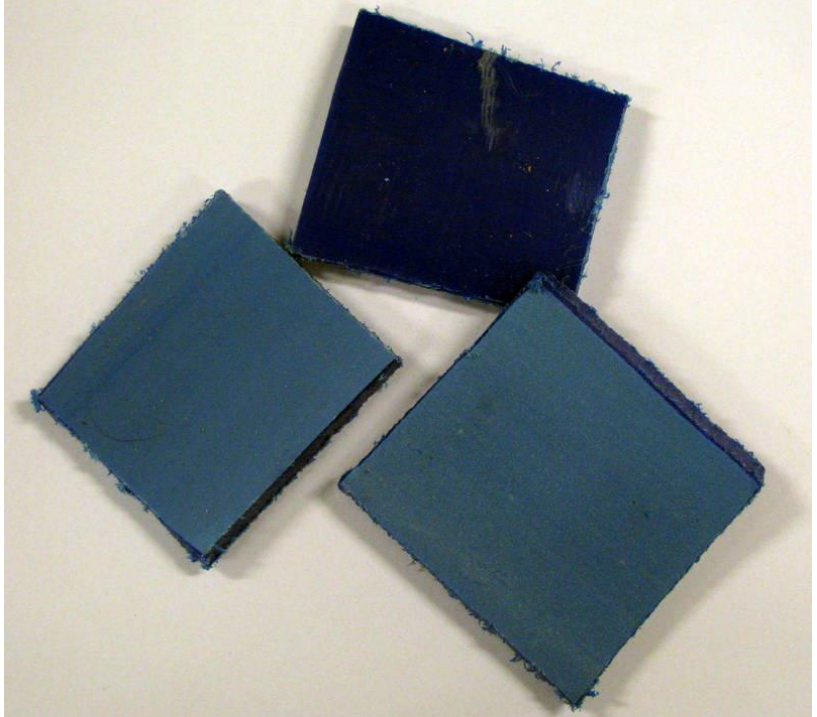
	Blirt S.A. 80-172 Gdańsk, ul. Trzy Lipy 3/1.38
	<p align="center"><b>RAPORT Z BADAŃ</b> Dział DNA-Gdańsk</p>
Nr zlecenia	<b>01369/2015/D/AGST</b>

NAZWA I ADRES KLIENTA	<b>Zenon Koszorz</b> <b>Ground-Therm Sp z o.o.</b> <b>Ul. Stepowa 30</b> <b>44-105 Gliwice</b>
<b>Tytuł zlecenia:</b> <b>Pomiar aktywności przeciwbakteryjnej powierzchni plastikowych wg PN-EN ISO 22196:2007</b>	
<b>Dostarczony materiał:</b> fragmenty rury Gruntowego Wymiennika Ciepła	
<b>Ilość próbek:</b> 1	<b>Rodzaj próbek:</b> fragmenty rury
<b>Wykonawcy Badania:</b> mgr Agnieszka Stanisławska	
<b>Kierownik Badania:</b> dr inż. Krzysztof Kur	
<b>Osoba otrzymująca sprawozdanie:</b> Pan Zenon Koszorz	

## I. Dostarczone próbki

Dostarczone próbki	
Opis i zdjęcie	
fragmenty rury Gruntowego Wymiennika Ciepła	

## II. Metody badawcze

Metody badawcze	
Nr	Opis
1.	PN-EN ISO 22196:2007 Pomiar aktywności przeciwbakteryjnej powierzchni plastikowych

### III. Postępowanie doświadczalne

#### 1. PN-EN ISO 22196:2007

##### Przygotowanie szczepów

- *Escherichia coli* ATCC 8739
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Hodowle bakterii zostały przed analizą dwukrotnie odświeżone poprzez przesianie na skosy z agarem odżywczym i inkubowane przez 24h w temperaturze  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

##### Przygotowanie próbek

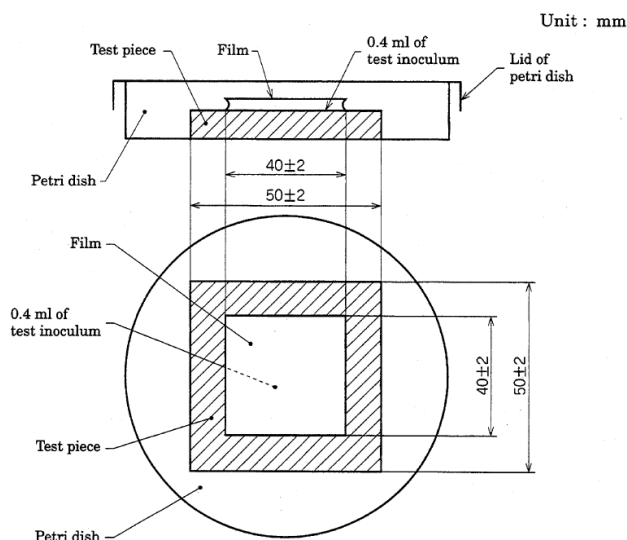
Próbki badane oraz kontrolne zostały wyjałowione promieniami UV w komorze laminarnej, ekspozycji zostały poddane obie strony badanych próbek.

Działaniu promieni UV poddano również fragmenty filmu o wymiarach  $40 \times 40$  mm służące jako „materiał nakrywkowy”.

##### Inokulacja

Komórki drobnoustrojów zawieszono w jałowym bulionie odżywczym rozcieńczonym w proporcji 1:500 ( $\text{pH } 7,0 \pm 0,1$ ) do ilości  $\sim 10^5$  kom/ml.

Przygotowane próbki badane i próbki kontrolne umieszczono w jałowych szalkach Petriego, na powierzchnię każdej naniesiono 0,4 ml inokulum i za pomocą jałowej pęsety przykryto je fragmentem filmu  $40 \times 40$  mm (zgodnie ze schematem zamieszczonym na Rys.1).



Rys.1 Schemat sposobu inokulacji zaczerpnięty bezpośrednio z normy PN-EN ISO 22196:2007.

## **Inkubacja**

Szalki Petriego zawierające zaszczepione 3 badane próbki każdego tworzywa oraz próbki kontrolne poddano inkubacji przez 24h w temperaturze  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  i wilgotności względnej  $95\% \pm 1\%$  w komorze klimatycznej KBK-30W, WAMED.

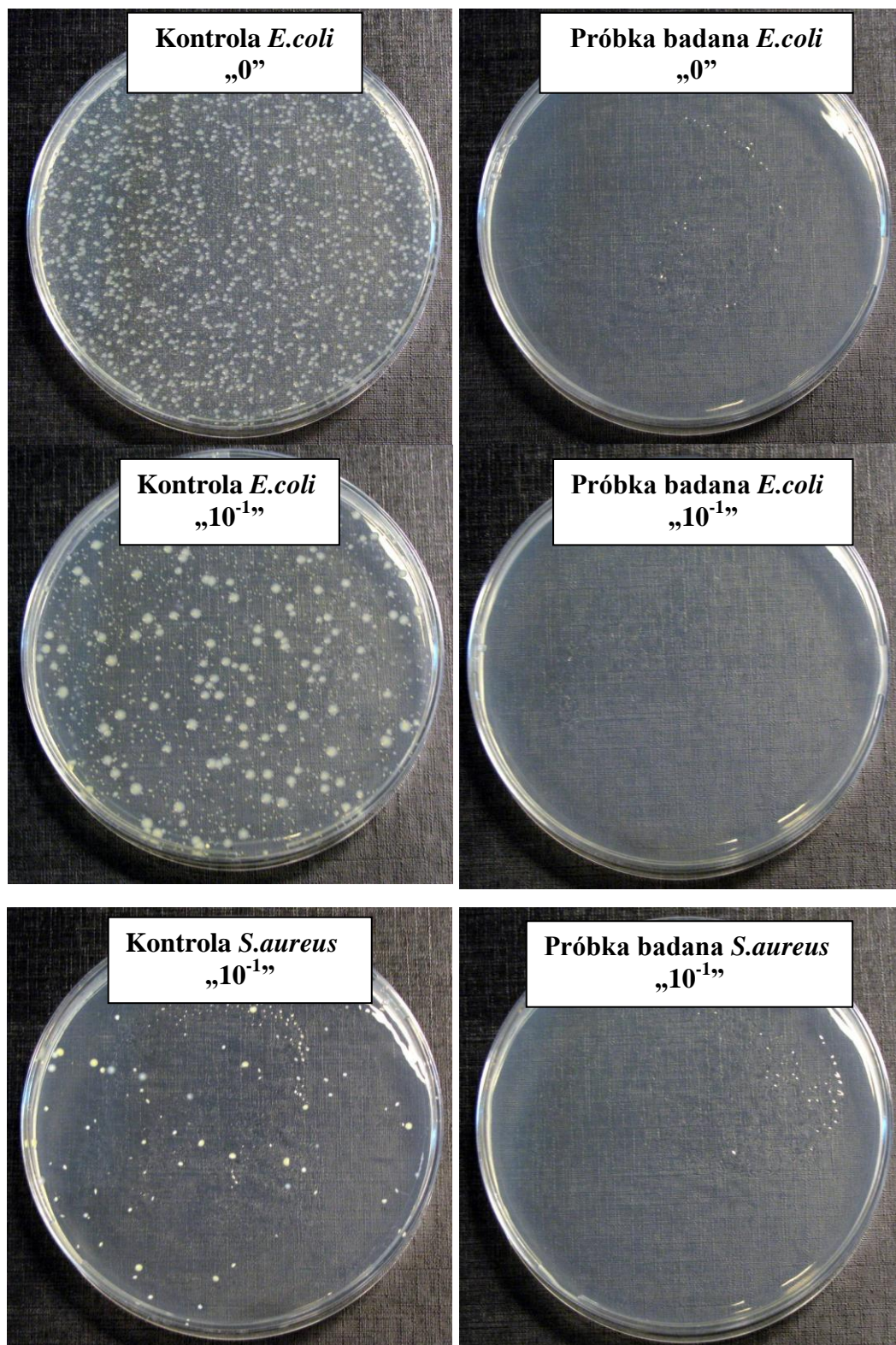
## **Ocena ilości drobnoustrojów**

Połowę próbek kontrolnych bezpośrednio po naniesieniu inokulum i filmu  $40 \times 40$  mm umieszczono w jałowym worku do stomachera, dodano 10 ml jałowego roztworu neutralizującego SCDLP i „masowano” w celu wypłukania drobnoustrojów do roztworu SCDLP.

Próbki (badane i kontrolne) inkubowane w komorze klimatycznej po zakończeniu okresu inkubacji poddano procesowi płukania analogicznie do próbek kontrolnych bezpośrednio po naniesieniu inokulum.

Z każdego roztworu SCDLP (dla każdej próbki badanej i kontrolnej) pobrano 1 ml i zawieszono w 9 ml roztworu buforowanej soli fizjologicznej, wymieszano dokładnie i sporządzono dalsze dziesiętne seryjne rozcieńczenia. 1 ml każdej próbki roztworu płuczającego oraz seryjnego rozcieńczenia naniesiono na powierzchnie jałowej szalki Petriego i zalano 20 ml upłynnionego podłoża agarowego PCA (Plate Count Agar) ostudzonego do temperatury  $\sim 47^{\circ}\text{C}$ . Szalki odstawiono do stężenia agaru, po czym wszystkie płytki umieszczono w szafie termostatycznej (ST 3/3+, POLEKO) i inkubowano przez 48h w temperaturze  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Po zakończeniu procesu inkubacji zliczano komórki wyrosłe na płytkach.

## Wyniki



**Zdj.1. Posiew na podłożu PCA** - odczyt po 24 h inkubacji. Przykładowe płytki odpowiadające rozтворowi SCDLP uzyskanemu po odptulkaniu inokulum z próbek badanych oraz kontrolnych po 24h inkubacji oraz jego dziesięciokrotnym rozcieńczeniu.

## Obliczanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej

Wartość aktywności przeciwdrobnoustrojowej ( $R$ ) dla próbki obliczano według wzoru:

$$R = (\log B - \log A) - (\log C - \log A) = \log B - \log C = \log B/C,$$

gdzie:

$R$  – wartość aktywności przeciwdrobnoustrojowej,

$A$  – średnia liczba żywych komórek bakterii na próbkach kontrolnych bezpośrednio po inokulacji,

$B$  – średnia liczba żywych komórek bakterii na próbkach kontrolnych po 24h inkubacji,

$C$  – średnia liczba żywych komórek bakterii na próbkach badanych po 24h inkubacji.

### Średnia ilość komórek dla próbek kontrolnych:

*E. coli*:     0h –  $7,4 \times 10^4$  jtk/ ml  
               24h –  $3,4 \times 10^4$  jtk/ ml

*S.aureus*:   0h –  $5,2 \times 10^4$  jtk/ ml  
               24h –  $2,3 \times 10^3$  jtk/ ml

### Średnia ilość komórek dla próbek badanych:

*E. coli*:  
           24h – brak wzrostu

*S.aureus*:  
           24h – brak wzrostu

$$R_{E.coli} > 2$$

$$R_{S.aureus} > 2$$

## WNIOSKI:

Norma PN-EN ISO 22196:2007 nie wskazuje jednoznacznie jaką wartość R można uznać za satysfakcjonującą pod kątem posiadanej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Inna norma zawierająca procedurę określania aktywności przeciwdrobnoustrojowej materiałów - JIS Z 2801:2000 (Test for antimicrobial activity and efficacy) wskazuje natomiast, iż właściwości przeciwdrobnoustrojowe można przypisać próbkom, dla przypadku których wartość R jest równa lub przekracza wartość 2,0.

Zarówno dla *E. coli*, jak i dla *S.aureus* przy zastosowanej ilości kom/ml w inokulum, nie uzyskano wzrostu komórek na próbkach badanych.

Na podstawie uzyskanych wyników aktywność przeciwbakteryjną próbki rury Gruntowego Wymiennika Ciepła można oszacować jako  $R > 2$ , co wskazuje na właściwości przeciwbakteryjne badanej próbki.

<b>Data zakończenia badania</b>	20.02.2015r.
<b>Wykonawcy badania</b>	mgr Agnieszka Stanisławska
<b>Kierownik badania</b>	dr inż. Krzysztof Kur