

PRÜFZERTIFIKAT

Validierung einer UVC-Ozon-Desinfektionsbox im Laborversuch

Prüfleiter:
Dr. Ingo Maier

Prüflabor:
ecoscope GmbH
Hochgratweg 12
88279 Amtzell, Germany

Prüfzeitraum:
25.09. - 07.10.2026

Datum:
08.10.2026

Auftraggeber:
GFS-Top-Animal-Service GmbH
Herr Peter Wiethaup
Zum Pöpping 29
59387 Ascheberg, Germany

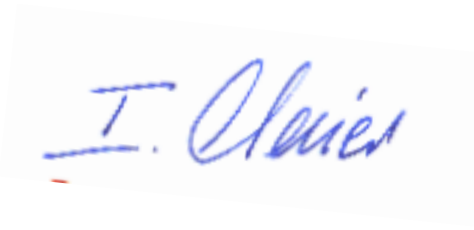
Dokument 1844-26-0001B-01

1. Zusammenfassung

Die Wirksamkeit der UVC-Ozon-Box 500 zur Desinfektion von Oberflächen bzw. Gerätschaften (GFS-Top-Animal-Service GmbH, Ascheberg) wurde im Laborversuch an den Prüfkeimen *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus spizizenii* ATCC 6633 (Sporen) und *Candida albicans* ATCC 10231 geprüft. Die Prüfung erfolgte im Oberflächenverfahren in Anlehnung an DIN EN 13697:2019.

Im Testverfahren wurden auf Edelstahl-Keimträgern angetrocknete Prüfkeime mit Ozon und UVC entsprechend einem werkseitig vorgegebenen Standardprogramm behandelt. Der Anteil überlebender Keime wurde mit standardisierten mikrobiologischen Verfahren bestimmt. Aus den Keimzahlen wurden Reduktionsfaktoren berechnet.

In den doppelt ausgeführten Tests mit voreingestellten Parametern (30 ppm Ozon, 120s, gefolgt von UVC, 300 s) wurden Reduktionen der Lebendkeimzahlen von >5,7 lg-Stufen bei *Staphylococcus aureus*, von 3,9 - > 5,7 lg-Stufen bei hoch-widerstandsfähigen *Bacillus*-Sporen und > 4,4 lg-Stufen bei der Hefe *Candida albicans* festgestellt.



Amtzell, den 08.10.2026

Dr. Ingo Maier (Prüfleiter)

Prüfergebnisse beziehen sich ausschließlich auf die untersuchten Proben wie beschrieben. Die, auch auszugsweise, Vervielfältigung des Prüfberichts bedarf der schriftlichen Genehmigung durch **ecoscope**. Dieser Prüfbericht wurde durch die untenstehende Person validiert und freigegeben. Durchführung bei **ecoscope** am Standort Amtzell, sofern nicht anders vermerkt.

2. Material

2.1. Testgerät

Die Prüfung der Desinfektionsleistung wurde an einer vom Hersteller (GFS-Top-Animal-Service GmbH, 59387 Ascheberg) zur Verfügung gestellten "UVC-Ozon-Box 500" durchgeführt. Das Gerät besteht aus einer umgebauten Kühlbox (Steamy®), die mit Ozongenerator, Lüfter, Heizung, UVC-Niederdruckstrahler und entsprechender Steuerung ausgestattet ist (Abb. 1).



Abb. 1. Die getestete "UVC-Ozon-Box 500"

2.2. Behandlung mit Ozon und UVC

Die Prüfung erfolgte mit werkseitig voreingestellten Parametern in Bezug auf die Ozonkonzentration und die Behandlungszeiten. Nach dem Start des automatischen Desinfektionsprogramms generiert der Ozongenerator eine Ozonkonzentration von ≥ 30 ppm und hält diesen Wert anschließend für 120 s. Anschließend wird die UVC-Lampe für 300 sec eingeschaltet. In diesem Zeitraum wird das Ozon bis auf eine geringe Restkonzentration abgebaut. Die Ozonkonzentration und die Einwirkungszeiten werden im Display angezeigt (Abb. 4). UVC-Dosiswerte sind nicht gemessen worden.

2.3. Prüfkeime

Als Prüfkeime wurden *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (DSM 799), Sporen von *Bacillus spizizenii* (früher *B. subtilis* ssp. *spizizenii*) ATCC 6633 (DSM 347) und die Hefe *Candida albicans* ATCC 10231 (DSM 1386) verwendet. Die Teststämme wurden vom Leibniz Institut Deutsche

Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) bezogen und im Labor als tiefgefrorene Stammkulturen gehalten.

2.4. Prüfsuspensionen

Die Anzucht von *S. aureus* und *C. albicans* erfolgte entsprechend DIN EN 13697. Sporen von *Bacillus spizizenii* wurden nach DIN EN 17272 bzw. Nicholson & Galeano (2003) präpariert und vor Verwendung mindestens 4 Wochen in deionisiertem Wasser im Kühlschrank gelagert.

S. aureus und *C. albicans* wurden von den Agarplatten mit 0,1 % Peptonwasser/0,05 % Tween 80 abgeschwemmt und auf eine Zelldichte von $1 - 5 \times 10^8$ KBE/ml (*S. aureus*) bzw. ca. 5×10^7 KBE/ml (*C. albicans*) eingestellt. Die Sporensuspension von *B. spizizenii* wurde ebenfalls mit 0,1 % Peptonwasser/0,05 % Tween 80 auf eine Dichte von ca. 5×10^8 KBE/ml eingestellt. Die so erhaltenen Prüfsuspensionen wurden ohne zusätzliche organische Belastungssubstanz bzw. Anschmutzung verwendet.

Zur Bestimmung der Ausgangskeimzahlen wurden die Prüfsuspensionen mit Trypton/NaCl (0,1 % Trypton, 0,85 % Natriumchlorid) in dezimalen Stufen verdünnt und auf Trypton-Soja-Agar (TSA, für Bakterien) bzw. Sabouraud-Dextrose-Agar (SDA, für *Candida*) ausgespatelt. Die Platten wurden bei $32,5 \pm 1$ °C für 48 – 72 Stunden inkubiert und dann ausgezählt.

2.5. Keimträger

Als Keimträger wurden runde Edelstahlscheiben (Edelstahl 1.4301, 20 x 1 mm, beidseitig poliert, lasergeschnitten) verwendet. Die Scheiben wurden mit 5 % decon 90 gereinigt, in strömendem Leitungswasser und anschließend in entionisiertem Wasser gewaschen, in 70 % Isopropanol desinfiziert und anschließend keimfrei getrocknet. Die Keimträger wurden mit jeweils 10 µl einer Prüfsuspension kontaminiert, 30 min im Luftstrom einer Sicherheitswerkbank getrocknet (Abb. 2) und anschließend innerhalb von maximal 1 Stunde für die Versuche verwendet.

Die Keimzahlen der Prüfsuspensionen und der Ausgangskeimzahlen auf den Prüfkörpern sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Keimzahlen der Prüfsuspensionen und der Keimträger

Prüfkeim	Prüfsuspension (KBE*/ml)	Keimzahl Keimträger (KBE)
<i>S. aureus</i>	$2,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^6$
<i>B. spizizenii</i> (Sporen)	$5,6 \times 10^8$	$5,6 \times 10^6$
<i>C. albicans</i>	$6,1 \times 10^7$	$6,1 \times 10^5$

* KBE: koloniebildende Einheiten

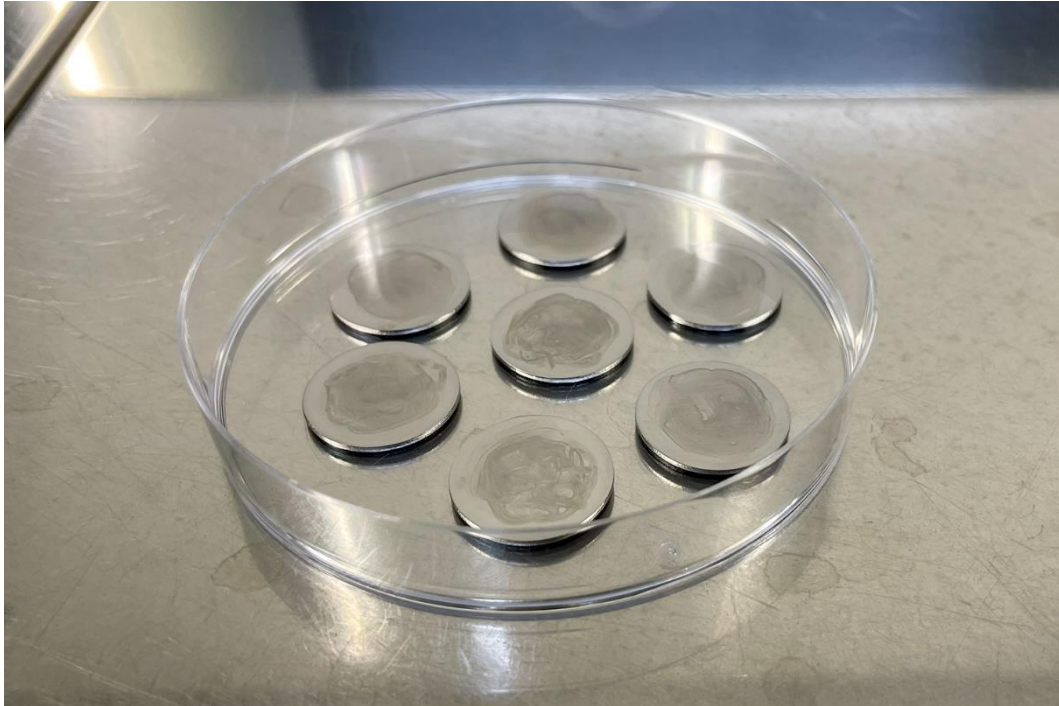


Abb. 2. Keimträger mit angetrockneter Prüfkeimsuspension

3. Durchführung der Prüfung

Für jeden Prüfkeim wurden jeweils acht Keimträger in verschiedenen Positionen im Testgerät mit Klebedots angebracht (Abb. 3). Die Keimträger wurden mit dem werksseitig vorgegebenen Programm gleichzeitig behandelt. Der Versuch wurde jeweils doppelt ausgeführt. Der Verlauf der Ozonkonzentration und der Behandlungszeiten wurden auf dem Gerätedisplay verfolgt.

Nach der Behandlung wurden die Keimträger aseptisch in sterile Röhrchen mit 5 ml Trypton/NaCl-Lösung und 2 g sterilen Glasperlen überführt. Die Keime wurden durch Vortexen über 20 Sekunden abgespült. Die Anzahl überlebender Keime in den erhaltenen Suspensionen wurde mit standardisierten mikrobiologischen Verfahren im Plattengussverfahren mit TSA bzw. SDA bestimmt (doppelt). Die Inkubation erfolgte bei $32,5 \pm 1$ °C für 48 - 72 h. Anschließend wurden die Platten manuell ausgezählt.

Als Kontrollen wurden je Prüfkeim 3 inokulierte Keimträger mitgeführt, die nicht mit Ozon/UVC behandelt wurden (Positivkontrollen). Die jeweiligen Mittelwerte der von ihnen bestimmten Lebendkeimzahlen (Tabelle 2) wurden als Bezugswerte für die Berechnung der Reduktionsfaktoren verwendet. Als weitere Kontrolle wurden drei unbeimpfte Keimträger während der Versuche mitgeführt, um eine mögliche Verkeimung durch Umgebungsluft und verwendeten Medien auszuschließen (Tabelle 2).

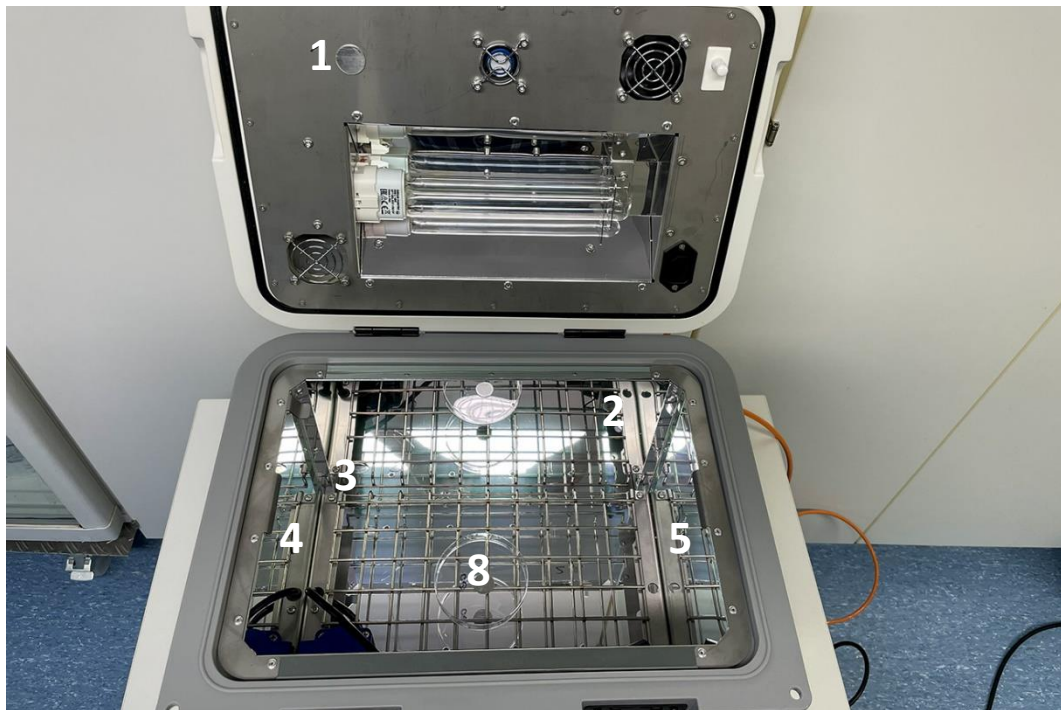


Abb. 3. Die Positionen 1 – 8 der Prüfkörper im Testgerät. Die Positionen 6 und 7 an der vorderen Innenwand sind verdeckt (Pos. 6: Innenwand links oben, Pos. 7: Mitte Innenwand)



Abb. 4. Display-Anzeige 1 s vor Ende der Ozonbehandlung

4. Auswertung

Der dekadische logarithmische Reduktionsfaktor (lg R) wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\lg R = \lg (\text{KBE-P}) - \lg (\text{KBE-B})$$

$$\text{Die prozentuale Reduktion: } R \% : [(\text{KBE-B} \cdot 100 / \text{KBE-P}) - 100] \cdot -1$$

KBE-P: Mittlere Anzahl der wiedergewonnenen KBE pro Keimträger ohne Behandlung (Positivkontrolle)

KBE-B: Anzahl der KBE pro Keimträger nach Behandlung (überlebende Keime).

Aus den Einzelwerten der Doppelbestimmungen wurden arithmetische Mittelwerte berechnet.

Tab. 2. Kontrollversuche

Nr.	Beschreibung	Keim ^a	Lebendkeimzahl (KBE ^b)	
			Einzelwert	Mittelwert
N1	Negativkontrolle ^c	-	< 5	< 5
N2			< 5	
N3			< 5	
S01	Positivkontrolle ^d	<i>S. aureus</i>	1,3 x 10 ⁶	1,3 x 10 ⁶
S02			1,3 x 10 ⁶	
S03			1,2 x 10 ⁶	
B01	Positivkontrolle ^d	<i>B. spizizenii</i> Sporen	3,0 x 10 ⁶	2,8 x 10 ⁶
B02			2,9 x 10 ⁶	
B03			2,6 x 10 ⁶	
C01	Positivkontrolle ^d	<i>C. albicans</i>	6,5 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁵
C02			1,7 x 10 ⁵	
C03			1,1 x 10 ⁵	

^a Testkeime siehe 2.3 ; ^b koloniebildende Einheiten

^c mitgeführte, nicht-kontaminierte Keimträger (Sterilitätskontrolle)

^d mit Testkeimen kontaminierte Keimträger ohne Behandlung

5. Ergebnisse

In den doppelt ausgeführten Tests mit voreingestellten Parametern (30 ppm Ozon, 120s, gefolgt von UVC, 300 s) wurden Reduktionen der Lebendkeimzahlen von >5,7 lg-Stufen bei *Staphylococcus aureus*, von 3,9 - > 5,7 lg-Stufen bei den Sporen von *Bacillus spizizenii* und > 4,4 lg-Stufen bei der Hefe *Candida albicans* festgestellt.

Die Testergebnisse sind in den Tab. 1 - Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3. Desinfektionsversuche und Berechnung der Reduktionsfaktoren

	Keimzahl (KBE*)			Reduktionsfaktor	
Position	unbehandelt	behandelt	Mittelwert	lg	%
Staphylococcus aureus					
1A	1,3 x 10 ⁶	< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
1B		< 5			
2A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
2B		< 5			
3A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
3B		< 5			
4A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
4B		< 5			
5A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
5B		< 5			
6A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
6B		< 5			
7A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
7B		< 5			
8A		< 5	< 5	> 5,4	> 99,9996
8B		< 5			
Bacillus spizizenii Sporen					
1A	2,8 x 10 ⁶	400	370	3,9	99,99
1B		340			
2A		< 5	< 5	> 5,7	> 99,9998
2B		5			
3A		< 5	83	4,5	99,997
3B		160			
4A		< 5	< 5	> 5,7	> 99,9998
4B		< 5			
5A		< 5	< 5	> 5,7	> 99,9998
5B		< 5			
6A		< 5	< 6,3	> 5,6	> 99,9998
6B		7,5			
7A		< 5	< 5	> 5,7	> 99,9998
7B		< 5			
8A		< 5	< 5	> 5,7	> 99,9998
8B		< 5			

<i>Candida albicans</i>					
1A	1,5 x 10 ⁵	< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
1B		< 5			
2A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
2B		< 5			
3A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
3B		< 5			
4A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
4B		< 5			
5A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
5B		< 5			
6A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
6B		< 5			
7A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
7B		< 5			
8A		< 5	< 5	> 4,4	> 99,996
8B		< 5			

* koloniebildende Einheiten

6. Referenzen

DIN EN 13697:2019. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächen-Versuch zur Bestimmung der bakteriziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel auf nicht porösen Oberflächen in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen - Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung (Phase 2, Stufe 2).

DIN EN 17272:2020. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Verfahren zur luftübertragenen Raumdesinfektion durch automatisierte Verfahren – Bestimmung der bakteriziden, mykobakteriziden, sporiziden, fungiziden, levuroziden, viruziden, tuberkuloziden und Phagen-Wirksamkeit.

Nicholson, W. L. & Galeano, B. (2003). UV resistance of *Bacillus anthracis* spores revisited: Validation of *Bacillus subtilis* spores as UV surrogates for spores of *B. anthracis* Sterne. Appl. Environ. Microbiol. 69(2), 1327-1330.