



Mikrobiologické laboratórium

Akreditované laboratórium na základe STN EN ISO/IEC 17025:2017

Akreditačný certifikát č. S-264

**VALIDAČNÁ SPRÁVA TESTOVANIE
ANTIMIKROBIÁLNEJ ÚČINNOSTI OTVORENÉHO
UVC – ŽIARENIA PRÍSTROJOM SPECTRA 360
ANTIMAGNETIC OD SPOLOČNOSTI GRIZZLY**

Revízia číslo 1.0

Adreša:

Mikrobiologické laboratórium

Nám. Dr. A. Schweitzera 194

916 01 Stará Turá

Dátum vystavenia správy: 10.12. 2021

Pripravila: Ing. Dagmara Masárová, PhD.



INFORMÁCIE O TESTOVANOM ZARIADENÍ

Názov prístroj: SPECTRA 360 ANTIMAGNETIC

Funkcia: otvorené UVC žiarenie

Výška: 1,65m + priemer podstavca 50cm

Váha: 30kg

UVC výkon: 1160W

Napájanie: 230V/50Hz

UVC žiarivky: 8 kusov – 145W, Philips

Hlučnosť: 98dB

Vhodné pre: do 100m²

Podmienky testovania

Dátum: 3.11.2021-5.11.2021

Testovaná miestnosť: Mikrobiologické laboratórium – Laboratórium hemolýzy a bioindikátorov.

Teplota miestnosti: 21,9°C

Vlhkosť: 39%

Testovaná plocha: 20m²

Kontaktný čas prístroja: 10min and 20min

Typ nosičov: plast (LITEN MB 71 – HDPE – polyetylén s vysokou hustotou) okrúhly nosič – neporézny materiál a priemer nosiča 3cm *Umiestnenie nosičov:*

- Tri nosiče vzdialené 3m horizontálne od prístroja a 1m nad podlahou – pre každý testovaný organizmus
- Tri nosiče vzdialené 3m vertikálne od prístroja a 1m nad podlahou – pre každý testovaný organizmus
- Tri nosiče vzdialené 5m horizontálne od prístroja a 1m nad podlahou – pre každý testovaný organizmus
- Tri nosiče vzdialené 5m vertikálne od prístroja a 1m nad podlahou – pre každý testovaný organizmus

Kultúry mikroorganizmov:

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P
- Spóry – *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Riediaci roztok: Tryptónová soľ

Inkubačné médium: TSA – Tryptón sójový agar (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*)
MCA- MacConkey agar (*Escherichia coli*)

Teplota inkubácie: 36±2°C

Čas inkubácie: 45±3h

METODIKA:

Správa bola vypracovaná na základe princípov normy EVE EN 17272:2020 – Chemical disinfectants and antiseptics – Methods of airborne room disinfection by automated process – Determination of bactericidal, mycobactericidal, sporicidal, fungicidal, yeasticidal, virucidal and phagocidal activities a druhej normy ASTM E3135-18 Standard Practice for determining Antimicrobial Efficacy of Ultraviolet Germicidal Irradiation Against Microorganisms on Carriers with Simulated Soil. Tretia norma bola použitá pri uzatvorenom UVC žiariči EN 17 141:2020 Cleanrooms and associated controlled environments – biocontamination control

1. Príprava bakteriálnej kultúry

Príprava zásobnej subkultúry na tuhej živnej pôde - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P na živnom médiu TSA a *Escherichia coli* ATCC 25922 na živnom médiu MCA. Pracovná subkultúra použitá v testovaní bola tretia – každá subkultúra bola inkubovaná 24h pri 36±1°C (t.j. pre každú mikrobiálnu kultúru). Z pracovnej subkultúry boli pripravené pracovné riedenia – východzia koncentrácia bola od 5x10⁷ do 2x10⁹ CFU/ml

Príprava zásobnej koncentrácie *Bacillus subtilis* ATCC6633 bola podľa SOP (4460). Pracovná koncentrácia spór bola 5x10⁶ CFU

2. Príprava inokula pre nosiče vystavené UVC systému a generátoru ozónu

Z bakteriálnej kultúry boli pripravené riedenia 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ v riediacom roztoku (tryptónová soľ). 50µl z každého riedenia bolo prenesených na plastové neporézne nosiče a vysušené v inkubátore pri teplote 36±1°C. Vysušené nosiče s bakteriálnymi kultúrami, ako i so spórami boli inkubované maximálne 120 minút pri teplote 37°C. Nosiče boli vystavené UVC žiareniu v 2 rozličných vzdialenostiach a 2 rozličných časoch - **Tabuľka 1. a Tabuľka 2.**

Boli pripravené dve pozitívne kontroly:

- Pozitívna kontrola 1 – pripravená z inokula
- Pozitívna kontrola 2 – nosiče bez ožiarovania v experimentálnom čase 10 a 20 minút

Nosiče boli prenesené do sterilnej Petriho misky a prenesené do pripravenej testovacej miestnosti, kde boli následne ožiarované UVC žiaričom. Následne po teste boli nosiče odobrané a prenesené do kadičky s príslušným riediacim roztokom o objeme 100ml. Kadičky s nosičmi boli premiešavané niekoľko sekúnd a pomocou sterilnej špičky bol zoškrabovaný povrch

nosiča po dobu niekoľkých sekúnd. 100µl z pracovnej kadičky bolo prenesených do 900µl sterilného riediaceho roztoku- tryptónová soľ. A 10µl finálnej koncentrácie bolo naočkovaných na Petriho misku s prislúchajúcim živným médiom - TSA médium pre *Staphylococcus aureus* a spóry *Bacillus subtilis* a MCA médium pre *Escherichia coli*. Petriho misky boli inkubované pri teplote 30 – 37°C počas 45±3h.

3. Prepočty

Po kultivácii boli spočítané kolónie mikroorganizmov v každom experimentálnom nastavení - vzdialenosť nosičov a čas pôsobenia prístroja. Použité experimentálne skupiny boli preočkované duplicitne – platí pre každý použitý mikroorganizmus, každú vzdialenosť i čas pôsobenia prístroja. Experimentálne nosiče, resp. množstvo kolónií boli vyhodnotené a prepočítané na základe normy EVE EN 17272:2020 – Chemical disinfectants and antiseptics – Methods of airborne room disinfection by automated process – Determination of bactericidal, mycobactericidal, sporicidal, fungicidal, yeasticidal, virucidal and phagocidal activities.

Experimentálne skupiny boli porovnávané s pozitívnou kontrolou 2. Logaritmus redukcie (účinnosť Spectra 360 Antimagnetic) bola prepočítaná na základe normalizovaného objemu.

VÝSLEDKY:

Kmeň baktérií a spór	Pozícia testovaného nosiča	CFU/ml	Redukcia
<i>Escherichia coli</i>	Pozitívna kontrola 2	5E+08	-
	3M1H	0	8,7
	3M1V	0	8,7
	5M1H	0	8,7
	5M1V	0	8,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pozitívna kontrola 2	3,6E+07	-
	3M1H	0	7,5
	3M1V	0	7,5
	5M1H	0	7,5
	5M1V	0	7,5
<i>Bacillus subtilis</i> - spóry	Pozitívna kontrola 2	1,3E+06	-
	3M1H	4,3E+04	4,63
	3M1V	0	6,1
	5M1H	0,2	-0,7
	5M1V	0	6,1

Tabuľka 1. Počet kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 10 minútach pôsobenia UVC žiarenia prístrojom Spectra 360 Antimagnetic v dvoch pozíciách a vzdialenostiach.

Kmeň baktérií a spór	Pozícia testovaného nosiča	CFU/ml	Redukcia
<i>Escherichia coli</i>	Pozitívna kontrola 2	5E+08	-
	3M1H	0	8,7
	3M1V	0	8,7
	5M1H	0	8,7
	5M1V	0	8,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pozitívna kontrola 2	1,30E+07	-
	3M1H	0	7,1
	3M1V	0	7,1
	5M1H	0	7,1
	5M1V	0	7,1
<i>Bacillus subtilis</i> - spóry	Pozitívna kontrola 2	1,3E+06	-
	3M1H	0	6,1
	3M1V	0	6,1
	5M1H	0	6,1
	5M1V	0	6,1

Tabuľka 2. Počet kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 20 minútach pôsobenia UVC žiarenia prístrojom Spectra 360 Antimagnetic v dvoch pozíciách a vzdialenostiach.

DISKUSIA:

Redukcia počtu kolónií *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P bola log 7,5 (99,999%) Redukcia počtu kolónií *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P bola log 7,6 (99,999%) v oboch vzdialenostiach aj časoch. Podľa normy EVE EN 17272:2020 – Chemical disinfectants and antiseptics – Methods of airborne room disinfection by automated process – Determination of bactericidal, mycobactericidal, sporicidal, fungicidal, yeasticidal, virucidal and phagocidal activities, má zariadenie Spectra 360 Antimagnetic účinnosť zodpovedajúcu použitiu v medicínskych zariadeniach. V prípade počtu kolónií *Escherichia coli* ATCC 25922 bola redukcia log 8,7 (99,999%) v jednej vzdialenosti (3m) a oboch časových intervaloch. Zariadenie môže byť používané v medicínskych zariadeniach pretože redukcia v porovnaní s kontrolou bola vyššia ako 5. V prípade redukcie spór *Bacillus subtilis* ATCC 6633 bola vyhodnotená rozdielna účinnosť - log redukcia. Účinnosť zariadenia Spectra 360 Antimagnetic je závislá na čase pôsobenia UVC žiariča v miestnosti a jeho umiestnení v miestnosti. Vo vzdialenosti UVC žiariča 3 metre od nosiča bola redukcia spór log 4,63 po 10 minútach pôsobenia a vo vzdialenosti 5 metrov po pôsobení 10 minút bola log redukcia spór v záporných hodnotách. Účinnosť pôsobenia UVC žiarenia v čase 20 minút bola log6,1 redukcia spór v porovnaní s kontrolou. Zariadenie malo účinnosť redukcie spór kmeňa *Bacillus subtilis* po vystavení UVC žiareniu - 20 minút. Účinnosť zariadenie Spectra 360 Antimagnetic bola vyhovujúca pre medicínske zariadenia. Prístroj Spectra 360 Antimagnetic mal v testovaní účinnosť log7 redukciu pre *S. aureus*, log8 redukciu pre *E. coli* a redukcia spór kmeňa *Bacillus subtilis* bola závislá na čase pôsobenia UVC žiarenia a umiestnení zariadenia.