Raport z badania w warunkach *in vitro*:

Oznaczenie aktywności bakteriobójczej i grzybobójczej promieniowania UVC

Nr Raportu: 200603-MB-HSK-2

Nr oferty: 2020/05/AML/4/1

Data rozpoczęcia badania: 26.05.2020

Data zakończenia badania: 04.06.2020

Data opracowania raportu: 04.06.2020

Cel badania:

Celem badania jest oznaczenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej w warunkach „in vitro" promieniowania UVC w dwóch zakresach czasowych: 15 min i 30 min na przykładzie szczepów wzorcowych.

Drobnoustroje testowe użyte do badania:

Bacillus subtilis ATCC 6633

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Escherichia coli ATCC 8739

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027

Aspergillus brasiliensis ATCC 16404

Candida albicans ATCC 1023

Materiały, podłoża, odczynniki i sprzęt badawczy:

- TSA (Triptic Soy Agar) firmy Oxoid;
- SDA (Sabouraud Dextrose Agar) firmy Oxoid
- Jałowy roztwór soli fizjologicznej firmy BTL
- Densytometr firmy Grand Bio-Den-1
- Ezy sterylne firmy FL Medical
- Głaszczki sterylne firmy VWR
- Oprawa A-69-UVC-60-18W

Metoda badania:

1. Badanie przeprowadzono w dwóch wariantach czasowych działania promieniowania UVC na drobnoustroje testowe – 15 min oraz 30 min, o inokulum szczepów wzorcowych — ok. 1 x 10^7 CFU/100µl bakterie oraz – ok. 1 x 10^6 CFU/100µl grzyby drożdżowe, ok. 1 x 10^4/100 µl grzyby strzępkowe. Wykonano zawiesinę szczepów wzorcowych o inokulum ok. 1 x 10^8 CFU/ml, a nastepnie seryjnych rozcieńczeń (od 10^{-1} do 10^{-6}) i posiew po 100 µl w dwóch powtórzeniach na odpowiednie podłoża w celu weryfikacji gęstości zawiesin.

2. Posiew po 100 µl w dwóch powtórzeniach zawiesiny szczepów wzorcowych (każdy na odpowiednie podłoże) i poddanie naświetleniu UVC przez 15 min przy użyciu Oprawy A-69-UVC-60-18W – próba badana. Płytki z mikroorganizmami rozmieszczono na stole laboratoryjnym w różnych rozmieszczeniach wg schematu (załącznik 1-3).

3. Analogicznie wykonano badanie z wariantem czasowym 30 min.

4. Posiew po 100 µl w dwóch powtórzeniach zawiesiny szczepów wzorcowych (każdy na odpowiednie podłoże) bez naświetlania UVC – próba kontrolna.

5. Inkubacja próby badanej po poddaniu działania promieniowania UVC oraz kontroli nienapromieniowanej UVC.

6. Posiew szczepów wzorcowych o znanym inokulum na wcześniej naświetlone przez 30 min podłoża: TSA i SDA oraz na podłoża nie poddane promieniowaniu UVC w celu sprawdzenia wpływu UVC na żyzność podłoża hodowlanego wykorzystanego w doświadczeniu.

Warunki inkubacji:

TSA (Triptic Soy Agar) - 36°C±1°C / 18 – 20 h - *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa Bacillus subtilis;*

SDA (Sabouraud Dextrose Agar) - 33°C±1°C / 3 dni - *Candida albicans;*

SDA (Sabouraud Dextrose Agar) - 22,5°C±2,5°C / 4 dni - *Aspergillus brasiliensis;*

Wyniki przedstawiono w tabelach (*Tabela 1-2*).

Wyniki:

Tabela 1: Miano drobnoustrojów testowych:

Rodzaj szczepu	Ilość drobnoustrojów w standaryzowanej zawiesinie (CFU/ml)	Ilość drobnoustrojów w standaryzowanej zawiesinie wysianych na podłoża wcześniej naświetlane UVC – 30 min (CFU/ml)
Staphlococcus aureus ATCC 6538	$0,7 \times 10^8$	$0,8 \times 10^8$
Escherichia coli ATCC8739	$2,0 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$
Bacillus subtilis ATCC 6633	$0,9 \times 10^8$	$0,9 \times 10^8$
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	$0,7 \times 10^8$	$0,5 \times 10^8$
Candida albicans ATCC 10231	$1,6 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	$0,5 \times 10^5$	$0,4 \times 10^5$

CFU – (colony-forming unit) – jednostka określająca liczbę mikroorganizmów (jednostka tworząca kolonię)

Tabela 2: Wpływ UVC w prototypie urządzenia na szczepy wzorcowe z posiewu (w dwóch powtórzeniach z wszystkich miejsc pomiarowych) po 100 µl inokulum 10^8 CFU/ml – bakterie, 10^7 CFU/ml – grzyby drożdżowe, 10^5 CFU/ml grzyby strzępkowe :

Rodzaj szczepu	Kontrola (średnia) – posiew bez naświetlania (CFU/100ul)	Średnia CFU/100ul po 15 min UVC	Stopień redukcji liczby drobnoustrojów po 15 min UVC [%]	Średnia CFU/100ul po 30 min UVC	Stopień redukcji liczby drobnoustrojów po 30 min UVC [%]
Staphylococcus aureus ATCC 6538	$0,7 \times 10^7$	36,44	99,99	24,38	99,99
Escherichia coli ATCC 8739	$2,0 \times 10^7$	72,88	99,99	46,72	99,99
Bacillus subtilis ATCC 6633	$0,9 \times 10^7$	128,88	99,99	34,16	99,99
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	$0,7 \times 10^7$	30,33	99,99	17,05	99,99
Candida albicans ATCC 10231	$1,6 \times 10^6$	50,66	99,99	7,5	99,99
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	$0,5 \times 10^4$	11,61	99,99	9,16	99,99

CFU – (colony-forming unit) – jednostka określająca liczbę mikroorganizmów (jednostka tworząca kolonię)

W *Załączniku 4* umieszczono tabele z wartościami liczbowymi wyrośniętych kolonii mikroorganizmów z poszczególnych miejsc pomiarowych.

Podsumowanie i wnioski:

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badana **Oprawa UVC nr A-69-UVC-60-18W** działa bakteriobójczo i grzybobójczo, **redukując ilość posianych drobnoustrojów o 99,99% w obydwu testowanych czasach naświetlania: 15 i 30 min**. Mimo znaczącej redukcji procentowej drobnoustrojów, wartości liczbowe wyrośniętych kolonii wskazują na to, że dłuższy czas naświetlania redukuje wzrost w większym stopniu, szczególnie w przypadku mikroorganizmów wytwarzających formy przetrwalnikowe – spory (*Bacillus* sp.) i grzybów strzępkowych (*Aspergillus* sp.).

Załączniki:

1-3. Schemat układu doświadczalnego

4. Tabele z wynikami pomiarów

5. Link do zdjęć wyników badania

Legenda do oznaczeń na podłożach hodowlanych przedstawionych na zdjęciach:

EC, BS, SA, PsA, Can, Asp – skrót testowanego mikroorganizmu, kolejno: *E. coli, B. subtilis, S. aureus, P. aeruginosa C. albicans, A. brasiliensis*

LG, LŚ, LD – położenie płytki na stole laboratoryjnym L – lewa strona stołu, G, Ś, D – odpowiednio położenie: górne, środkowe, dolne

ŚG, ŚŚ, ŚD – położenie płytki na stole laboratoryjnym Ś – środek stołu, G, Ś, D – odpowiednio położenie: górne, środkowe, dolne

PG, PŚ, PD – położenie płytki na stole laboratoryjnym P – prawa strona stołu, G, Ś, D – odpowiednio położenie: górne, środkowe, dolne

15', 30' – czas naświetlania płytki (w minutach)

Badanie wykonał:

Kamila Nawieśniak | Specjalista ds. Mikrobiologii

Kamila Nawieśniak

Raport sporządził i zatwierdził:

Małgorzata Głowacka-Twardokęs | Kierownik Laboratorium Mikrobiologii

Małgorzata Głowacka-Twardokęs