



ZDRAVOTNÍ ÚSTAV se sídlem v Ostravě
Centrum klinických laboratoří
Pracoviště 1 - Ostrava
Laboratoř pro kontrolu dezinfekce a sterilizace
Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava
IČO: 71009396
DIČ: CZ71009396

NAŠE ZNAČKA: 6/DP/17
VYŘIZUJE: RNDr. Erich Pazdziora, CSc.
TELEFON: 596 200 355, 227
DATUM: 12. 4. 2017

Nano4people s. r. o.
Zahradní 762
739 21 Paskov

Výsledky testování antimikrobiálních vlastností nátěru s nanočásticemi TiO₂ proti *Aspergillus brasiliensis*

Do naší laboratoře pro kontrolu dezinfekce a sterilizace ZÚ v Ostravě byly dne 1. 2. 2017 doručeny firmou Nano4people s. r. o. k vyšetření vzorky sádrokartonových desek kryté multifunkčním nátěrem Protectam FN1, FN2, FN3, obsahujícím nanočástice TiO₂, vyráběným firmou Advanced Materials-JTJ s.r.o., Kamenné Žehrovice 23, 273 01 Kamenné Žehrovice.

Cílem bylo stanovit antimikrobiální aktivitu fotokatalýzy na mikroskopické vláknité houby. Pro srovnání byly dodány kontrolní desky s nátěrem bez nanoTiO₂. Objednávka byla přijata pod číslem ZU/09051/2017.

Datum vyšetření: 1. 2. 2017- 14. 3. 2017. Expoziční časy jsme zvolili v minutových intervalech 0, 120 a 240 min a následně v hodinových intervalech – 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h, 144 h, 168 h, 240 h, 312 h. V jednotlivých dnech jsme osvětlovali desky po dobu pracovní směny - tj. 8 hodin.

Metodika

Antimikrobiální aktivita nanočástic TiO₂ v nátěru byla zjišťována na sbírkovém kmene *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222. Denzita mikrobiální suspenze (konidiospor) po 7 denní kultivaci kmene byla stanovena denzitometrem.

K pokusům byly použity suspenze konečné denzity 10⁶, 10⁵, 10⁴ a 10³ CFU/ml. Testy probíhaly za UVA světla v laminárním boxu metodou otiskovou a následně za denního světla u okna metodou otiskovou a stírací. Testovací pole mělo rozměry 5 x 5 cm.

Po uvedených dobách expozice byly v případě otiskové metody provedeny vždy 3 otisky postupně na tři plotny velikosti 25 cm² s vylitým MEA agarem (maltózo-kvasničný agar) a v případě stírací metody byly testovací pole setřeny tampónem (2x) a tampóny pak byly vytřepány do 1 ml 0,1 % polysorbátu 80 ve vodě.

Následně bylo 100 µl a 500 µl inokulováno na MEA agary.

Po inkubaci při 30 °C po dobu 48 h v termostatu jsme odečítali počty narostlých kolonií (CFU). Hodnotil se postupný úbytek CFU v přítomnosti nano TiO₂ oproti kontrolním vzorkům bez nanoTiO₂. Nanesená suspenze *Aspergillus brasiliensis* na skle poskytla informaci o přežívání vláknitých hub.

Metoda přímých otisků na krevní agar vychází z normy ISO 22196:2011 Plastics – Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces, stírací metoda je modifikovaná dle norem ČSN EN 13697 a ČSN EN 16615.

Výsledky

1. Výsledky orientačního testu jsou uvedeny v příloze č. 1. Test byl proveden otiskovou metodou na MEA agary, vzorky byly exponovány UVA světlu. Ukázalo se, že ani po 24 h nedochází k poklesu v počtu kolonií *Aspergillus brasiliensis* v nátěru s TiO₂ oproti kontrolnímu nátěru bez TiO₂. Součet kolonií ze 3 otisků při výchozí denzitě konidiospor 10⁵ byl po 24 h u nátěru s TiO₂ 74 CFU (Tab. 1), v kontrolním nátěru 84. Při nižší denzitě 10⁴ nebyly rozdíly mezi nátěry s TiO₂ (14) a bez TiO₂ (16 CFU). Otisková metoda v krátkých časech do 24 hodin neposkytla očekávané výsledky. Z toho důvodu jsme museli časovou řadu prodloužit.
2. V příloze č. 2 jsou uvedeny výsledky testované denzity konidiospor 10⁵ (Tab. 3) a 10⁶ (Tab. 4) na nátěrech osvětlovaných UVA světlem v laminárním boxu. Byla použita otisková metoda a doba expozice 0 až 96 hodin.
Po 96 h expozici se fotokatalytický efekt neprojevil - v kontrolním nátěru bylo v součtu 129 CFU, ve vzorku 159 CFU.
Při denzitě 10⁶ měl kontrolní nátěr vyšší antimikrobiální účinek než nátěr s TiO₂. Součet kolonií byl v kontrolním nátěru 79, v nátěru s TiO₂ nespouštěné množství. Výsledky prokázaly, že denzity konidiospor 10⁵ i 10⁶ jsou příliš vysoké pro testování otiskovou metodou.
Pro další testování jsme zvolili nižší denzitu 10⁴ a 10³ (příloha č. 3). Testování probíhalo formou otisků za osvětlování UVA světlem (Tab. 5, Tab. 7) i při denním osvitu (Tab. 6, Tab. 8) - desky byly uloženy na parapetu okna.
Denzita 10⁴ nebyla pro hodnocení po osvitu UVA lampou přesvědčivá. V Tab. 5 vidíme, že se ani po 96 h se fotokatalytický efekt neprojevil. V nátěru s TiO₂ byl 35 CFU, v kontrolním nátěru 25.
V Tab. 6 jsou uvedeny výsledky testování za denního světla, po umístění desek na parapetu okna. Počty jednotlivých kolonií ve vzorku (17 CFU) jsou menší než v kontrolním nátěru (49 CFU).
Denzita 10³ byla pro hodnocení příliš nízká. V Tab. 7 i v Tab. 8 vidíme, že počty kolonií klesly již po 24 hodinách.
3. Pro hodnocení fotokatalytického účinku se nám osvědčila modifikovaná stírací metoda (Příloha č. 4). Dávku suspenze jsme zvětšili ze 100 µl na 500 µl denzity 10⁴/ml na každé testovací pole. Pro ověření účinku a jsme expoziční čas prodloužili až na 312 hodin.
Kromě prvního dodaného nátěru (nátěr č. 1) jsme testovali také novou desku z aktuálně použitého nátěru v nemocnici (nátěr č. 2). Pro přiblížení praktických podmínek, kdy plísně rostou za vlhkých podmínek, jsme každý den testovací pole vlhčili 0,5 ml sterilní destilované vody.
4. Přesné počty přežívajících CFU jsou uvedeny v Tab. 10 (dávka 100 µl na plotnu) a Tab. 11 (dávka 500 µl na plotnu). Výsledky testu za sucha v rámci obou nátěrů kolísaly. Počty zjištěných CFU po expoziční době 144 h a 312 h jsou po přepočtení

na 1 ml z dávky 100 µl u nátěru č. 1 - NM a 270, v nátěru č. 2 - 230 a 170, v kontrolním nátěru nespočetné množství.

5. Tabulky č. 12 a 13 uvádějí počty CFU v přepočtu na 1000 µl, tzn. na 1 ml. Tabulka 12 ukazuje, že po 144 hodinách se uplatňuje fotokatalytický účinek u obou nátěrů s nano TiO₂ ve srovnání s kontrolním nátěrem bez přítomnosti nanočástic. V tabulce 13 při přepočtu z dávky 500 µl jsou výsledky přesvědčivé. Ve zvlněných nátěrech jsou hodnoty CFU po 144 hodinách 178 a 184 CFU v 1 ml, zatímco v kontrole bylo nespočetné množství CFU.
Po 312 hodinách jsou počty 28 a 60 výrazně nižší než v kontrole bez přítomnosti nanočástic (114).
6. Tab. č. 14 ukazuje účinnost nátěru s TiO₂ na bakterie *Staphylococcus aureus* denzity suspenze 1 . 10⁵ CFU/ml v dávce 500 µl.
Počet CFU/ml po expoziční době 240 minut (14) a 24 hodin (5) svědčí o redukci o 3 a 4 logaritmické řády.

Závěr

1. Účinnost nátěrů s obsahem nanočástic TiO₂ se na mikroskopické vláknité houby (*Aspergillus brasiliensis*) projevila po delší časové expozici nežli na bakterie (Tab. 14).
2. Fotokatalytický účinek nátěrů s nanočásticemi TiO₂ je za vlhkých podmínek zřetelný. K hynutí konidiospor a k redukci o 2 až 3 logaritmické řády dochází po 144 hodinách expozice dennímu světlu.

Ždravotní ústav se sídlem v Ostravě

Centrum klinických laboratoří
Oddělení bakteriologie a mykologie
Laboratoř pro kontrolu dezinfekce a sterilizace
Partyzánské náměstí 7, 702 00 Ostrava

Tel.: 596 200 227

2

RNDr. Erich Pazdziora, CSc.,
garant vyšetření