



ZDRAVOTNÍ ÚSTAV se sídlem v Ostravě  
Oddělení bakteriologie a mykologie  
Antibiotické středisko Ostrava, laboratoř NND 2  
Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava  
Tel.: 596 200 158, 227

VYŘIZUJE: RNDr. Erich Pazdziora, CSc.

Ing. Jan Procházka  
Advanced Materials-JTJ s.r.o.,  
273 01 Kamenné Žehrovice 23

TELEFON: 596 200 158

DATUM: 18. 9. 2008

### **Výsledky testování účinnosti nátěru s obsahem TiO<sub>2</sub> mikrobiologickou metodou**

Na základě objednávky firmy Ing. Jan Procházka, Advanced Materials-JTJ s.r.o., 273 01 Kamenné Žehrovice 23, IČO: 26763842, DIČ: CZ26763842 ze dne 24.dubna 2008 byly provedeny antibakteriální test na fotokatalytických nátěrech s použitím materiálů, které byly předány během setkání dne 22.4.2008.

#### Metodika

1. K testování byly použity dva druhy bakterií, které přežívají na plochách ve zdravotnických zařízeních:  
Staphylococcus aureus sbírkový kmen CCM 3953  
Enterococcus faecalis sbírkový kmen CCM 4224  
  
Oba kmeny používáme k testování účinnosti dezinfekčních prostředků suspenzí mikrometodou. Jsou dostatečně odolné pro testování antimikrobních látek.
2. Denzita bakterií v suspenzi byla stanovena denzitometrem a dosahovala v každém pokusu více než  $1 \cdot 10^8$  CFU na 1 ml suspenze ( $1,5 \cdot 10^8$ ,  $5,6 \cdot 10^8$  a  $1,8 \cdot 10^8$ ).  
CFU označuje kolonie tvořící jednotky, tj. rostoucí na ploše agarů v samostatných koloniích.
3. Pro sledování počtu kolonií před pokusy a během pokusů byla zvolena metoda přímých otisků na plotnu s agarem plochy  $28 \text{ cm}^2$ . Pro experimenty se stafylokoky i enterokoky byl použit krevní agar. V předpokusech byly ověřovány selektivní agary. Protože se neosvědčily, nebyly výsledky do závěrečných tabulek začleněny.  
Přímé otisky byly použity proto, že je používáme při kontrole mytí, čištění a dezinfekce ploch a povrchů ve zdravotnických zařízeních. Jsou jednoduché a minimálně ovlivněné laboratorním provedením.
4. Nátěry s oxidem titaničitým (TiO<sub>2</sub>) byly na dodaných skleněných deskách velikosti 15 x 20 cm ( $300 \text{ cm}^2$ ) s drsným povrchem.  
Kontrolní skleněné plochy bez naneseného testovaného nátěru měly stejnou velikost a stejný charakter povrchu.

5. K osvětlování byl použit zdroj UVA záření 370 nm Omnilux. Na základě doporučení výrobce a dostupných metodik byla doba osvitů stanovena 20, 60 a 120 minut. Kontroly bez osvitů jsou označeny 0 minut.
6. Pro sledování dlouhodobého fotokatalytického působení TiO<sub>2</sub> byly všechny plochy sledovány i po uplynutí 24 hodin a po 5 dnech. Skleněné desky byly ponechány v uzavřeném laminárním boxu a proti světelnému záření a poklesu vlhkosti byly chráněny fólií z alobalu.
7. Experimenty byly provedeny následovně:

Enterococcus faecalis CCM 4224: suspenze  $1,5 \cdot 10^8$  a  $5,6 \cdot 10^8$  v množství 300 mikrolitrů byla v obou pokusech rozetřena rovnoměrně na plochu, tzn. pokrytí povrchu bakteriemi objemu 10  $\mu$ l na 1 cm<sup>2</sup>. Takové množství bakterií po přímém otisku narostlo na krevním agaru v počtu označeném NM – nespočetné množství. Kolonie byly po 24 hodinovém růstu na agaru v termostatu při  $36 \pm 1$  °C vzájemně propojeny až slity. Daly-li se na ploše agaru kolonie spočítat, byl počet vyjádřen do 100 kolonií počtem jednotek, nad 100 kolonií se zaokrouhlením na desítky kolonií. Při každém odběru z testovacích ploch byly provedeny 3 otisky. V tabulkách jsou pro přehlednost uvedeny průměrné počty připadající vždy na jednu plotnu, tj. na 28 cm<sup>2</sup>. Bylo-li množství nepočitatelné, bylo vyjádřeno např. NM nebo 3 x NM. Se suspenzí Staphylococcus aureus CCM 3953 byl pokus proveden stejně.

## Výsledky

1. Tabulka 1 ukazuje rozdílné přežívání Enterococcus faecalis na plochách bez nátěru a s nátěrem TiO<sub>2</sub>.  
Odběry provedené v čase 0 až 120 minut po zaschnutí suspenze prokázaly nespočetné množství přežívajících bakterií (K1).  
Během 0 – 120 minutového osvitů došlo vlivem TiO<sub>2</sub> postupně k celkovému snížení počtu kolonií z NM na 1893, 1667 a 767. Celkový počet kolonií byl 4327 (K1 TiO<sub>2</sub>).  
Odběry po uplynutí 24 hodin ukázaly další pokles na 8,8 % původního počtu kolonií.
2. Během 24 hodin docházelo ke spontánnímu hynutí bakterií. Samotný účinek nátěru s TiO<sub>2</sub> musíme porovnávat s počtem počítatelných kolonií ve stejném čase.  
Z celkového počtu 1573 kolonií došlo k poklesu na 379, tj. na 24 % srovnávaného počtu po uplynutí 24 hodin.
3. Tabulka 2 poskytuje výsledky druhého experimentu s Enterococcus faecalis vysoké denzity  $5,6 \cdot 10^8$ .  
Odběry provedené v čase 0 až 120 minut po zaschnutí suspenze prokázaly nespočetné množství přežívajících bakterií na všech otiscích (K1).  
Během 0 – 120 minutového osvitů došlo postupně k celkovému snížení počtu kolonií z NM NM 285 na počítatelné množství 330 a 208 kolonií. Celkový počet kolonií můžeme vyjádřit NM NM a 1103.
4. Odběry po uplynutí 24 hodin ukázaly celkový pokles na NM NM 297 kolonií.  
Během 24 hodin docházelo ke spontánnímu hynutí bakterií. Samotný účinek nátěru s TiO<sub>2</sub> musíme porovnat s počtem počítatelných kolonií ve stejném čase. Z celkového

počtu NM NM 297 kolonií došlo k poklesu na 462. V daném případě se nedá procentuálně pokles vyjádřit. Je však naprosto zřejmý – pokles na celkových 462 kolonií.

- Odběry po uplynutí 5 dní ukázaly zřetelný vliv přítomnosti  $\text{TiO}_2$  v nátěru. Během 5 dní docházelo ke spontánnímu hynutí bakterií na 618 kolonií. Samotný účinek nátěru s  $\text{TiO}_2$  musíme porovnat s počtem počítatelných kolonií ve stejném čase. Z celkového počtu 618 kolonií došlo k poklesu na plochách s  $\text{TiO}_2$  na 5. To znamená pokles na 0,8 % srovnávaného počtu po uplynutí 5 dní.
- Tabulka 3 představuje výsledky experimentu se *Staphylococcus aureus*  $1,8 \cdot 10^8$ . Odběry provedené v čase 0 až 120 minut po zaschnutí suspenze prokázaly nespočetné množství přežívajících bakterií na všech otiscích (K1). Během 0 – 120 minutového osvětlení došlo postupně k celkovému snížení počtu kolonií z 3 x NM na počítatelné průměrné množství 37 – 173 kolonií. Celkový počet kolonií byl 370.
- Odběry po uplynutí 24 hodin ukázaly celkový pokles na 985 kolonií. Během 24 hodin docházelo ke spontánnímu hynutí bakterií. Samotný účinek nátěru s  $\text{TiO}_2$  budeme proto porovnávat s počtem počítatelných kolonií ve stejném čase. Z celkového počtu 985 kolonií došlo k poklesu na 370. To znamená pokles na 37,6 % srovnatelného počtu přežívajících bakterií bez vlivu  $\text{TiO}_2$ .
- Odběry po uplynutí 5 dní ukázaly zřetelný vliv přítomnosti  $\text{TiO}_2$  v nátěru. Během 5 dní docházelo ke spontánnímu hynutí bakterií na 519 kolonií. Samotný účinek nátěru s  $\text{TiO}_2$  proto porovnááme s počtem počítatelných kolonií ve stejném čase. Z celkového počtu 519 kolonií došlo k poklesu na plochách s  $\text{TiO}_2$  na 7. To znamená pokles na 1,3 % srovnávaného počtu po uplynutí 5 dní.

## Diskuse

Fotokatalytické antimikrobiální působení oxidu titaničitého je známo z literatury i z praxe. Některé příliš optimistické výsledky v laboratorních podmínkách se v praxi nepotvrdí. Účinná látka musí být v nátěru ve velikosti nanočástic, tj.  $10^{-9}$ .

Výsledky jednotlivých experimentů i v téže laboratoři se mohou lišit. Jak plyne z našich výsledků, je třeba zvolit odpovídající denzitu bakterií.

K pokusům jsou vhodné kmeny, které dlouhodobě přežívají za běžných laboratorních podmínek v zaschlém stavu suspenze. Z pokusů vyplynulo, že dochází k výraznému poklesu životaschopných bakterií. Spontánní exponenciální hynutí musíme při experimentech zohlednit a výsledky fyzikálních a chemických vlivů musíme porovnávat s kontrolní plochou po uplynutí stejné doby.

Velmi zajímavé ale očekávané je zjištění, že bude záležet na době expozice bakterií k nanočásticím  $\text{TiO}_2$ .

Odběry prováděné ihned po osvětlení desky s nanosenou suspenzí se nedají při vysoké denzitě hodnotit přesným počítatelným počtem bakterií. Snížíme-li původní denzitu, jsou počty bakterií na otiskových plotnách nízké a obtížně srovnatelné.

Naše zkušenosti ukázaly, že původní populace bakterií musí být vyšší, avšak hodnocení vlivu TiO<sub>2</sub> je vhodné provádět nejdříve za 24 hodin. Můžeme logicky předpokládat, že každý fyzikální a chemický vliv zkoumané látky vyžaduje odpovídající expozici. Stanovení potřebné doby expozice nebylo naším cílem.

## Závěr

Pokusy s nátěrem obsahujícím TiO<sub>2</sub> prokázaly po uplynutí 24 hodin pokles na 8,8 % původního počtu kolonií *Enterococcus faecalis*. Při vysoké denzitně populace došlo k poklesu z původního nespočetného množství na 462 kolonií.

U *Staphylococcus aureus* byl za 24 hodin pokles na 37,6 % srovnatelného počtu přežívajících bakterií bez vlivu TiO<sub>2</sub>.

Ve dvou pokusech s odběry po 5 dnech se ukázal pokles výskytu enterokoků na 0,8 % a pokles stafylokoků na 1,3 % srovnávaného počtu.

Experimenty poskytly důkazy o výrazném antimikrobiálním účinku testovaného nátěru připraveného firmou Ing. Jan Procházka, Advanced Materials-JTJ s.r.o., 273 01 Kamenné Žehrovice 23.

Doporučuji aplikovat a ověřit nátěry v provozních zkouškách ve zdravotnických zařízeních.

RNDr. Erich Pazdziora, CSc., v.r.  
garant vyšetření

Zpráva obsahuje:  
text 4 strany + příloha 2 strany