



Mikrobiologické laboratórium

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

Akreditačný certifikát č. S-264

**VALIDAČNÁ SPRÁVA TESTOVANIA
ANTIMIKROBIÁLNEHO ÚČINKU – GENERÁTORA
OZÓNU PRÍSTROJOM G-ULTRA OD SPOLOČNOSTI
GRIZZLY**

Revízia číslo 1.0

Adresa:

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 zariadenia: G - ultra

Funkcia: Generátor ozónu s max. koncentráciou 480 000 mg/h a výkonom ventilátora 3500m³/h

Výška: 96cm

Váha: 58kg

Napájanie: 230V/50Hz

Hlučnosť: 98dB

Vhodné pre miestnosti: do 200m²

Generátor ozónu : - výkon 480 000mg/h
- Počet ozónových keramických platní: 72
- ventilácia: 3500m³/h

Množstvo vypusteného ozónu: 480 000 mg / h

Podmienky testovania

Dátum: 3.11.2021-5.11.2021

Testovaná miestnosť: Mikrobiologické laboratórium – šatňa

Teplota: 21,9°C

Vlhkosť: 39%

Plocha testovanej miestnosti 11,6m²

Kontaktný čas prístroja: 5min+45min odvetranie a 15min+45min odvetranie

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

Umiestnenie nosičov:

- Tri nosiče vzdialené 2,6m horizontálne od prístroja a 1m nad podlahou – pre každý testovaný organizmus
- Tri nosiče vzdialené 2,6m 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: $36\pm 2^{\circ}\text{C}$

Čas inkubácie: $45\pm 3\text{h}$

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.

Generátor ozónu

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 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ (t.j. pre každú mikrobiálnu kultúru). Z pracovnej subkultúry boli pripravené pracovné riedenia – východzia koncentrácia bola od 5×10^7 do 2×10^9 CFU/ml

Príprava zásobnej koncentrácie *Bacillus subtilis* ATCC6633 bola podľa SOP (4460). Pracovná koncentrácia spór bola 5×10^6 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). 50 μl z každého riedenia bolo prenesených na plastové neporézne nosiče a vysušené v inkubátore pri teplote $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. 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 ožiarenia v experimentálnom čase 10 a 20 minút

Nosiče boli prenesené do sterilnej Petriho misky a prenesené do pripravenej testovacej miestnosti, kde boli následne ožiarené 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. 100 μ l z pracovnej kadičky bolo prenesených do 900 μ l sterilného riediaceho roztoku- tryptónová soľ. A 10 μ l 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 indukované pri teplote 30 – 37°C počas 45 \pm 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 Infinity) bola prepočítaná na základe normalizovaného objemu.

VÝSLEDKY

Generátor ozónu

Kmeň baktérií a spór	Pozícia testovaného nosiča	CFU/ml	Redukcia
<i>Escherichia coli</i>	Pozitívna kontrola 2	5,00E+08	-
	2,6M1H	0	8,7
	2,6M1V	0	8,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pozitívna kontrola 2	3,60E+07	-
	2,6M1H	0	7,6
	2,6M1V	0	7,6
<i>Bacillus subtilis</i> - spóry	Pozitívna kontrola 2	1,30E+06	-
	2,6M1H	0	6,1
	2,6M1V	0	6,1

Tabuľka 1. Počty kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 5 minútach vystavenia nosičov ozónu + 45 minútové odvetranie. Účinok generátora ozónu G-ultra v jednej vzdialenosti.

Kmeň baktérií a spór	Pozícia testovaného nosiča	CFU/ml	Redukcia
<i>Escherichia coli</i>	Pozitívna kontrola 2	5,00E+08	-
	2,6M1H	0	8,7
	2,6M1V	0	8,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pozitívna kontrola 2	3,60E+07	-
	3M1H	0	7,6
	3M1V	0	7,6
<i>Bacillus subtilis</i> - spóry	Pozitívna kontrola 2	1,30E+06	-
	3M1H	0	6,1
	3M1V	0	6,1

Table 2. Počty kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 15 minútach vystavenia nosičov ozónu + 45 minútové odvetranie. Účinok generátora ozónu G-ultra v jednej vzdialenosti.

DISKUSIA:

Redukcia *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P bola log 7,6 (99,999%). 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, je účinnosť zariadenia G-ultra vhodná na dezinfekciu prostredia v medicínskych zariadeniach. Redukcia počtu kolónií *Escherichia coli* ATCC 25922 bola log 8,7 (99,999%) v oboch časoch. Zariadenie, na základe redukcie počtov mikroorganizmov v porovnaní s pozitívnou kontrolou, môže byť využívané v medicínskych zariadeniach, pretože redukcia bola vyššia ako 5. Prístroj redukoval spóry *Bacillus subtilis*, redukcia bola log 6,1. Účinnosť prístroja G-ultra bola vyhovujúca pre medicínske zariadenia. Prístroj G-ultra mal v testovaní účinnosť log7 redukciu pre *S. aureus*, log8 redukciu pre *E. coli* a log6 redukcia pre spóry *Bacillus subtilis*.