder inden for samme aflæsningskategori eller højst to tilstødende aflæsningskategorier. Såfremt de 16 gentagelser falder indenfor tre tilstødende aflæsningskategorier, betragtes variationen som acceptabel i lighed med praksis fra EN-standarderne, hvor en variation mellem replikatprøver på  $\pm 1 \log_{10}$  regnes for acceptabel. Såfremt de 16 gentagelser falder indenfor mere end tre aflæsningskategorier, betragtes variationen som større.

Mht. antal prøver fra flyttefelt gælder det, at hver test er gentaget således, at der foreligger 4 resultater for hver testkombination. Der kan ikke fastlægges en definition på stabilitet/variation ud fra de antal test der er foretaget. Derfor rapporteres i hvor høj grad der er fundet vækst ( $\geq 2,5$  CFU/cm<sup>2</sup>) i flyttefeltet angivet i %.

#### *Reproducerbarheden af testresultater for testfeltet ved brug af dipslidemetodikken*

Hovedparten af de observerede resultater for testfeltet udviste minimal variation (se Tabel 5). Ud af 120 resultater fra testkombinationerne af de forskellige bakterier, biocider, koncentrationer og kludetyper var der 98 (81,7 %) der udviste minimal variation, 17 (14,2 %) med acceptabel variation og 5 (4,2 %) med mindre acceptabel variation. For *S. aureus* og *E. coli* var alle observationer acceptable eller med minimal variation, mens enkelte observationer for *E. hirae* og *P. aeruginosa* var mindre acceptable. Der var ingen forskel på fordelingen af testobservationer i forhold til kludetyper.

For klude imprægneret med hypoklorsyre eller PHMB observeredes en overvejende ligefrem proportional reduktion i antallet af bakterier ved stigende koncentration. For klude imprægneret med hypoklorsyre observeredes total drab af testbakterier ved de på forhånd forventede koncentrationer svarende til de fundne værdier ved suspensionstests. Dette gælder også for de PHMB imprægnerede klude bortset fra *S. aureus*, hvor især polyester-kluden knapt kunne inaktivere *S. aureus*.



For de ethanol-imprægnerede klude kunne ikke påvises en overvejende ligefrem proportional reduktion i antallet af bakterier ved stigende koncentration, uanset kludetype eller bakterie.

**TABEL 5. FORDELING AF UDFALD FOR TESTKOMBINATIONERESULTATERNE (N= 120) I FORHOLD TIL TESTBAKTERIER VED BRUG AF DIPSLIDEMETODIK UDFØRT MED BRUG AF TO SLAGS KLUDE (70% VISKOSE KLUD OG 20% VISKOSE KLUD) OG FORSKELLIGE KONCENTRATIONER AF HENHOLDSVIS PHMB, ETHANOL OG HYPOKLORSYRE.**

	Total	<i>S. aureus</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<b>Minimal variation</b> (samme kategori eller inden for to kategorier)	98	28	25	27	18
<b>Acceptabel variation</b> (tre kategorier)	17	2	1	3	11
<b>Mindre acceptabel</b> (>tre kat)	5	0	4	0	1

#### *Testobservationer for flyttefeltet ved brug af dipslidemethodikken*

For alle kludetyper, alle typer af biocider og næsten alle testbakterier (undtagen for *E. coli*) viste testresultaterne, at anvendtes koncentrationer af biocider, som lå under den virksomme koncentration fundet ved suspensionstests, blev flyttefeltet kontamineret ved aftørringen.

### **2.9.3 Resultater fra dipslidemethoden i relation til resultater fra suspensionstests og passiv overfladetests**

#### *Resultater ved anvendelse af PHMB*

Ved dipslidemethodikken var der minimal variation i 75 % af observationerne, og acceptabel variation i 15 %, mens i 4 tilfælde (10 %) var der en mindre acceptabel variation (se Tabel 6).

**TABEL 6. FORDELING AF UDFALD FOR TESTFELT I FORHOLD TIL BIOCIDER (PHMB, ETHANOL OG HYPOKLORSYRE) VED BRUG AF DIPSLIDEMETODIK UDFØRT MED BRUG AF TO SLAGS KLUDE (70% VISKOSE KLUD OG 20% VISKOSE KLUD) OG FIRE FORSKELLIGE TESTBAKTERIER (I ALT 120 TESTKOMBINATIONER).**

	Total	<i>PHMB</i>	<i>Ethanol</i>	<i>Hypoklorsyre</i>
<b>Minimal variation</b> (samme kategori eller inden for to kategorier)	98	30	34	34
<b>Acceptabel variation</b> (tre kategorier)	17	6	5	6
<b>Mindre acceptabel</b> (>tre kat)	5	4	1	0

Testresultaterne ved anvendelse af dipslidemethodikken viste en ligefrem proportional reduktion i antallet af bakterier i testfeltet ved aftørring med stigende PHMB-koncentration i klude. Dette gjaldt for begge klude. Der blev fundet ingen eller  $\leq 2,5$  CFU/cm<sup>2</sup> ved aftørring med klud imprægneret med 1 % PHMB.

Mht. flyttefelt viste testresultaterne, at bortset fra i ét tilfælde blev der ikke fundet kontamination af flyttefeltet ved aftørring med 1 % PHMB.

Testresultater ved suspensionstests, som blev fundet ved anvendelse af udvrid fra testklude imprægneret med PHMB, viste at udvrid fra testklude imprægneret med 0,1 % PHMB var i stand til at opfylde testkriterierne for alle testbakterierne ved kontakttid på 5 minutter. Derimod var det først udvrid fra testklude imprægneret med 1 % PHMB, som opfyldte testkriterierne ved den passive overfladetest ved kontakttid på 5 minutter.

#### *Resultater ved anvendelse af ethanol*

Ved dipslidemetodikken var der minimal variation i 85 % af testresultaterne, og acceptabel variation i 12,5 %, og kun i ét tilfælde (2,5 %) var der en mindre acceptabel variation.

Testresultaterne fra dipslidemetodikken viste ikke en ligefrem proportional reduktion i antallet af bakteriel ved tilsætning af stigende koncentration af ethanol til kludene. Dette gjaldt for begge klude.

Testresultaterne viste, at ingen af de ethanol-imprægnerede klude tilsat de forskellige koncentrationer (jf. Tabel 6) kunne opfylde dipslidemetodikkens kriterier. Det fastlagte kriterie på  $\leq 2,5$  CFU (kolonidannende enheder) pr  $\text{cm}^2$  i både test- og flyttefelt, blev kun fundet i flyttefeltet, mens der var  $> 2,5$  CFU pr  $\text{cm}^2$  i testfeltet.

Testresultaterne viste desuden, at aftørring med ethanol-imprægnerede klude tilsat de forskellige koncentrationer generelt ikke var bedre end kontrolklud kun tilsat tensid til at reducere antallet af testbakterier. I visse tilfælde var ethanol-imprægnerede klude tilsat 55 % og 70 % ethanol marginalt bedre end kontrolklude, men i andre dårligere, hvilket var afhængig af hvilken type at testbakterier, som blev anvendt i testen.

Mht. flyttefelt viste testresultaterne, at for de to højeste koncentrationer 70 % og 85 % blev bakterier ikke flyttet i nævneværdig grad, og da blev der kun i enkelte tests påviste  $\leq 2,5$  CFU/ $\text{cm}^2$ .

Resultaterne fra suspensionstests viste, at udvrid fra testklude imprægneret med 55 % ethanol og højere koncentrationer opfyldte testkriterierne ved kontakttid på hhv. 30 sekunder og 5 minutter. Resultaterne fra den passive overfladetest viste, at udvrid fra testklude imprægneret med 55 %, 70 % og 85 % ethanol opfyldte testkriterierne ved kontakttid på 5 minutter. Udvid fra testklude imprægneret med 55 % og 70 % ethanol opfyldte testkriterierne ved kontakttid på 30 sekunder, mens udvid fra testklude imprægneret med 85 % kun i svingende grad opfyldte testkriterierne ved kontakttid på 30 sekunder.

#### *Resultater ved anvendelse af hypoklorsyre*

Ved dipslidemetodikken var der enten minimal (85 %) eller acceptabel (15 %) variation uafhængig af kludetype.

Testresultaterne ved anvendelse af dipslidemetodikken viste en ligefrem proportional reduktion i antallet af bakterier i testfeltet ved aftørring med stigende koncentration af hypoklorsyre i klude. Dette gjaldt for begge klude. Der blev fundet ingen eller  $\leq 2,5$  CFU/ $\text{cm}^2$  ved aftørring med klud imprægneret med hhv. 400 og 1.000 ppm hypoklorsyre .

Mht. flyttefelt viste testresultaterne generelt færre bakterier i flyttefelt ved aftørring med stigende koncentration af hypoklorsyre i klude og ingen eller  $\leq 2,5$  CFU/ $\text{cm}^2$  ved aftørring med klud imprægneret med hhv. 400 og 1.000 ppm hypoklorsyre. Dette gælder for begge klude.

Testresultater ved suspensionstests, som blev fundet ved anvendelse af udvrid fra testklude imprægneret med hypoklorsyre, viste at udvrid fra testklude imprægneret med 400 ppm og 1.000 ppm hypoklorsyre var i stand til at opfylde testkriterierne for alle testbakterierne ved kontakttid på 5 minutter.

Tilsvarende var udvid fra testklude imprægneret med 400 ppm og 1.000 ppm hypoklorsyre også i stand til at opfyldte testkriterierne ved den passive overfladetest ved kontakttid på 5 minutter.

## **2.10 Diskussion**

Ved projektets start omfattede de eksisterende europæiske standarder for test af desinfektionsmidler suspensionstests<sup>5,6</sup> og en passiv overfladetest med henstand uden mekanisk påvirkning<sup>7</sup>. Ingen af disse tests dækker en faktiske brugssituation, hvor man ønsker at desinficere overflader ved anvendelse af præimprægnerede desinfektionsklude. Dels vil en aftørring med en desinfektionsklud foregå på mindre end et minut, hvor udtørring/fordampning af den ved aftørringen afsatte væske til overfladen kan variere afhængig af væskens kemiske sammensætning, dels forholder ingen af testmetoderne sig til kludens fysiske egenskaber til at fjerne mikroorganismer fra overfladen ved den mekaniske indvirkning og/eller bindingen af mikroorganismerne i kluden.

En kluds fysiske egenskaber (fibersammensætning og struktur) har betydning for kludens evne til at binde mikroorganismer<sup>21</sup> og væske. Disse forhold tages der ikke højde for i de omtalte EN-standarder. Endvidere skal en klud også kunne afgive desinfektionsvæske, således at det muliggør en kontakttid mellem mikroorganisme og desinfektionsvæske, som afspejles i de nævnte suspensions- og overfladetests.

### **PHMB: et sandsynlig eksempel på molekylestørrelsens betydning for tolkning af tests**

En desinfektionskluds desinfektionseffekt vurderet ved den passive overfladetest underestimeres muligvis for nogen typer af biocider, idet der ikke tages højde for den mekaniske påvirkning af en overflade, når man bruger af en desinfektionsklud. Dette kan medføre en overdosering af biocidet man tilsætter en desinfektionsklud.

Ligeledes indebærer udførelsen af overfladedesinfektion med en desinfektionsklud en risiko for at flytte mikroorganismer fra et urent til et rent område<sup>19,20</sup>, hvilket ikke bliver adresseret i suspensionstest og passiv overfladetest<sup>5-7</sup>.

I denne forbindelse er PHMB et interessant modelstof som blev udvalgt ved udviklingen af testmetodikken, som et eksempel på et biocid der består af relativ store molekyler.

I en suspensionstest vil desinfektionsmidler, som består af relative store molekyler, let kunne komme til og dræbe mikroorganismerne i væskefase (suspension), mens dette vil være sværere når bakterierne sidder fast på en overflade. Suspensionstest viste, at PHMB har relativ god desinfektionseffekt over for vegetative bakterier, hvor vi fandt, at koncentrationen af PHMB på 0,1 % kunne inaktivere *S. aureus* i en sådan grad at testen blev bestået.

Den passive overfladetest med PHMB viste, at for at bestå testen, kræver det enten højere koncentration af PHMB eller en længere kontakttid. Da en lang kontakttid ofte rent praktisk ikke er muligt, vil testresultater fra den passive overfladetest typisk føre til, at koncentrationen af biocidet øges, og/eller at et produkt vil blive co-formuleret med høje koncentrationer af overfladeaktive stoffer for at fremskynde suspension af indtørrede testbakterier på testoverfladen.

Dette er et eksempel på at karakteristika ved testmetoderne kan påvirke udfaldet af testen, og i det konkrete tilfælde vil EN-testmetoderne begunstige biocider med lille molekylvægt.

Ved anvendelse af dipslidemetodikken var resultatet ved tests af PHMB-imprægnerede klude, at begge typer klude tilsat 1 % PHMB (og 0,1 % tensid) generelt reducerede antallet af alle fire vegetative testbakterier til det ønskede end-point, dvs.  $\leq 2,5$  CFU/cm<sup>2</sup> (for de Gram-negative testbakterier allerede ved 0,5 % PHMB).

Ved standardiseret aftørring med klude tilsat lavere koncentrationer end 1 % PHMB flyttede de PHMB-imprægnerede klude bakterier fra det kontaminede testfelt til det ikke-kontaminede "rene" flyttefelt, så flyttefeltet blev kontaminede i samme størrelsesorden som testfeltet.

### **Ethanol: et sandsynligt eksempel på betydningen af en flygtig væske på tolkning af tests**

Ligeledes for de ethanol-imprægnerede klude fremkom eksempler på andre omstændigheder ved testmetoderne som påvirker udfaldet.

Både ved suspensionstest og den passive overfladetest bestod ethanol ved de anbefalede koncentrationer på hhv. 70 % og 85 % ved en kontaktid på 30 sekunder.

Ved anvendelse af dipslidemetodikken kunne ikke påvises, at kludene tilsat ethanol reducerede antallet af testbakterier bedre end kontrolklude, da ethanol-imprægnerede klude ikke var mere effektiv end tilsvarende imprægnerede kontrolklude tilsat vand og detergent.

Under udførelsen af forsøgene med den standardiserede aftørring af laminatoverfladen med klude tilsat ethanol blev der iagttaget, at kludene havde en mærkbar anden mekanisk effekt end kontrolklude med tilsvarende imprægneringsgrad i vand med 0,1 % tensid, idet kludene tilsat ethanol havde en mærkbar lavere friktion mod overfladen.

Efter aftørring med ethanol var det desuden meget synligt på laminatpladerne, at ethanol fikserer testbakterierne der, hvor dråberne med testbakterier var afsat på testoverfladen, hvorimod kontrolklude spredte testbakterierne ud i jævn fordeling på laminatoverfladen.

Ved en standardiseret aftørring af laminatoverfladen med klude tilsat 70 % eller 85 % ethanol, var halvdelen af overfladen allerede synligt tør efter 20-30 sekunder. Dette peger på, at den reelle indvirkningstid med kontakt mellem testbakterier og ethanol ved anvendelse af en klud tilsat ethanol ligger under 30 sekunder.

De fundne resultater pegede i samme retning uanset kludetype eller type af test-bakterie.

Klude tilsat de høje koncentrationer af ethanol (70 % og 85 %) flyttede generelt ikke testbakterier fra det kontaminede testfelt til det ikke-kontaminede "rene" flyttefelt, hvilket forekom efter aftørring med ethanol klude tilsat lavere koncentrationer af ethanol (40 og 55 %v/v).

Studiet på ethanol-imprægnerede klude udført ved 300% imprægneringsgrad og er ikke udført med højere imprægneringsgrader. I EN 16615-standarden er det tilladt at anvende en meget høj imprægneringsgrad af en standardiseret testklud på op mod 900 %, hvilket formentligt ikke vil afspejle en i praksis udført overfladedesinfektion, da dette forudsætter at overfladen oversvømmes med desinfektionsvæske.

Videre studier på desinfektionseffekten af ethanolklude bør derfor gentages med henblik på at vurdere om der er en sammenhæng imellem imprægneringsgrad og ethanol kludenes desinfektionseffekten. Projektgruppen har efterfølgende modtaget dokumentation fra Wet Wipe der dokumenterer at 70 % ethanolklude med 300 % imprægneringsgrad ikke opfylder testkriterierne i EN 16615.

Der kan være flere teoretiske forklaringer på den fundne mindre reducerende effekt af de testede ethanol-imprægnerede klude ved den nyudviklede testmetode.

- Det er velkendt, at ethanol nedsætter overfladespændingen. Det kan derfor tænkes, at effekten i ethanol-imprægnerede klude medfører, at friktionen ved aftørring nedsættes, hvorved også den mekaniske effekt af selve aftørringen reduceres. En reduceret mekanisk effekt vil derfor efterlade flere udtørrede testbakterier på overfladen i testfeltet.
- Det er også velkendt, at ethanol har en fikserende effekt på proteiner og organisk materiale, herved også testbakterier. Denne fiksering vil kunne reducere optagelsen af testbakterier til kluden, og derved reducere desinfektionseffekten.
- En hurtig fordampning af de højere koncentrationer af ethanol (70 % og 85 %) vil bevirke at kontakttiden ikke vil være tilstrækkelig til at opnå den ønskede desinfektionseffekt på testbakterierne, som ellers findes ved suspensionstest og den passive overfladetest.

De observerede resultater ved den nyudviklede testmetode er formentligt en kombination af de tre omtalte teoretiske forklaringer.

Resultaterne for ethanol viser også, at det er nødvendigt at få undersøgt, om metoden er generel anvendelig. I forbindelse med projektets afslutning er den udviklede metodik blevet anvendt af et andet testlaboratorium, og overordnet set genfandt dette laboratorium tilsvarende resultater vedrørende ethanol.

### **Hypoklorsyre: et sandsynligt eksempel på betydningen af et high-level biocid for tolkning af test**

For klude imprægneret med hypoklorsyre var der derimod fuld overensstemmelse med resultater opnået ved suspensionstests og passive overfladetest. En inaktiverende effekt ved den standardiserede aftørring viste sig at være ved den forventede koncentration på 400 ppm hypoklorsyre. Dette gjaldt for begge typer af klude.

Ydermere var der ved standardiseret aftørring med klude tilsat hypoklorsyre i koncentration på 400 ppm ingen kontaminering fra det kontaminede testfelt til det ikke-kontaminede "rene" flyttefelt.

Den udviklede testmetode har forsøgt at afspejle en række forhold der anses for at være betydningsfulde i den daglige brug af desinfektionsklude. Testmetoden har primært haft fokus på dokumentation af den biocide komponent i klud-desinfektionsvæske-komplekset ved desinfektionsklude, og testmetode er tænkt som et redskab for producenter i forbindelse med udvikling af optimale kombinationer mellem biocid og klud. Testmetoden giver specifik information om det testede desinfektionsprodukt, idet metoden vurderer desinfektionseffekten af et specifikt kludemateriale imprægneret med en specifik desinfektionsvæske ved en specifik imprægneringsgrad. Testmetoden giver også mulighed for, ved ændring af betydende parametre i et klud-desinfektionsvæske-komplekset, at kvalificere effekten af disse parametre i en udviklingsfase af desinfektionskluden. Den primære parameter vil være valg af biocid og koncentration af denne i den tilsatte desinfektionsvæske, som tilføres desinfektionskluden, men andre parametre, så som imprægneringsgrad, kludens fibersammensætning og struktur, samt den praktiske udførelsen af aftørring i form af antal aftørringer og anvendt tryk på kluden ved aftørring kan også kvalificeres ved anvendelse af metoden. Testmetoden giver derfor mulighed for mere fleksibilitet end metoderne som anvendes i hhv. EN 13697 (passiv overfladetest) og den nyligt publicerede EN 16615-standard, hvor flere parametre ved klud-desinfektionsvæske-komplekset er prædefinerede.

Ved udførelsen af en test af desinfektionsklude vil der ud over, at der sker en reduktion i antallet af testbakterier ved udtørring, også altid være en umiddelbar absorption af bakterier i kluden, når denne føres henover overflader, hvilket vil afhænge af kludens fibersammensætning og struktur, samt imprægneringsgrad. Op mod 99,99 % (4 log<sub>10</sub>) af testbakterierne dør eller fjernes ved denne del af processen. En yderligere reduktion i antallet af bakterier vil afhænge af hvilken desinfektionsvæske, biocidkoncentrationen i væsken og hvor meget væske kluden afgiver til overfladen, samt indvirkningstid mellem væsken og bakterierne. Tilsammen resulterer disse

delelementer i en ikke lineær 2-faset log reduktion i antallet af bakterier, som vil være tilbage efter en overfladedesinfektion. I tilfælde af, at udtørningsproceduren og kludens absorberende effekt tilsammen har en stor reducerende effekt på antallet af bakterier, vil det ikke være muligt at opnå en yderligere  $\geq 5 \log_{10}$  reduktion jf. EN 16615, hvilket kan være et problem ved anvendelsen af EN 16615. Man vil derfor i disse tilfælde have svært ved at vise en tilstrækkelig effekt af selve desinfektionsvæsken, hvilket ikke vil være befordrende i et produktudviklingsperspektiv.

Den udviklede testmetode adskiller sig fra EN 16615 ved at anvende en dipslidemetodik i stedet for swabmetodik til kvantificering af bakterier på en overflade hhv. før og efter overfladedesinfektion ved aftørring.

Den udviklede testmetode giver principielt ikke mulighed for, at teste log reduktionen af bakterier på de kontaminede testfelter, hvorfor testmetoden kun bestemmer desinfektionseffekten i form af antal tilbageværende bakterier på alle testfelter. Dette er et konsekvent valg fra projektgruppens side, der afviger fra normen i EN-standarderne.

En problemstilling ved swabmetodikken som anvendes i EN 16615 er, at det er en meget omstændelig og tidskrævende metode at udføre i praksis, idet overfladen, hvorpå man ønsker at kvantificere antallet af bakterier, skal aftørres ("swabes") to på hinanden følgende gange med to våde vatpinde. Dette gør det meget besværligt at udføre testen rent tidsmæssigt, da det er næsten umuligt at overholde prædefinerede korte kontakttider og efterfølgende tider for neutralisation af desinfektionsvæsken. EN 16615-standardens giver mulighed for, at man kan teste ved kontakttider på mellem 1 og 60 minutter, med en obligatorisk kontakttid på 5 minutter, men test ved en kontakttid på 1 minut vil være meget besværligt at udføre testen rent tidsmæssigt, hvis ikke umuligt. I praksis vil man ofte kun opnå en kort kontakttid, formentligt på kun få minutter, hvorfor testen ikke vil afspejle en i praksis udført overfladedesinfektion i tilstrækkelig grad.

Ved anvendelse af dipslideteknikken opnås en væsentlig tidsbesparelse som gør det muligt, at foretage flere sideløbende tests, så det derfor vil være muligt at teste kombination af flere forskellige parametre på flere forskellige bakterier, eller som duplikat- eller triplikatprøver inden for en betydelig kortere tid, end hvis man skulle anvende EN 16615-standardens.

Ved den udviklede testmetode er det muligt at tilpasse metoden til 2, 4 eller 6 aftørringer af testoverflader, hvilket gør metoden mere fleksibel end EN 16615, hvor aftørringen af testoverfladen er fastlåst til 2 aftørringer af et testfelt og 3 flyttefelter, hvilket ikke nødvendigvis afspejler praksis eller producentens anvisning.

Aftørring af en testoverflade tager typisk 10-20 sekunder afhængig af hvor mange gange desinfektionskluden føres hen over testoverfladen. Under udviklingen af metoden har projektgruppen besluttet at aftørre testoverfladen ved at føre klud 2 gange frem og tilbage (4 aftørringer i alt over test og flyttefelt). Testmetoden adskiller sig derfor også her principielt fra EN 16615 ved at alle testfelter (kontaminede og ikke kontaminede) fungerer som et flyttefelt for bakterier, idet testkluden føres henover et givent sted på overflade 4 gange, hvorved kluden vil kunne afsætte bakterier på det kontaminede testfelter hvorfra der allerede er fjernet bakterier ved første aftørring. Det er derfor ved metoden principielt ikke muligt at teste log reduktionen af bakterier på de kontaminede testfelter, hvorfor testmetoden kun bestemmer desinfektionseffekten i form af antal tilbageværende bakterier på alle testfelter. Dette er et konsekvent valg, der afviger fra normen i EN-standarderne, som tager udgangspunkt i Chick-Watson's lineær log reduktions kinetik<sup>23</sup>, hvilket betyder at EN-standarderne udelukkende måler på desinfektionseffekten for desinfektionsmidler i forhold til biocid koncentrationen og indvirkningstid.

Undersøgelser foretaget af Wet wipe viser, at et udvalg af typiske desinfektions- og mikrofiberklude afgiver 1-2 gram vand pr. kvadratmeter; når de er fugtige (250% imprægnering) og op til 8-10 gram pr. kvadratmeter; når kludene er drivende våde (> 500% imprægnering). Imprægneringsgraden af desinfektionsklude er derfor en afgørende parameter. I EN 16615-standarden er det tilladt at anvende en meget høj imprægneringsgrad af en standardiseret testklud på op mod 900 %, hvilket formentligt ikke vil afspejle en i praksis udført overfladedesinfektion, da dette forudsætter at overfladen oversvømmes med desinfektionsvæske.

Det er desinfektionsmiddelproducentens ansvar at levere valide testdata til myndigheder til vurdering af relevante end-points, som udover indvirkningstid og drabseffekt mod specifikke mikroorganismer også bør omfatte imprægneringsgrad af desinfektionsklud, overfladeareal, der kan desinficeres med en klud og antal anbefalede overtørringer af en given overflade.

Ved overfladedesinfektion med klude er foruden biocidkoncentrationen også mængden af desinfektionsvæske, der påføres testoverflade en bestemmende faktor for desinfektionseffekten. Dette er i modsætning til den passive overfladetest (EN13697), hvor det primært er biocidkoncentrationen og indvirkningstiden, der er bestemmende faktorer, fordi mængden af desinfektionsvæske på testoverfladen er fastdefineret i metoden.

Det er et lovkrav i Biocidforordningen, at producenten oplyser den mængde af desinfektionsmiddel der skal påføres en overflade for at opnå en ønsket desinfektionseffekt. Dette vil typisk for desinfektionsklude betyde, at producenten skal oplyse hvor mange m<sup>2</sup>, som kan desinficeres ved aftørring med én klud. På dette grundlag må producenten beregne et eksponeringsscenarie, der vil afgøre om mængden af desinfektionsvæske på overflade udgør en acceptabel risiko for bruger, patient og miljø.

Ved produktudviklingen af en desinfektionsklud vil anvendelse af den udviklede testprotokol gøre det muligt at afprøve flere imprægneringsgrader af testklud, som vil være bestemmende for den afgivne mængde desinfektionsvæske til testoverflade, hvilket vil være et krævet end-point til et biocid produkt dossier. Endvidere vil det være muligt ved anvendelse af testprotokollen at undersøge betydningen af antal aftørringer med en klud, idet man vil kunne teste ved forskellige antal aftørringer ud over de i projektet fastdefinerede 4 gange (2 gange frem og tilbage).

Wet Wipe har ved efterfølgende test af desinfektionsklude på Danmarks Teknologiske Institut efter testmetoden observeret en stor variation på den afgivne mængde desinfektionsvæske fra klude med samme imprægneringsgrad fra forskellige aftørringsforsøg. Man bør derfor udføre sideløbende undersøgelser for at belyse dette i en produktudviklingssituation.

Ud fra de erfaringerne, som blev gjort ved projektet, kan der være yderligere problematikker ved anvendelsen af EN 16615-standard.

I EN 16615-standarden er, at den definerede overflade, som obligatorisk skal anvendes i testprotokollen, er en vinyloverflade ("PVC with PUR coating"), som primært anvendes til gulvoverflader. Denne type overflade vil derfor formentligt ikke være repræsentativ, i forhold til hvilke overflader man typisk ønsker at desinficere på hospitaler, hvor CEI kun i særlige tilfælde anbefaler desinfektion af gulve.

Ved EN 16615-standarden har man prædefineret et tryk på 2,3-2,5 kg, hvormed man udfører aftørringen af overfladen med. CEI's erfaring fra projektet er at dette er et stort tryk, da resultater fra projektet fandt at et tryk på 0,5-1 kg var typisk for en aftørring udført af flere forskellige forsøgspersoner.

De fundne resultater viser, at det er muligt at udarbejde en valid og arbejdstidsbesparende testmetode til at vurdere desinfektionseffekten af en desinfektionsklud i en brugslignende situation. Metodens validitet og stabilitet bør dog i fremtiden vurderes i relation med den nyligt publicerede EN 16615-standard.

Den anvendte dipslidemetodik har forsøgt at afspejle en række forhold der anses for at være betydningsfulde i den daglige brug af desinfektionsklude. Fokus har været på at tydeliggøre effekten af den biocide komponent i desinfektionsklude. Derfor kan resultaterne af de foretagne forsøg ikke tolkes i relation til de danske nationale anbefalinger for brug af desinfektionsklude. Disse anbefalinger fastslår som udgangspunkt at overfladedesinfektion bør foretages som en to-trins proces; dvs. *først* rengøring og *derefter* desinfektion med en desinfektionsklud.



# 3. Hvad er de forventede miljømæssige effekter, den teknologiske nyhedsværdi og det forretningsmæssige potentiale

Ved at have en standardiseret metodik til at vurdere desinfektionseffekten af desinfektionsklude, vil producenterne kunne optimere kludes produktdesign, herunder fibersammensætning og struktur. Dette vil kunne føre til et mere hensigtsmæssigt, rationelt og målrettet valg af biocider (herunder valg af de mindst skadelige biocider), og at man benytter den mindst mulige koncentration af biociderne, som skal tilsættes desinfektionsklude for at opnå den ønskede desinfektionseffekt.

## 3.1 Perspektivering af den forventede teknologiske effekt

Overordnet har projektet haft som formål at formulere en testprotokol, som i højere grad end det hidtidige grundlag tager udgangspunkt i brugssituationen ved udførelse af overfladedesinfektion. Ved at fokusere på dette aspekt opnås en viden, som kan anvendes både af myndigheder, producenter og brugere på et fælles grundlag. Projektgruppen mener, at den beskrevne testprotokol belyser, at det er muligt at angive en metode, som er mindre kompleks og mere generaliserbar end tidligere, men samtidig bevarer relevant information om desinfektionseffekten af desinfektionsklude. Indtil nu vurderes desinfektionskludes effekt primær på egenskaber knyttet til desinfektionsvæsken, men ved at fokusere på brugssituationen er det muligt, at vurdere den kombinerede effekt af desinfektionsvæske og klud. Ydermere er parametre relateret til brug (fx størrelsen af det anvendte tryk og indvirkningstid) inddraget i testprotokollen. Endvidere er vurderingen af desinfektionseffekten blevet udvidet, idet aspektet vedrørende risiko for kontaminering af ikke-kontaminerede overflader også er inddraget. Herved opnås et bedre grundlag for vurdering relateret til brugssituationen. Dette forhold er nu også anerkendt som betydende i europæisk sammenhæng, da det er en del af den nylig udkommet standard for desinfektion af overflader ved mekanisk påvirkning (EN 16615).

Den beskrevne arbejdsproces for udførelsen af testprotokollen er baseret på de eksisterende EN standarder. Udarbejdelsen af testprotokollen og anvendelse af dipslides viser, at det er muligt at optimere den anvendte arbejdstid, som det tager at udføre testen. Dette muliggøre, at man kan udføre flere sideløbende tests, hvilket vil kunne effektivisere produktudviklingsarbejdet. Dette muliggør en mere effektiv ressource-udnyttelse især i afklaringen af, hvorvidt desinfektionseffekten af en given kombination af desinfektionsvæske og klud er hensigtsmæssigt.

Projektet har formuleret en operationel måde at bedømme den samlede desinfektionseffekt - dvs. evnen til at reducere antallet af mikroorganismer både på det initialt kontaminerede overflader og tilstødende initialt ikke-kontaminerede overflader. Denne vinkel er taget med udgangspunkt i internationale synspunkter om relevante testkriterier.

### **3.2 Perspektivering af det forretningsmæssige potentiale**

Testprotokollen giver mulighed for en mere ressourcemæssig optimering ved udvikling af desinfektionsklude, og testprotokollen kan anvendes som vurderingsredskab både af myndigheder, producenter og brugere. Da den beskrevne testprotokol giver mulighed for at optimere tidsforbruget i relation til test, vil dette aspekt kunne understøtte det forretningsmæssige potentiale. Samtidig antages det, at den fælles forståelse for testprotokollen vil understøtte producenter og leverandører i kommunikationen til brugere og myndigheder.

Projektgruppen vil fremføre de opnåede resultater i internationalt anerkendte fora - videnskabelige tidsskrifter samt europæiske standardiseringsorganer. Dette forhold vurderes også at kunne understøtte danske virksomheder i den internationale konkurrence.

### **3.3 Perspektivering af de forventede miljømæssige effekter**

Projektet har belyst flere faktorer, der kan understøtte en mere rationel miljø- og arbejdsmiljømæssig anvendelse af desinfektionsmidler. Betydningen af det anvendte tryk, hvormed kluden presses mod overfladen, er belyst, og således er der opnået større viden om en væsentlig faktor vedrørende brugssituationen. Ligeledes er imprægneringsgradens betydning belyst, og disse data kan anvendes i en mere optimal og rationel fastlæggelse af den nødvendige imprægneringsgrad under fremstillingen af desinfektionsklude.

Projektet har belyst en række faktorer, som kan anvendes i en fremtidig beskrivelse og revision af standardiseret metode til test af desinfektionsklude. Den beskrevne testmetode muliggør sammenlignende tests af klude med desinfektionsmidler inden for forskellige typer af biocider med forskellig desinfektionseffekt. En test protokol baseret på den beskrevne metode giver mulighed for på et bedre grundlag at vurdere biocider fremført med klud.

# 4. Konklusion og perspektivering af projektets resultater

Projektgruppen er lykkedes med at udvikle et forslag til en ny testprotokol for vurdering af desinfektionseffekten af desinfektionsklude. Den udviklede testprotokol tager udgangspunkt i en brugsituation, som afspejler de faktiske forhold under brug, dvs. en realistisk kontakttid, en realistisk udførelse, samt en vurdering af risikoen for utilsigtet virkning på grund af flytning af mikroorganismer.

Den udviklede metode er afprøvet på en række mikroorganismer, som er obligatoriske i andre tilsvarende test til vurdering af desinfektionseffekten af desinfektionsmidler. Den anvendte dipslidemetodik bedømmes som let anvendelig og den muliggør at skelne imellem effekter som overvejende kan tilskrives drabseffekten af desinfektionsvæsken, samt den anvendte klud mekaniske effekt af det anvendte kludemateriale. Endvidere bedømmes metoden til at være ressource-effektiv i forhold til eksisterende anvendte standarder for dokumentation af desinfektionsmidlers desinfektionseffekt. Metoden vurderes til at være valid, og give reproducerbare resultater.

De fundne resultater viser også vigtigheden af, at der inddrages flere forskellige metodikker, når der skal foretages en samlet vurdering af desinfektionsmidlers desinfektionseffekt. Dette har især betydning, når desinfektionsvæskens effekt kombineres med applikationsmetoden - i dette tilfælde en klud. Dette forhold er også erkendt af europæiske myndigheder, som i løbet af projektforløbet har udviklet og publiceret en 4-fjeld test (EN 16615), som til dels minder om projektets testprotokol i og med at denne også bedre afspejler brugsituationen. EN 16615 skal fremover inddrages ved vurdering af desinfektionsklude<sup>4,22</sup>.

Den udviklede metodik giver producenter mulighed for på en hurtig og valid måde at få et overblik over effektiviteten af en desinfektionsklud, hvorved man i en produktudviklingsfase vil kunne udføre flere sideløbende test til optimering af en given desinfektionsklud.

I slutningen af projektet blev den udviklede metode afprøvet i et andet uafhængigt laboratorium, som oplyste at de fandt metoden anvendelig og brugbar.

Testmetoden bør dog yderligere afprøves med inddragelse af endnu flere testparametre end de i dette projekt medtagne, fx luftfugtighed, anvendt tryk ved aftørring, antal aftørringer og flere forskellige imprægneringsgrader af testkludene. Metodens egnethed bør også vurderes i forhold til andre slags overflader, fx metal, porcelæn mm. Endvidere bør andre mikroorganismer testes, fx svampe, så som *Candida* og *Aspergillus* samt sporedannende bakterier (fx *Clostridium difficile*, *Bacillus cereus* og *Bacillus subtilis*) og virus (fx adenovirus og murin norovirus.).

#### **4.1 Næste trin**

CEI vil offentliggøre den udviklede standardiserede testmetode og -protokol, som vil lægges frit tilgængeligt frem for alle interessenter på CEI's hjemmeside. CEI vil, i forbindelse med CEI's fremtidige vurderinger af desinfektionsmidler, opfordre producenter af desinfektionsklude, til at benytte testmetoden til produktudvikling og ved dokumentation af desinfektionskludes desinfektionseffekt. Endvidere indgår nu test ved EN 16615 standarden som en obligatorisk del af CEI's vurdering af desinfektionsklude. CEI vil opfordre Miljøstyrelsen til det samme, når dette bliver aktuelt.

CEI forventer desuden at publicere testmetodikken og eventuelt sammenligningen af testresultater af udvid fra en desinfektionsklud ved hjælp af modificerede EN 1276/13727- og EN 13697-tests med resultater fundet ved den ny testmetode.

# 5. Referencer

- 1 Central Enhed for Infektionshygiejne. Nationale Infektionshygiejniske Retningslinjer for  
desinfektion i sundhedssektoren. Statens Serum Institut, 2014.
- 2 Sattar SA, Maillard J-Y. The crucial role of wiping in decontamination of high-touch  
environmental surfaces: Review of current status and directions for the future. *Am J Infect  
Control* 2013; **41**: S97–104.
- 3 Europa-Parlamentets og rådets forordning (EU). Nr. 528/2012 af 22. maj 2012 om  
tilgængeliggørelse på markedet og anvendelse af biocidholdige produkter.
- 4 ECHA. Transitional Guidance on the Biocidal Products Regulation. Transitional Guidance  
on Efficacy Assessment for Product Types 1-5, Disinfectants. Draft, December 2015.
- 5 Dansk Standard. DS/EN 1276:2009. Kemiske desinfektionsmidler og antiseptiske midler -  
Kvantitativ suspensionsprøvning til vurdering af bakteriedræbende effekt af kemiske  
desinfektorer og antiseptiske produkter anvendt i fødevareindustrien, husholdninger og  
institutioner , 2. udgave. 2009.
- 6 Dansk Standard. DS/EN 13727:2012+A2:2015. Kemiske desinfektionsmidler og antiseptika  
- Kvantitativ suspensionsprøvning til evaluering af desinfektionsmidlers bakteriedræbende  
virkning inden for det medicinske område - Prøvningsmetode og krav (fase 2, trin 1), 4.  
udgave. 2015.
- 7 Dansk Standard. DS/EN 13697:2015. Kemiske desinfektionsmidler og antiseptika -  
Kvantitativ prøvning af ikke-porøse overflader til evaluering af bakterie- og/eller  
svampedræbende virkning af kemiske desinfektionsmidler til brug inden for  
fødevareområdet, industrien, i hus, 2. udgave. 2015.
- 8 Maillard J-Y. Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage,  
policies, and perceived problems. *Ther Clin Risk Manag* 2005; **1**: 307–20.
- 9 Dansk Standard. DS/EN 16615:2015. Kemiske desinfektionsmidler og antiseptika -  
Kvantitativ prøvningsmetode til evaluering af bakterie- og svampedræbende virkning på  
ikke-porøse overflader med mekanisk behandling ved brug af servietter inden for det  
medicinske område - Pr, 1. udgave. 2015.
- 10 Central Enhed for Infektionshygiejne. Principper for anvendelse af desinfektionsmidler i  
sundhedssektoren i Danmark. 2013.
- 11 Salo S, Laine A, Alanko T, Sjöberg AM, Wirtanen G. Validation of the microbiological  
methods hygicult dipslide, contact plate, and swabbing in surface hygiene control: a Nordic  
collaborative study. *J AOAC Int*; **83**: 1357–65.
- 12 Mulvey D, Redding P, Robertson C, *et al.* Finding a benchmark for monitoring hospital  
cleanliness. *J Hosp Infect* 2011; **77**: 25–30.
- 13 Malik RE, Cooper RA, Griffith C. Use of audit tools to evaluate the efficacy of cleaning  
systems in hospitals. *Am J Infect Control* 2003; **31**: 181–7.
- 14 Dancer SJ. How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards  
for surface hygiene in hospitals. *JHospInfect* 2004; **56**: 10–5.
- 15 Dancer SJ, White L, Robertson C. Monitoring environmental cleanliness on two surgical  
wards. *Int J Environ Health Res* 2008; **18**: 357–64.
- 16 Dancer SJ, White LF, Lamb J, Girvan EK, Robertson C. Measuring the effect of enhanced  
cleaning in a UK hospital: a prospective cross-over study. *BMC Med* 2009; **7**: 28.
- 17 White LF, Dancer SJ, Robertson C, McDonald J. Are hygiene standards useful in assessing  
infection risk? *Am J Infect Control* 2008; **36**: 381–4.
- 18 Lewis T, Griffith C, Gallo M, Weinbren M. A modified ATP benchmark for evaluating the  
cleaning of some hospital environmental surfaces. *J Hosp Infect* 2008; **69**: 156–63.
- 19 Williams GJ, Denyer SP, Hosein IK, Hill DW, Maillard J-Y. Limitations of the efficacy of  
surface disinfection in the healthcare setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; **30**:  
570–3.
- 20 Cheng KL, Boost MV, Chung JWY. Study on the effectiveness of disinfection with wipes  
against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and implications for hospital hygiene.

- Am J Infect Control* 2011; **39**: 577–80.
- 21 Siani H, Cooper C, Maillard J-Y. Efficacy of ‘sporicidal’ wipes against *Clostridium difficile*.  
*Am J Infect Control* 2011; **39**: 212–8.
- 22 Central Enhed for Infektionshygiejne. Nye krav som indgår i CEI’s vurdering af  
desinfektionsmiddelholdige klude. *CEI-nyt* 2016.
- 23 Chick H. An Investigation of the Laws of Disinfection. *J Hyg (Lond)*. 1908 Jan;8(1):92-158.
- 24 Watson HE. A Note on the Variation of the Rate of Disinfection with Change in the  
Concentration of the Disinfectant. *J Hyg (Lond)*. 1908 Sep;8(4):536-42.

## Bilag 1: Metode til test af desinfektionskludes effekt ved aftørring af laminat

### Resumé

Ved test af desinfektionskludes effekt ved aftørring af laminat skal det dokumenteres, hvorvidt desinfektionskluden har en væsentligt bedre effekt end en tilsvarende klud uden desinfektionsvæske, samt om desinfektionskludens effekt resulterer i en reduktion af testbakterien til  $\leq 2,5$  CFU/cm<sup>2</sup>.

Testen af desinfektionskludes effekt forudsætter, at der forefindes et egnet neutraliseringsmiddel til det pågældende desinfektionsvæske, enten i de anvendte dipslides eller som påvist ved fx en suspensionstest som EN 1276/EN 13727.

Før den egentlige aftørringstest skal kludene gennem følgende prætest:

Der testes for kludenes evne til at holde på væsken i den pakkestørrelse, de distribueres i.

Kludenes indhold af kim skal testes og vurderes inden aftørringstesten.

I de følgende afsnit gennemgås, hvorledes laminatplader og klude forberedes, før at den endelige aftørringstest i afsnittet "Test af desinfektionsklude".

### Forkortelser

BSA:	Bovin serum albumin
m	Masse [g]
min.	Minutter
rpm	Rounds per minut - rotationer pr minut
sek.	Sekunder
TSA	Tryptone soya agar
V	Væskeindhold i klud

### Forberedelse af laminatplader

Laminatplader af typen DU-1188 VV mærkes med spritfast pen 4\*6 felter á 1,8 mm \* 1,8 mm (dimensioner som mikrotitterbakker). Felterne nummereres fra 1 til 24:

	◀1,8 cm▶	◀1,8 cm▶	◀1,8 cm▶	◀1,8 cm▶	◀1,8 cm▶	◀1,8 cm▶
▲ 1,8 cm ▼	1	2	3	4	5	6
▲ 1,8 cm ▼	7	8	9	10	11	12
▲ 1,8 cm ▼	13	14	15	16	17	18
▲ 1,8 cm ▼	19	20	21	22	23	24

De mærkede laminatplader skæres ud ca. 1 cm fra markeringen og UV-behandles i sterilbænk i 20 min. Herefter håndteres laminatpladerne aseptisk ind til brug.

### Opløsninger og reagenser til test af desinfektionsklude

Til testen skal anvendes tre sterile opløsninger og en agar: 0,06 % BSA opløsning (svarende til rene forhold i EN 1276/EN 13727 og 13697), fortyndingsreagens, evt. et egnet neutraliseringsreagens til den desinfektionsvæske, som de færdigpakkede klude indeholder og TSA.

#### 0,06 % BSA, 100 ml (lysfølsom)

Bovin serum albumin (Sigma A4503)	0,060 g	CAS # 9048-46-8
MilliQ vand	ad 100,0 ml	

Sterilfiltreres (22 µm).

**Opbevaring:** 5 °C

**Holdbarhed:** 1 måned jf. EN 1276/EN 13727 og EN 13697.

#### Fortyndingsreagens, 1 liter

Tryptone	1,0 g	CAS # 91079-40-2
NaCl	8,5 g	7647-14-5
MilliQ vand	ad 1000 ml	

Autoklaveres. pH kontrolleres 7,0±0,2 ved 20° C.

**Opbevaring:** 5 °C.

**Holdbarhed:** Ikke angivet i standarderne for EN 1276/EN 13727 og EN 13697.

### Neutraliseringsreagenset skal være egnet til den specifikt testede desinfektionsvæske verificeret efter EN 1276/EN 13727.

Ved forsøg blev det konstateret, at hvis man anvender dipslides med TSA ager med neutralisering, var yderligere neutralisering ved test af ethanol og hypoklorsyre ikke nødvendigt. For biocidet PHMB var det ikke muligt at neutralisere PHMB ved at indstøbe et neutraliseringsmiddel i dipslideagaren. Derfor udvikledes en alternativ metode, hvor dipslides uden tilsat neutraliseringsreagens i stedet efterfølgende blev skyllet med neutraliseringsreagensen.

Neutraliseringsreagens til PHMB

CAS #



Saponin	25,0 g (50 g/l)	8047-15-2
Tween 80	2,5 g (5 g/l)	9005-65-6
MilliQ vand (autoklaveret)	ad 500 ml	

pH indstilles til 7,0. Sterilfiltreres.

**Opbevaring:** 5 °C.

**Holdbarhed:** Ikke angivet i EN 1276/EN 13727. Mindst 1 måned på køl ved korrekt håndtering. Dvs. at flasken tages ud fra køl, den ønskede mængde hældes fra, og flasken sættes tilbage.

### Diplides

Der anvendes diplides med TSA ager med og uden neutralisering fra firmaet VWR - Bie & Berntsen A/S. Opbevares på køl ind til dagen før brug. Holdbarheden er noteret på emballagen og er typisk et par måneder.

TSA, 1 liter		CAS#
Tryptone	15,0 g	100209-45-8
Soya peptone	5,0 g	91079-46-8
NaCl	5,0 g	7647-14-5
Agar	15,0 g	9002-18-0

Autoklaveres. pH kontrolleres 7,0±0,2 ved 20° C.

**Opbevaring:** 5 °C.

**Holdbarhed:** Ikke angivet i standarderne for EN 1276/EN 13727 og EN 13697.

### Forberedelse af klude

Væskeindholdet (V) i en klud defineres relativt i forhold til kludens vægt, fx 2 gange kludens vægt i væske (V = 2). Den aktuelle fordeling af væske i pakker med klude kontrolleres for størrelsesordenen af forskellen mellem V i toppen og bunden af en pakke:

**Dag 0:** En pakke tørre klude håndteres med steril pincet (eller tilsvarende handsker) og nummereres med vandfast, eventuelt spritfast, pen. Til brug for klude, der skal testes med ethanol anvendes ethanolfast pen.

Vægten af hver klud (1 decimal) noteres.

Kludene tilsættes enkeltvis eller i mindre stakke den valgte mængde desinfektionsvæske tilpasset den enkelte kluds vægt og stables i nummerorden. Stablen af klude med desinfektionsvæske pakkes og forsegles. Pakken lagres med en markering af den side, der vender opad, således at kludene lagres som en stabel med øverste og nederste klude.

**Dag 1:** Efter 1 døgn åbnes pakken med klude, og ved håndtering med pincet vejes og noteres vægten af kludene igen én for én. Hvis kludene har lækket væske i pakken noteres dette. Kludene stables igen i samme rækkefølge og pakkes i samme stak som Dag 0. Pakken forsegles og lagres med en markering af den side, der stadig vender opad, således at kludene lagres som en stabel med øverst og nederst som Dag 0.

**Dag 7:** Pakken med klude åbnes, og ved håndtering med pincet vejes og noteres vægten af kludene igen én for én. Det noteres, hvis kludene har lækket væske i pakken. Kludene stables igen i samme rækkefølge og pakkes i samme stak som Dag 0.

For hver klud beregnes for Dag 1 og Dag 7 væskefordeling i forhold til den væskemængde, der blev tilsat på Dag 0, og tallene præsenteres med kludenes nummer fra oven i stakke ud ad x-aksen, og % af den tilsatte væskemængde på Dag 0 op ad y-aksen:

$$\% \text{ af tilsat væske i klud på Dag 1} = \frac{m(\text{klud med væske på Dag 1}) - m(\text{tør klud Dag 0})}{m(\text{klud med væske på Dag 0}) - m(\text{tør klud Dag 0})} \times 100 \%$$

$$\% \text{ af tilsat væske i klud på Dag 7} = \frac{m(\text{klud med væske på Dag 7}) - m(\text{tør klud Dag 0})}{m(\text{klud med væske på Dag 0}) - m(\text{tør klud Dag 0})} \times 100 \%$$

I fald væskefordelingen har ændret sig mere end et procentpoint fra Dag 1 til Dag 7 bør pakningen og vejningen gentages med en uges mellemrum ind til væskefordelingen har stabiliseret sig.

**Desinfektionsklude** tilsættes producentens væske indeholdende biocidet og hjælpestoffer (tensider, buffer m.v.).

**Kontrolklude** tilsættes samme mængde væske som desinfektionsklude af en væske, der indeholder tilsvarende koncentrationer af hjælpestoffer uden desinfektionsmidlet. Hvis ikke hjælpestofferne inkluderer et tensid, skal dette tilsættes væsken til kludene.

## Kimtest af klude

### Kimtest uden lagring

Pakke med tørre klude sprittes af og åbnes i sterilbænk med steril saks. Et stykke klud klippes af og lægges i 50 ml sterilt falconrør med ca. 20 ml fortyndingsreagens. Der mixes 30 sek. 500 µl af væsken udplades på TSA og inkuberes ved 37°C. Ligeledes lægges et stykke våd klud på TSA. 500 µl rent fortyndingsreagens udplades på TSA til sideløbende kontrol af sterilitet.

### Kimtest efter lagring med kontrolvæske

En pakke med kontrolklude åbnes efter en uges lagring ved stuetemperatur. Med plastpose udtages en kontrolklud, åbningen af posen placeres i et sterilt 50 ml falconrør og kludens væske vrides ud i posen og ned i falconrøret. Heraf udtages 2\* 500 µl til spredning på TSA agarplader, der inkuberes 2 døgn ved 37°C.

Ved fund af kim udføres en kontrolaftørring på en ren og forberedt laminatplade uden testbakterie til undersøgelse af, i hvilken grad kim fra kluden forurener ved aftørringstesten. Eventuelle problemer med kim i kontrolkulde kan forsøges afhjulpet ved lagring af pakkerne med kontrolklude på køl straks efter tilsætning af væske.

### Test af desinfektionsklude

Desinfektionskludenes effekt testes over for én testbakterie ad gangen, der under rene forhold (0,03 % BSA) er tørret ind på overfladen af forberedte laminatplader. Desinfektionskludenes effekt vurderes på testbakterierne *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Enterococcus hirae* ATCC 10541 og *Escherichia coli* ATCC 10536.

Kontrolklude og desinfektionsklud skal parvis testes samme dag med samme testsuspension. I alt skal testes 4 kontrolklud og 4 desinfektionsklude for hver koncentration af desinfektionsmiddel, hvor alle klude skal være lagret minimum 1 uge før testens Dag 3.

**Dag 1:** Testbakterien tages fra en frysekultur til TSA agarplade og inkuberes ved 37°C i 18-24 timer.

**Dag 2:** Testbakterien ompodes til ny agarplade og inkuberes ved 37°C i 18-24 timer.

Diverse rør, plader og dipslides stilles ved stuetemperatur og mærkes.

**Dag 3:** Hvis pakkerne med klude ikke opbevares ved stuetemperatur, tages de nu ind til temperering. Opløsningerne tages frem og fyldes i de respektive rør til temperering.

**Testsuspensionen (T)** fremstilles ved at opslæmme rigeligt af testbakterien fra kulturen som har været inkuberet over natten i et rør med ca. 4,5 ml fortyndingsreagens, vortexe grundigt og indstilles til en OD svarende til 10<sup>8</sup> CFU/ml. Skal bruges inden for 2 timer.

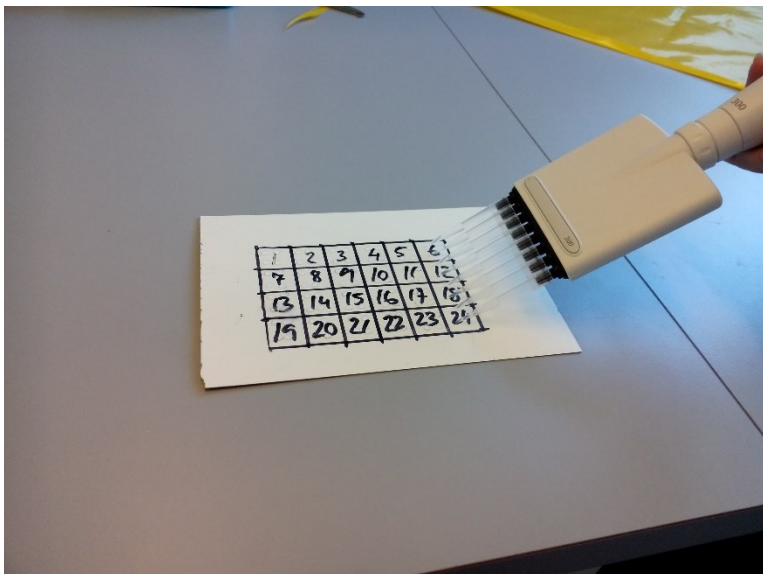
### CFU bestemmelse

Der laves en 10 gangs fortyndingsrække af T med 0,5 ml T + 4,5 ml fortyndingsreagens ind til T<sup>-7</sup>. 2\* 0,5 ml af T<sup>-7</sup> og 2\* 0,5 ml af T<sup>-6</sup> spredes på hver sin TSA plade.

**Forsøgssuspension** (beregnet minimum 1 ml pr laminatplade): 3 ml 0,06 % BSA + 3 ml T blandes i sterilt rør, stopur startes (2 min.) og der vortexes.

**Valideringssuspensionen** blandes på samme måde af 1 ml 0,06 % BSA + 1 ml 10<sup>-4</sup> fortynding af T.

Efter de 2 min. vortexes forsøgs- og valideringssuspensionen kort, overføres til sterilt reservoir og fordeles straks med 8-kanal pipette til de forberedte laminatplader i dråber á 10 µl forsøgssuspension med 4 dråber i hvert af felterne 1 – 5; 7 -11; 13 -17 og 19 – 23 (dvs. alle felter undtagen søjlen længst til højre). Separat laminatplade til bestemmelse af genfindning af testbakterien forberedes ligeledes. Af valideringssuspensionen laves på samme måde to laminatplader. Det anbefales altid at lave mindst en ekstra laminatplade med suspension, end der forbruges i det planlagte forsøg.



Laminatpladerne med forsøgssuspension og valideringssuspension placeres i varmeskab ved 37°C til tørring i maksimalt 60 min.

Engangsunderlag fastgøres til bordet (plastpose til risikoaffald tapet fast). Skal skiftes efter hver aftørring for at undgå krydskontamination.



De indtørrede laminatplader tages ud af varmeskabet.

En laminatplade tapes langs hele kanten fast til engangsunderlaget. Med steril pincet udtages en færdigpakket klud fra en tempereret pakke og lægges til venstre for laminatpladen (ved søjlen med felt numrene 1, 7, 13 og 19). Klodsen på 10,5 cm \* 10,5 cm, 500 g (+/- 20 g), placeres oven på kluden. Med to sterile pincetter tages der fat i begge ender af kluden.

Stopuret startes, når **aftørringen** begynder:

Kluden med klodsen ovenpå trækkes med mest muligt horisontalt træk i ret linje frem hen over laminatpladen og helt forbi (højre søjle med felt numrene 6, 12, 18 og 24), dernæst i ret linje helt tilbage til venstre for laminatpladen. Dette gentages inden stopuret viser 20 sek. (+/- 5 sek.), hvilket betegnes som aftørringstiden.



Herefter står laminatpladen til tørre ind til stopuret viser 5 min.

### **Prøvetagning**

Ved 5 min. (+/-10 sek.) begyndes prøvetagningen. Dipslides presses 5 sek. mod laminatoverfladen, hvor der anvendes én side af en dipslide for hver af laminatpladens fire første søjler (kontaminerede) (fire søjler = 2 dipslides), og én side af en dipslide til flyttefeltet. Genfindning af testbakterien fra en ikke-aftørret laminatplade kan testes med en steril bomuldsvatpind fugtet med neutraliseringsreagens på et felt ved swab i 10 sek. bomuldsswabben klippes af og ned i et rør med 2 ml neutraliseringsreagens. En tør bomuldsvatpind bruges herefter til swab af samme felt i 10 sek. og klippes ligeledes ned i samme rør. Røret lukkes og vortexes 30 sek. ved 250 rpm. Rør med vatpinde henstår i 5 min. neutraliseringstid. Herefter vortexes rørene kort, fortyndes og fra  $10^{-3}$  og  $10^{-4}$  fortyndingerne udplades 2 \*500  $\mu$ l på TSA plader.

### **Validering af neutraliseringen i dipslides**

Til valideringen anvendes tre laminatplader, A, B og C:

A: Ren og UV behandlet laminatplade.

B: Laminatplade med indtørret valideringssuspension.

C: Ren og UV behandlet laminatplade.

**Positiv kontrol:** En dipslide trykkes først på begge sider 5 sek. mod laminatplade A. Dernæst trykkes denne dipslides mod laminatplade B.

**Neutraliseringskontrol:** Den rene og UV behandlede laminatplade C aftørres med den desinfektionsklud med højest koncentration af det testede desinfektionsmiddel, som beskrevet under aftørringen. Når stopuret når 5 min. trykkes begge sider af en dipslide mod denne desinfektionsaftørrede laminatplade C og dernæst trykkes begge sider mod laminatplade B. Væksten på dipsliden med valideringskontrol og dipsliden med positiv kontrol skal ligge på samme niveau. Hvis væksten på valideringskontrollen er lavere end den positive kontrol, kan det forsøges at dykke dipslides i en egnet neutraliseringsvæske få minutter før prøvetagning (for hele forsøget). Laminatpladerne kasseres og må ikke genbruges. Dipslides og TSA pladerne inkuberes ved 37°C.

**Dag 4 og Dag 5**

Efter 1 og 2 døgn aflæses dipslides ved hjælp af aflæsningsarket til dipslides (tæl hvis i området 0-2,5 CFU/cm<sup>2</sup>) og TSA plader tælles. Ved observation af kim med morfologi forskellig fra testbakterien på flere dipslides bør kludene alene kimtestes for inddæmning af problemet (se under: Forberedelse af klude).

**Bilag 2. Faktorer som teoretisk har betydning for desinfektionseffekten af en præimprægneret desinfektionsklud og som producenter bør adressere ved udviklingen af desinfektionsklude**

Kluden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kludens bestanddele</li> <li>• Kludens struktur</li> <li>• Kludens tykkelse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibersammensætningen af kluden, dens struktur (voven/non-voven), samt tykkelsen har betydning for hvilken væske og hvor stor en imprægneringsgrad kluden kan imprægneres med. Endvidere har det betydning for væskeafgivelsen og væskeoptagelsen.</li> <li>• Kludens væskeafgivelse har desuden betydning for om hvorvidt den afgiver desinfektionsvæsken i emballeringen under opbevaringen, så mængden af desinfektionsvæske i brugssituationen reduceres.</li> </ul>
Imprægneringsvæsken	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Typen af aktivstof(fer)/desinfektionsmiddel</li> <li>• Koncentration af aktivstof(fer)/desinfektionsmiddel</li> <li>• Kontakttid mellem aktivstof(fer)/desinfektionsmiddel og mikroorganismer</li> <li>• Kombination af aktivstoffer</li> <li>• Hjælpestoffer/tensid</li> <li>• Væskens overfladespænding</li> <li>• Imprægneringsgraden</li> <li>• pH-værdien i væsken</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Typen af aktivstof(fer)/desinfektionsmiddel har forskellig desinfektionseffekt, som er afhængig af type og art af mikroorganisme.</li> <li>• Desinfektionseffekten er koncentrationsafhængig.</li> <li>• Kontakttid mellem aktivstof(fer)/desinfektionsmiddel og mikroorganismer har betydning for den desinfektionseffekt, hvilket ofte er afhængig af typen af mikroorganisme.</li> <li>• Kombination af aktivstoffer kan have forstærkende eller hæmmende desinfektionseffekt.</li> <li>• Tilsætning kan have forstærkende eller hæmmende desinfektionseffekt. Endvidere kan hjælpestoffer/tensider have betydning for væskens overfladespænding, løsning af udtørrede mikroorganismer fra overfladen, pH-værdien i væsken, kemisk omdannelse (aktivering) af aktivstof(fer)/desinfektionsmiddel.</li> <li>• Væskens overfladespænding har betydning for væskeafgivelsen og væskeoptagelsen, samt den mekaniske friktion ved aftørring.</li> <li>• Imprægneringsgraden af kluden har betydning for væskeafgivelsen og væskeoptagelsen, hvilket igen er afgørende for kontakttiden.</li> <li>• pH-værdien i væsken har betydning for desinfektionseffekten af visse typer aktivstoffer/desinfektionsmidler.</li> </ul>

Den mekaniske påvirkning	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trykbelastning</li> <li>• Aftørningsbevægelse</li> <li>• Antal aftørninger</li> <li>• Flytning af mikroorganismer fra urent til rent område</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trykbelastning, aftørningsbevægelse og antal af aftørninger har betydning for den mekaniske fjernelse af mikroorganismer. Endvidere vil den mekanisk aftørring kunne flytte mikroorganismer fra urent til rent område.</li> </ul>
Overfladen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Materiale</li> <li>• Struktur</li> <li>• Overfladen coating</li> <li>• Areal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Overfladens materiale, struktur, coating har betydning for hvordan den mekanisk påvirkes ved aftørring. Endvidere har dette betydning for væskeafgivelsen og væskeoptagelsen fra kluden og for fordampning af væske fra overfladen.</li> <li>• En desinfektionsklud vil have et maksimalt areal, som kan desinficeres ved aftørring.</li> </ul>
Mikroorganismene	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Typen</li> <li>• Koncentration</li> <li>• Fordeling</li> <li>• Udtørring</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aktivstoffer/desinfektionsmidler har forskellig desinfektionseffekt, som er afhængig af type og art af mikroorganisme.</li> <li>• Koncentration, fordeling og udtørring har betydning for hvorvidt der opnås den ønskede desinfektionseffekt ved aftørring med en desinfektionsklud.</li> </ul>
Fysiske forhold	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Luftfugtighed</li> <li>• Luftsiftet/-cirkulation</li> <li>• Temperatur</li> <li>• Tilstedeværelse og interaktion med organisk materiale</li> <li>• Interaktion med andet materiale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Luftfugtighed, luftsiftet/-cirkulation og temperatur har betydning for fordampning af væske fra overfladen.</li> <li>• Mange aktivstoffer/desinfektionsmidler vil inaktiveres ved interaktion med organisk materiale og/eller andet materiale. Endvidere vil mikroorganismer kunne blive fysisk beskyttet af organisk materiale eller biofilm.</li> </ul>
Forhold vedrørende det endelige produkt	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Emballering</li> <li>• Holdbarhed</li> <li>• Udtørring af tilsat væske</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Emballering skal sikre, at produktet vedbliver med at have den ønskede effekt. Dette kan have betydning for holdbarheden af produktet i hhv. uåbnet og åbnet tilstand, og for hvordan produktet skal opbevares i hhv. uåbnet og åbnet tilstand.</li> <li>• Emballeringen kan endvidere have betydning for om hvorvidt der sker udtørring af væsken i hhv. uåbnet og åbnet tilstand, samt om hvorvidt alle klude i en pakning har samme ønskede desinfektionseffekt i hhv. uåbnet og åbnet tilstand.</li> </ul>

### **Udvikling af teststandard for desinfektionsklude**

Projektet: Udvikling af teststandard for desinfektionsklude har ført til udviklingen af en testmetode for den biocide effekt (desinfektionseffekten) af desinfektionsklude på kontaminerede overflader. Den udviklede testmetode tager udgangspunkt i en brugsituation, som afspejler hvordan kludene bliver brugt i dagligdagen i fx plejesektoren eller på hospitaler.

Anvendelse af den udviklede metodik giver producenter mulighed for på en hurtig og valid måde at få et overblik over effektiviteten af en desinfektionsklud, hvilket kan anvendes i produktudviklingen og til at kvalitetsstemple produktet til markedsføring. Samtidig vil myndigheder kunne anvende resultater fra test ved brug af metoden i deres vurdering af desinfektionsklude.

Projektet har undersøgt flere parametre, som har betydning for desinfektionseffekten ved aftørring med en desinfektionsklud og derved opnået større viden om væsentlige faktorer vedrørende brugssituationen, som kan understøtte en mere rationel miljø-mæssig anvendelse af biocider, og som kan anvendes i en fremtidig beskrivelse og revision af standardiserede metoder til test af desinfektionsklude.



Miljøstyrelsen  
Strandgade 29  
1401 København K

[www.mst.dk](http://www.mst.dk)