



Mikrobiologické laboratórium

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

Akreditačný certifikát č. S-264

**Testovanie dezinfekčného účinku UVC žiarenia,
generátoru ozónu a filtrácie vzduchu pomocou prístroja
Spectra Infinity od spoločnosti GRIZZLY**

Revízia 2.0

Adresa:

Mikrobiologické laboratórium

Nám. Dr. A. Schweitzera 194

916 01 Stará Turá

Dátum vystavenia správy: 10.02.2022

Pripravila: Ing. Dagmara Masárová, PhD.



Informácie o testovanom zariadení

Názov prístroja: SPECTRA INFINITY

Výrobok: Spectra infinity je profesionálne zariadenie, ktoré kombinuje 3 technológie dezinfekcie prostredia:

1. Otvorený UVC žiarič s UVC výkonom 1 760W (360° rotácia žiariča)
2. Uzatvorený UVC žiarič s UVC výkonom 440W a výkon ventilátora 1320m³/h
3. Generátor ozónu s uvoľnením ozónu 80 000 mg/h a výkonom ventilátora 1320m³/h

Výška: 1,76m + podstavec s priemerom 50cm

Váha: 76kg

Max. výkon: 2200W

Napájanie: 230V/50Hz

Hlučnosť: 98dB

Vhodné pre priestory: do 200m²

Otvorený UVC systém:

- UVC výkon: 1760W
- Typ žiarivky: Philips PL-L 55 2G11 alebo OSRAM HNS 55 2G11
- Počet žiariviek 32
- Životnosť lampy 20 000h

Uzatvorený UVC systém:

- UVC výkon 440W
- Type of tube: Philips PL-L 55 2G11 or OSRAM HNS 55 2G11
- Množstvo žiariviek 8
- Životnosť lampy 20 000h
- Ventilátor o výkone 1320m³/h

Generátor ozónu:

- množstvo uvoľneného ozónu 80 000mg/h
- Počet ozón uvoľňujúcich keramických platní: 16
- Životnosť 8 000h
- Výkon ventilátora 1320m³/h

Podmienky testovania

Otvorený UVC systém

Dátum: 5.11.2021-7.11.2021

Miestnosť: Mikrobiologické laboratórium – Laboratórium inkubácie a identifikácie mikroorganizmov

Teplota : 20,4°C

Vlhkosť: 40,2%

Plocha testovanej miestnosti: 29m²

Kontaktný čas zariadenie: 10min a 20min

Typ nosiča: 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

Uzatvorený UVC systém

Dátum: 25.01.2022

Teplota: 20,7°C

Vlhkosť: 39,2%

Merné body: boli definované podľa normy EN 17 141:2020

Kontaktný čas zariadenie: 20,40,60 min

Typ nosiča: bez nosiča – vyhodnocované pomocou zariadenia Sampler Air – nasávanie vzduchu cez platňu s kultivačným médiom

- Podľa normy EN 17 141:2020 bol definovaný jeden bod merania v danej testovanej miestnosti
- Merné body: - miestnosť hermeticky uzatvorená, jeden merný bod – zmeraný v troch opakovaníach

Identifikácia mikroorganizmov v jednotlivých merných bodoch – vid' tabuľka 3.

Použitie médium pre inkubáciu mikroorganizmov: TSA - Tryptón sójový agar – univerzálna pôda pre identifikáciu mikroorganizmov

Teplota inkubácie: 36±2°C

Čas inkubácie: 45±3h

Generátor ozónu

Dátum: 5.11.2021-7.11.2021

Testované miestnosti: Kancelárie v administratívnej budove

Teplota: 20,4°C

Vlhkosť: 40,2%

Plocha testovacích miestností: 18,5m²

Kontaktný čas zariadenia: 20min+45min vetranie a 40 min + 45 min vetranie

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±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.

Otvorený UVC systém

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 μl z pracovnej kadičky bolo prenesených do 900 μl sterilného riediaceho roztoku- tryptónová soľ. A 10 μl finálnej koncentrácie bolo naočkovanych 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 $30 - 37^\circ\text{C}$ počas $45\pm 3\text{h}$.

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.

Uzatvorený UVC systém

1. Príprava média a prístroja

V tomto prípade boli použité platne TSA (Tryptón sójový agar), použitá šarža **L7293 exp. 23.05.2022 (certifikované média)**. Platne s TSA živnou pôdou boli vytemperované na izbovú teplotu. Pomocou prístroja Sampler Air bola definovaná čistota prostredia a zameraná účinnosť prístroja Spectra Infinity s funkciou uzatvorený UVC žiarič v rôznych bode experimentálneho priestoru. Meranie prebehlo v jednom bode v troch opakovaníach a v rôznych časoch.

Na základe veľkosti zvolenej miestnosti bol definovaný jeden odberný bod. Následne bol pomocou prístroja Sampler Air nasatý vzduch v priestore v 0 minúte – preukázanie prítomnosti rôznych rodov mikroorganizmov – pozitívna kontrola

Experimentálne merania prebehli po 20, 40 a 60 minútach pôsobenia prístroj Spectra Infinity – funkcia uzatvorený UVC žiarič. Všetky experimentálne merania prebehli v troch opakovaníach.

Platne po testovaní boli kultivované pri teplote $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ po dobu $45\pm 3\text{h}$.

2. Experimentálne dáta a prepočet

Po inkubácii bolo vyhodnotené množstvo CFU (kolónií tvoriacich jednotku) na m^3 a boli identifikované jednotlivé rody mikroorganizmov vyskytujúce sa v merných bodoch priestoru - **Tabuľka 4.**

Na základe normy ASTM E3135-18 Standard Practice for determining Antimicrobial Efficacy of Ultraviolet Germicidal Irradiation Against Microorganisms on Carriers with Simulated Soil bola vyhodnotená redukcia a účinnosť prístroja Spectra Infinity s funkciou uzatvorený UVC žiarič.

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 spórmi boli inkubované maximálne 120 minút pri teplote 37°C . Nosiče boli vystavené UVC žiareniu v 2 rozličných vzdialenostiach a 2 rozličných časoch - **Tabuľka 5.** a **Tabuľka 6.**

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 μl z pracovnej kadičky bolo prenesených do 900 μl sterilného riediaceho roztoku- tryptónová soľ. A 10 μl 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 $30 - 37^\circ\text{C}$ počas 45 ± 3 h.

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:
Otvorený UVC žiarič

Tabuľka 1. Počet kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 10 minútach pôsobenia UVC žiarenia prístrojom Spectra Infinity v dvoch rôznych vzdialenostiach a rôznych časových intervaloch.

Kmeň baktérií a spór	Pozícia testovaného nosiča	CFU/ml	Redukcia
<i>Escherichia coli</i>	Pozitívna kontrola 2	5,00E+08	-
	3M1H	0	8,7
	3M1V	0	8,7
	5M1H	0	8,7
	5M1V	4,50E+08	0,05
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pozitívna kontrola 2	3,60E+07	-
	3M1H	0	7,6
	3M1V	0	7,6
	5M1H	0	7,6
	5M1V	0	7,6
<i>Bacillus subtilis</i> - spóry	Pozitívna kontrola 2	1,30E+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 Infinity v dvoch rôznych vzdialenostiach a rôznych časových intervaloch.

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

Uzatvorený UVC žiarič

Tabuľka 3. Počty kolónií a identifikácie rodov vyskytujúcich sa mikroorganizmov vo vzorkách vzduchu

Merné body testovanej miestnosti	0'	20'	40'	60'
	CFU na m ³	CFU na m ³	CFU na m ³	CFU na m ³
1. opakovanie	290	0	0	0
	Koaguláza negatívne <i>Staphylococci</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.	-	-	-
2. opakovanie	340	0	0	0
	Koaguláza negatívne <i>Staphylococci</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.	-	-	-
3. opakovanie	325	0	0	0
	Koaguláza negatívne <i>Staphylococci</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Aspergillus niger</i>	-	-	-

Tabuľka č. 4: Účinnosť prístroj Spectra Infinity po prepočte redukcie počtu CFU na m³ prefiltrovaného vzduchu.

Merný bod	0' (CFU/m ³)	20' (CFU/m ³)	40' (CFU/m ³)	60' (CFU/m ³)
1. opakovanie	290	0	0	0
2. opakovanie	340	0	0	0
3. opakovanie	325	0	0	0
Priemer	318,33	0	0	0
REDUKCIA (%)		100%	100%	100%

Generátor ozónu

Tabuľka 5. Počty kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 20 minútach vystavenia nosičov ozónu + 45 minútové odvetranie. Účinok generátora ozónu Spectra Infinity 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	-
	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 6. Počty kolónií *E. coli*, *S. aureus* a spór *B. subtilis* po 40 minútach vystavenia nosičov ozónu + 45 minútové odvetranie. Účinok generátora ozónu Spectra Infinity 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> - spores	Pozitívna kontrola 2	1,30E+06	-
	3M1H	0	6,1
	3M1V	0	6,1

Diskusia

Otvorený UVC žiarič

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 Infinity účinnosť na využitie 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. Vo vzdialenosti 5m bola odlišná účinnosť zariadenia, v 10 minúte a vertikálnej pozícii nebola redukcia log 8,7; ale log 0,05. Zariadenie môže byť používané v medicínskych zariadeniach pretože redukcia v porovnaní s kontrolou bola vyššia ako 5, ale účinnosť funkcie otvorený UVC žiarič je závislá na čase pôsobenia a vzdialenosti zariadenia od dezinfikovanej plochy. V prípade redukcie *Escherichia coli* ATCC 25922 nie je účinnosť podmienená vzdialenosťou a časom, ktorému boli nosiče vystavené UVC žiareniu. Redukcia spór *Bacillus subtilis* ATCC 6633 bola vyhodnotená ako log 6,1. Účinnosť prístroja Spectra Infinity bola vyhovujúca pre medicínske zariadenia. Prístroj Spectra Infinity mal v testovaní účinnosť log7 redukciu pre *S. aureus*, log8 redukciu pre *E. coli* – závislosť na čase pôsobenia a vzdialenosti zariadenia, log6 redukcia pre spóry *Bacillus subtilis*.

Uzatvorený UVC žiarič

Prístroj Spectra Infinity mal vysokú účinnosť pri filtrácii a dezinfekcii vzduchu. Redukcia počtu mikroorganizmov po 20 minútach filtrácie vzduchu bola 100%. Prístroj zredukoval celkový počet identifikovaných rodov baktérií a mikroskopických vláknitých húb. Zariadenie Spectra Infinity má účinok na dezinfekciu vzduchu a redukuje počty prirodzenej mikrobioty v prostredí. Zariadenie malo účinnosť na patogénne i nepatogénne druhy mikroorganizmov, na mikroorganizmi produkujúce vysoké množstvá spór – *Bacillus subtilis* a *Aspergillus niger*.

Generátor ozónu

Redukcia *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P bola log 7,6 (99,999%) v oboch 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, je účinnosť zariadenia Spectra Infinity 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 zredukoval spóry *Bacillus subtilis*, redukcia bola log 6,1. Účinnosť prístroja Spectra Infinity bola vyhovujúca pre medicínske zariadenia. Prístroj Spectra Infinity mal v testovaní účinnosť log7 redukciu pre *S. aureus*, log8 redukciu pre *E. coli* a log6 redukcia pre spóry *Bacillus subtilis*.