

Badanie wykonano dla: Janusz Chrabota, Glover Sp. z o.o. Sp. k. 30-206 Kraków, ul. Księcia Józefa 54A

Raport z badania mikrobiologicznego nad skutecznością dezynfekcji telefonu za pomocą urządzenia Dezzy UV Sani3

1. Materiał

1.1. Dwa telefony używane w różnych środowiskach (dom, praca, sklep) o wymiarach 13cm x 7cm (91cm²) i 12,7cm x 6,5cm (82,5cm²).

1.2. Szczepy wzorcowe bakterii: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (gronkowiec złocisty, ziarenkowiec Gram dodatni), *Escherichia coli* ATCC 25912 (pałeczka okrężnicy z rodziny Enterobacteriaceae, Gram ujemna), *Candida albicans* ATCC 10231 (grzyb drożdżopodobny); szczep środowiskowy: *Bacillus subtilis* (laseczka sporująca, Gram dodatnia); szczep flory fizjologicznej człowieka *Staphylococcus epidermidis* (gronkowiec skórny, ziarenkowiec Gram dodatni)

2. Metoda

Do dezynfekcji wykorzystano urządzenie Dezzy UV Sani3 ze światłem UV-C

W badaniu zastosowano metodę odciskową oraz metodę wymazu powierzchni (metodę tamponową). W każdym przypadku telefony badano pod kątem obecności drobnoustrojów przed i po procesie dezynfekcji.

W badaniu wykorzystano płytki Petriego plastikowe o średnicy 150mm oraz płytki Petriego szklane 90mm, probówki szklane, końcówki, pipety laboratoryjne, głaszczki i ezy plastikowe, wymazówki bawełniane, densytometr, mikroskop, szkiełka mikroskopowe, barwniki do barwienia metodą Grama.

Podłoża stałe: podłoże krwawe (z dodatkiem krwi baraniej), TSA (Tryptic soy agar), agar Sabourauda; podłoża płynne: bulion TSB (Tryptic soy broth), sól fizjologiczna.

Bakterie i grzyby zostały zidentyfikowane do grupy/rodzaju na podstawie morfologii kolonii na podłożu wzrostowym oraz na podstawie morfologii komórek w preparatach mikroskopowych.

3. Wyniki

3.1. Metoda odciskowa na podłożu bakteriologicznym z- badanie używanych telefonów

Używany telefon odciskano na podłożach wzrostowych (przód i boki) , następnie dezynfekowano urządzeniem Dezzy UVSani3 i odciskano ponownie. Obliczono liczbę CFU poszczególnych typów kolonii na podłożach przed i po procesie dezynfekcji oraz procentową redukcję drobnoustrojów.

Tabela 1. Porównanie liczby drobnoustrojów hodowanych z telefonów przed i po dezynfekcji urządzeniem Dezzy UVSani3, pozyskiwanych metodą odciskową.

	Przed dezynfekcją (liczba CFU)	Po dezynfekcji (liczba CFU)	Redukcja liczby drobnoustrojów (%)
Podłoże krwawe (średnia liczba CFU z dwóch telefonów):			
Pałeczki Gram (-)	2	0	100%
Laseczki Gram (+)	3	0	100%
Ziarenkowce Gram (+) w	15	3	80%

formie tetrad w preparacie			
Ziarenkowce Gram (+) w formie gron w preparacie	45	8	82%
Ziarenkowce Gram (-)	0	0	bd
Grzyby pleśniowe	0	0	bd
Grzyby drożdżopodobne	0	0	bd
Ogółem	65	11	83%
Podłoże TSA (średnia liczba CFU z dwóch telefonów):			
Pałeczki Gram (-)	3	0	100%
Laseczki Gram (+)	7	1	86%
Ziarenkowce Gram (+) w formie tetrad w preparacie	17	4	77%
Ziarenkowce Gram (+) w formie gron w preparacie	37	5	86,4%
Ziarenkowce Gram (-)	0	0	bd
Grzyby pleśniowe	2	0	100%
Grzyby drożdżopodobne	0	0	bd
Ogółem	66	10	85%
Agar Sabourauda(średnia liczba CFU z dwóch telefonów):			
Grzyby pleśniowe	2	0	
Grzyby drożdżopodobne	0	0	
Ogółem	2	0	100%

Legenda: CFU- ang. Colony forming units (jednostki tworzące kolonie), TSA – tryptic soy agar

3.2. Metoda odciskowa na podłożu bakteriologicznym – badanie telefonów skażonych znanymi szczepami bakterii wymienionymi w punkcie 1.2

W soli fizjologicznej przygotowano zawiesiny badanych szczepów o gęstości 1McF (MacFarland), gęstość odczytano w densytometrze, co odpowiada 3×10^8 komórek w mililitrze. Następnie rozcieńczono zawiesinę dziesięciokrotnie w bulionie TSB (Tryptic soy broth) uzyskując gęstość 3×10^7 komórek w mililitrze. Po 100µl zawiesiny nanoszono na ograniczone pole powierzchni telefonu wielkości 9cm², telefon odciskano na odpowiednim podłożu. następnie telefon poddawano dezynfekcji urządzeniem Dezzy UVSani3 i odciskano ponownie.

Obliczono liczbę CFU kolonii poszczególnych szczepów na podłożach przed i po procesie dezynfekcji oraz procentową redukcję drobnoustrojów

Tabela 2. Porównanie liczby drobnoustrojów hodowanych ze skażonych celowo telefonów przed i po dezynfekcji urządzeniem Dezzy UVSani3, pozyskiwanych metodą odciskową.

	Przed dezynfekcją (liczba CFU- colony forming units)	Po dezynfekcji (liczba CFU-colony forming units)	Redukcja liczby drobnoustrojów (%)
Podłoże krwawe (średnia liczba CFU z dwóch telefonów/ CFU na 9cm²):			
<i>Staphylococcus aureus</i>	np	0	100%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	np	2	bd
Podłoże TSA (średnia liczba CFU z dwóch telefonów/ CFU na 9cm²):			
<i>Escherichia coli</i>	25	0	100%
<i>Bacillus subtilis</i>	np	0	100%
Agar Sabourauda(średnia liczba CFU z dwóch telefonów/ CFU na 9cm²):			
<i>Candida albicans</i>	np	0	100%

3.3. Metoda wymazu telefonów używanych oraz posiewu redukcyjnego.

Za pomocą wymazówki bawełnianej zwilżonej solą fizjologiczną dokonano wymazu powierzchni telefonu (przód, tył, boki) następnie wykonano posiew redukcyjny.

Z wymazu przed dezynfekcją na podłożu krwawym wyrosły liczne kolonie gronkowców koagulazo-ujemnych (ziarenkowce Gram dodatnie) oraz niewielka liczba kolonii pałeczek Gram-ujemnych. Po dezynfekcji zaobserwowano wzrost dwóch kolonii gronkowców koagulazo-ujemnych i jednej kolonii paciorkowca alfa hemolizującego. W metodzie posiewu redukcyjnego nie da określić się procentowo redukcji liczby drobnoustrojów.

3.4. Metoda wymazu określonego pola powierzchni telefonów skażonych znanymi szczepami oraz ilościowego posiewu za pomocą seryjnych rozcieńczeń.

W soli fizjologicznej przygotowano zawiesiny badanych szczepów o gęstości 1McF (MacFarland), gęstość odczytano w densytometrze, co odpowiada 3×10^8 komórek w mililitrze. Następnie rozcieńczono zawiesinę dziesięciokrotnie w bulionie TSB (Tryptic soy broth) uzyskując gęstość 3×10^7 komórek w mililitrze. Taką zawiesinę nanoszono na ograniczone pole powierzchni telefonu 9 cm^2 w objętości $100 \mu\text{l}$ i pozostawiano do wyschnięcia na czas 30 minut. Po tym czasie skażone pole wymazywano bawełnianą wymazówką w celu odzyskania naniesionych komórek bakteryjnych. Wymazówkę odpłukiwano w 1ml soli fizjologicznej, następnie odzyskaną zawiesinę bakteryjną wysiewano metodą dziesiętnych seryjnych rozcieńczeń. Liczbę kolonii wyrosłych z kolejnych rozcieńczeń przeliczano na 1ml.

W wersji z wykorzystaniem urządzenia bakterie naniesione bakterie nanoszono i odzyskiwano w identyczny sposób jednak telefon najpierw poddawano dezynfekcji.

Tabela 3. Porównanie liczby drobnoustrojów hodowanych z telefonów przed i po dezynfekcji urządzeniem Dezy UVSani3, pozyskiwanych metodą wymazu.

Przed dezynfekcją	Liczba CFU w kolejnych rozcieńczeniach (średnia z dwóch telefonów)					Liczba bakterii po przeliczeniu na 1ml
	--2	-3	-4	-5	-6	
<i>S.aureus</i>	np	115	14	2	0	$1,1 \times 10^7$
<i>S.epidermidis</i>	np	140	14	0	0	$1,4 \times 10^7$
<i>E. coli</i>	np	107	10	0	0	1×10^7
<i>B.subtilis</i>	np	115	29	6	0	$1,1 \times 10^7$
<i>C.albicans</i>	np	92	11	0	0	$9,2 \times 10^6$

Po dezynfekcją	Liczba CFU w kolejnych rozcieńczeniach (średnia z dwóch telefonów)					Liczba bakterii po przeliczeniu na 1ml	Redukcja drobnoustrojów (%)
	0	-1	-2	-3	-4		
<i>S.aureus</i>	0,5	0	0	0	0	5×10^1	99,9%
<i>S.epidermidis</i>	1	0	0	0	0	1×10^2	99,9%
<i>E. coli</i>	2	0	0	0	0	2×10^2	99,9%
<i>B.subtilis</i>	22	0	0	0	0	$2,2 \times 10^3$	99,9%
<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	0	0	100%

Legenda:

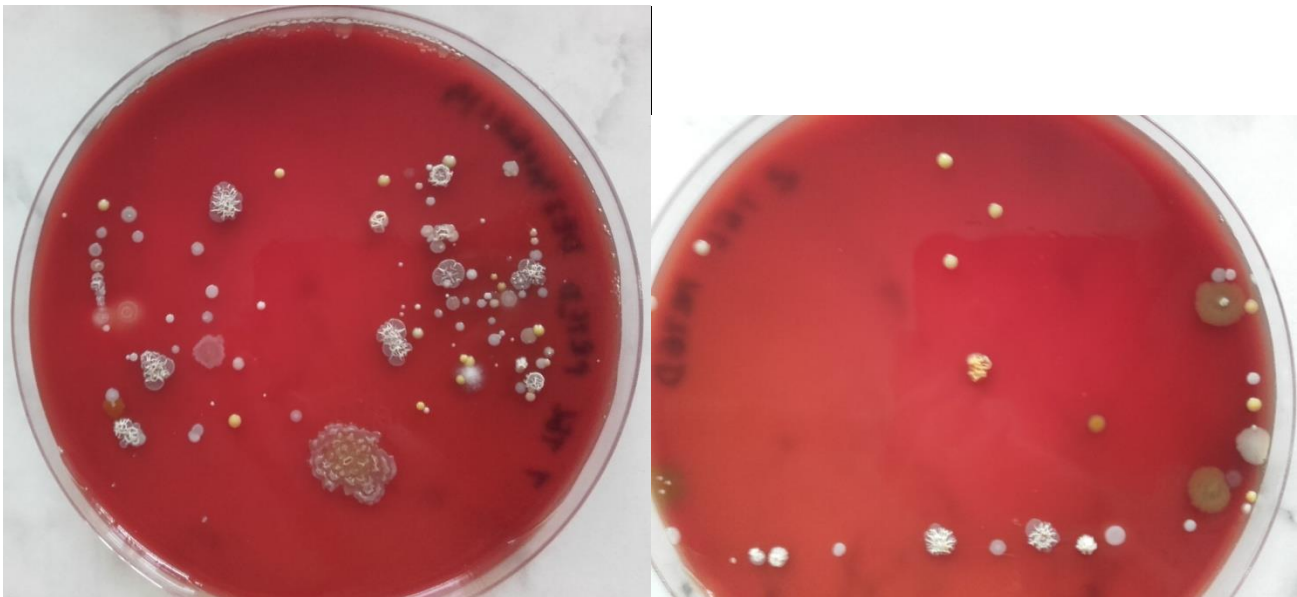
CFU- ang. colony forming units (jednostki tworzące kolonie), np.- nie policzalne.

Dokumentacja zdjęciowa:

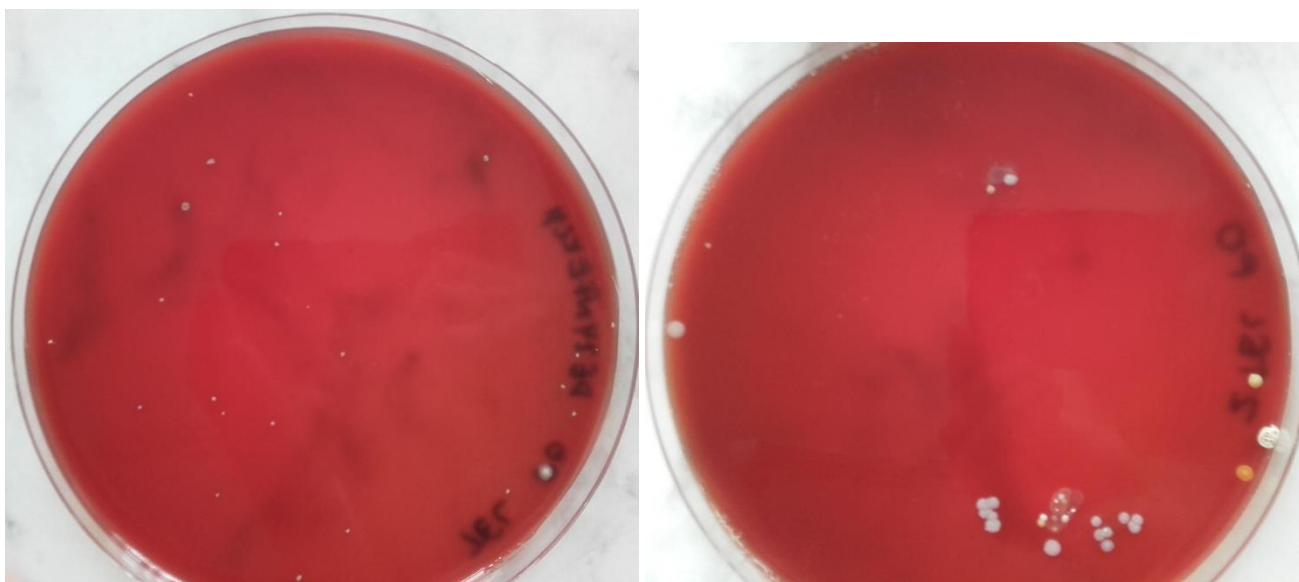
Metoda odciskowa



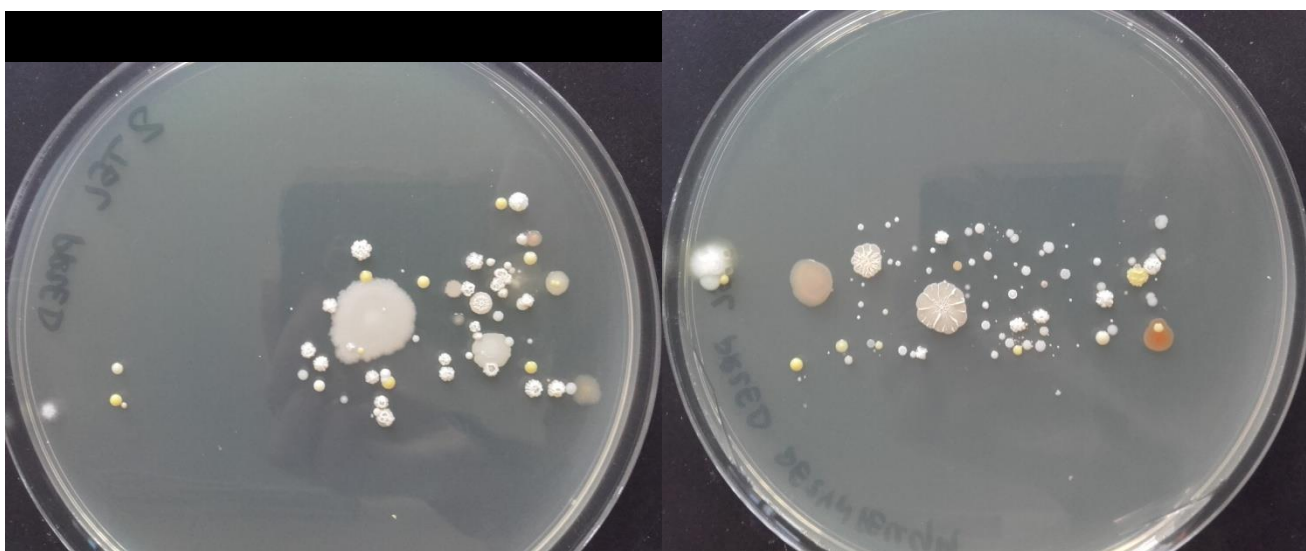
Rys 1. Metoda odciskowa- zdjęcie poglądowe.



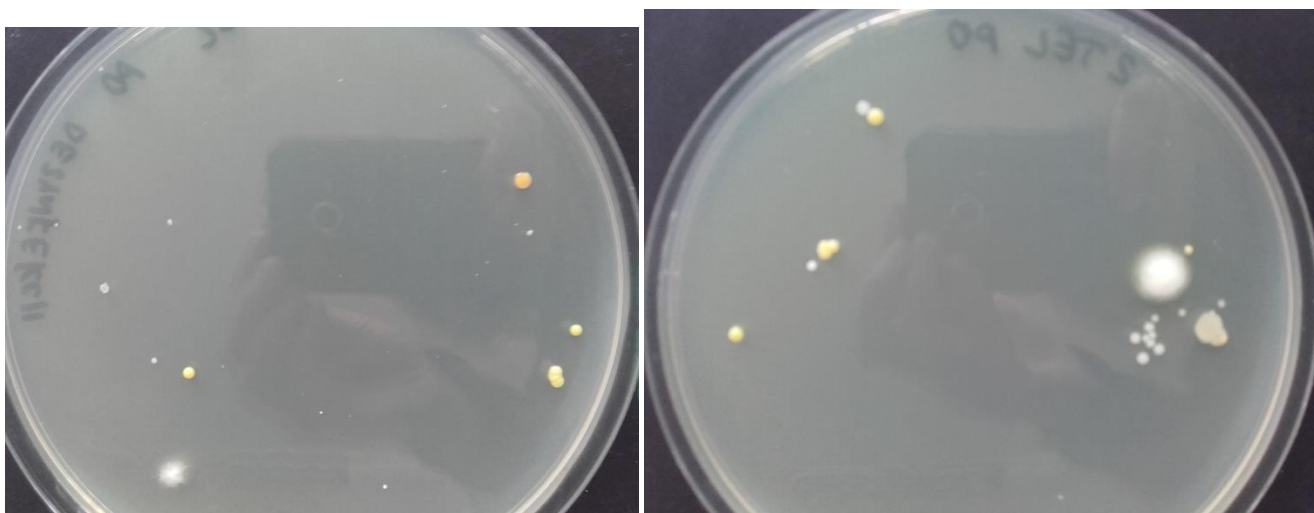
Rys 2. Metoda odciskowa- używane telefony przed dezynfekcją. Wzrost kolonii bakteryjnych na podłożu agarowym z dodatkiem krwi baraniej.



Rys 3. Metoda odciskowa- używane telefony po dezynfekcji urządzeniem Dezzy. Wzrost kolonii bakteryjnych na podłożu agarowym z dodatkiem krwi baraniej.



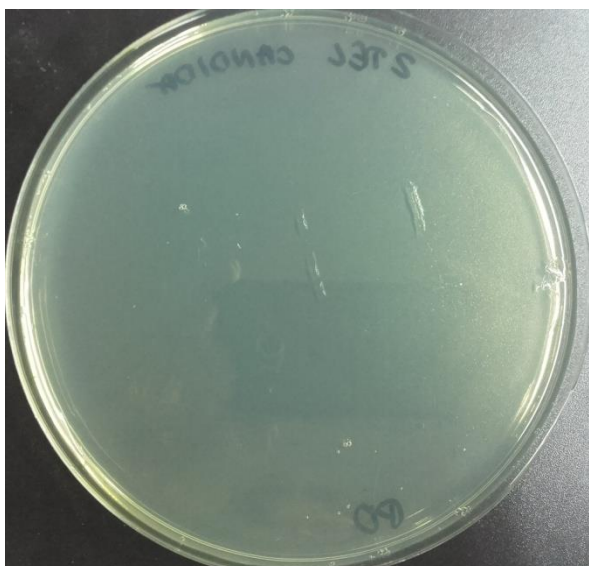
Rys 4. Metoda odciskowa- używane telefony przed dezynfekcją. Wzrost kolonii bakteryjnych na podłożu agarowym TSA.



Rys 5. Metoda odciskowa- używane telefony po dezynfekcji urządzeniem Dezzy. Wzrost kolonii bakteryjnych na podłożu agarowym TSA.

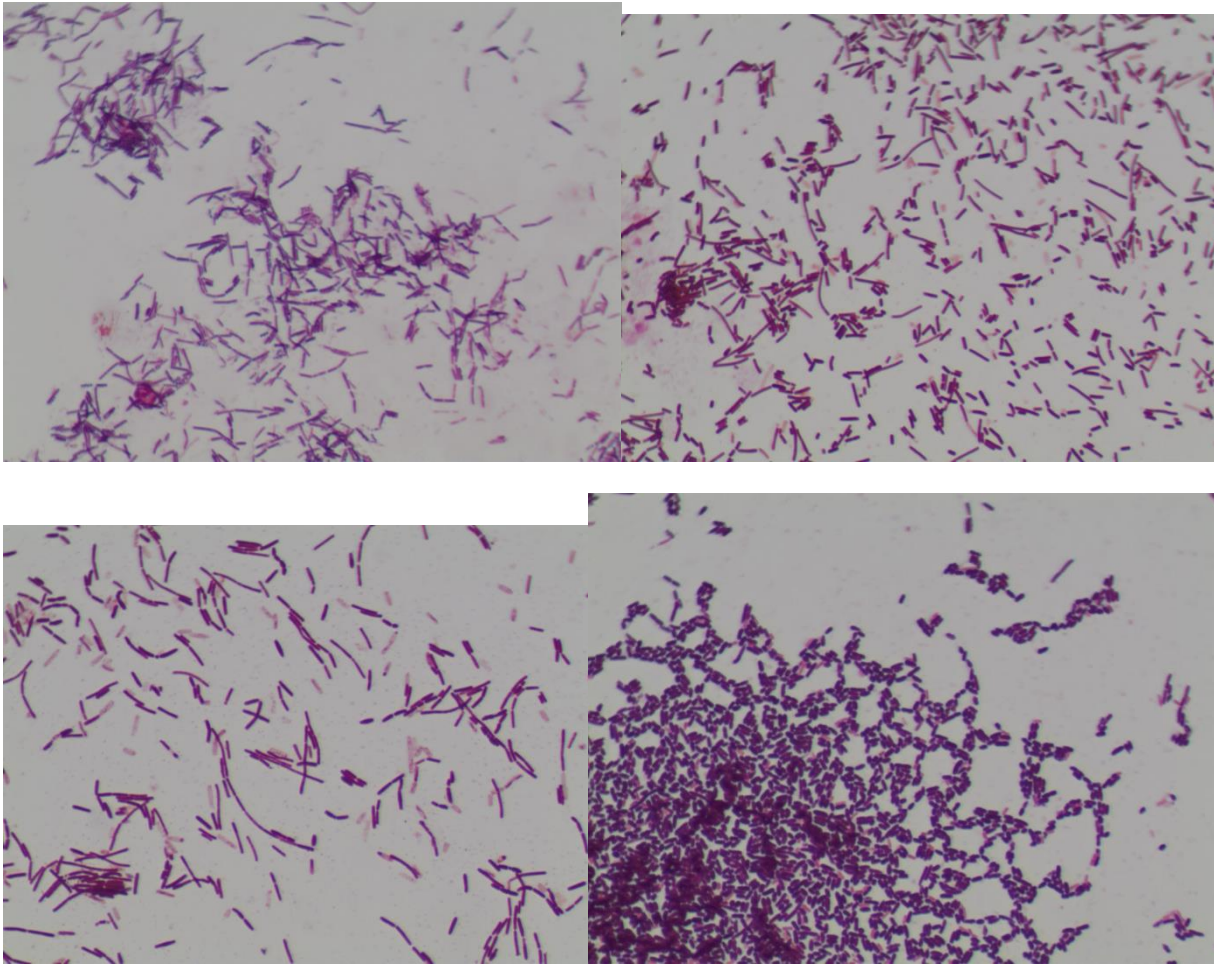


Rys 6. Metoda odciskowa- używany telefon przed dezynfekcją. Wzrost kolonii bakteryjnych na podłożu agarowym Sabourauda.

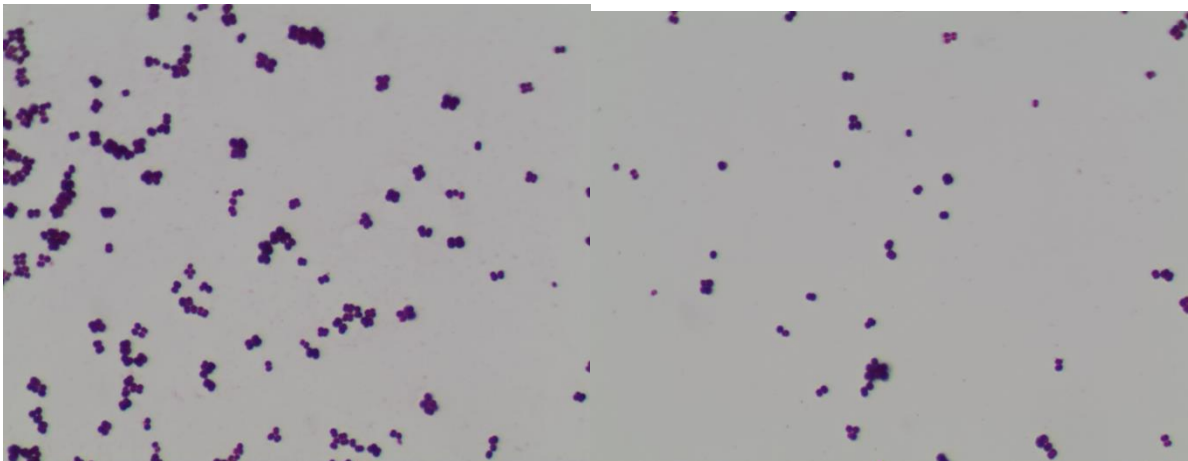


Rys.7 Metoda odciskowa- używany telefon po dezynfekcji urządzeniem Dezy. Wzrost kolonii bakteryjnych na podłożu agarowym Sabourauda.

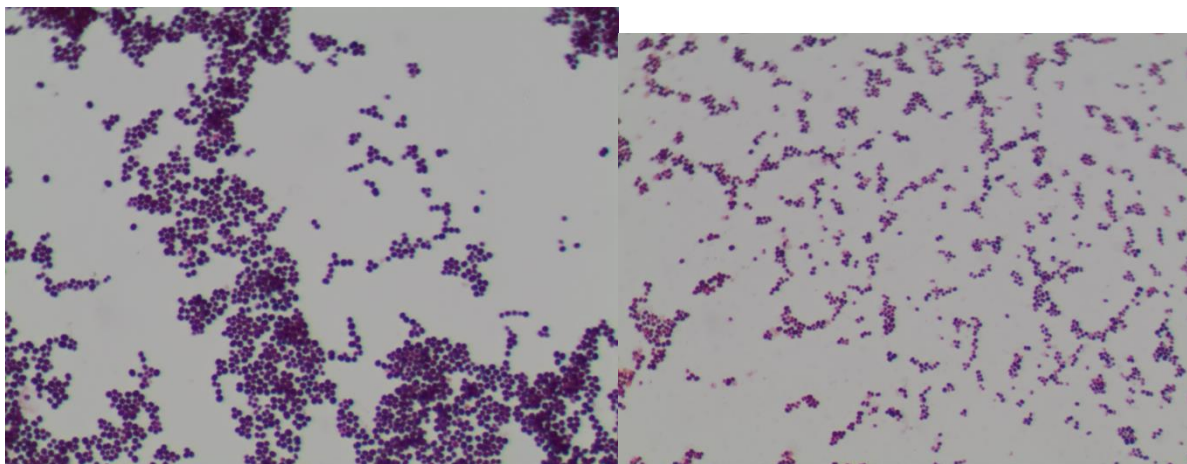
Preparaty mikroskopowe bakterii i grzybów wyhodowanych z telefonów



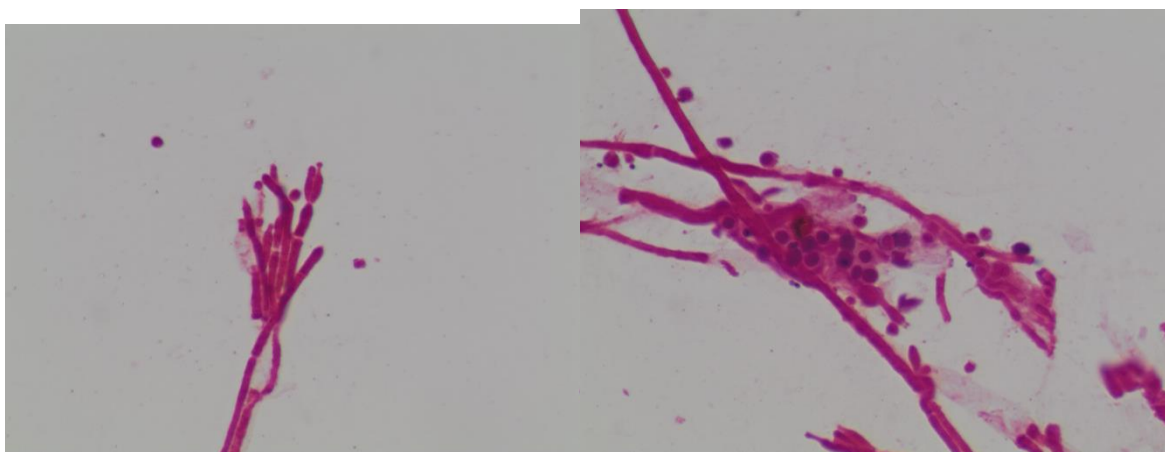
Rys. 8 Preparaty mikroskopowe bakterii z grupy laseczek Gram dodatnich. Różne gatunki laseczek wykazują różne formy morfologiczne komórek.



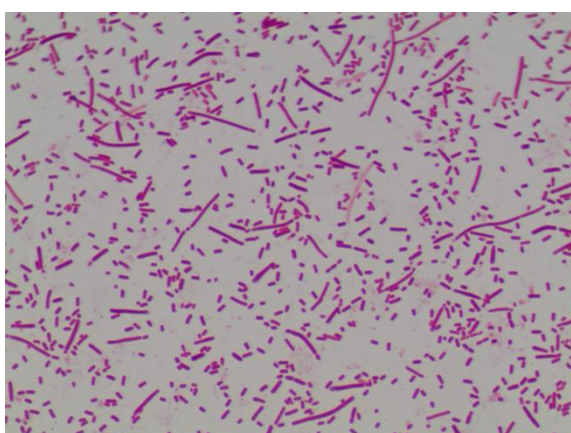
Rys. 8 Preparaty mikroskopowe bakterii z grupy ziarenkowców Gram dodatnich. Przedstawione ziarenkowce układają się w formy tetrad (charakterystyczne m.in. dla rodzaju *Micrococcus* spp).



Rys. 9 Preparaty mikroskopowe bakterii z grupy ziarenkowców Gram dodatnich. Przedstawione ziarenkowce układają się w formy gron (charakterystyczne m.in. dla rodzaju *Staphylococcus* spp).



Rys. 10 Preparaty mikroskopowe grzybów z grupy grzybów pleśniowych.

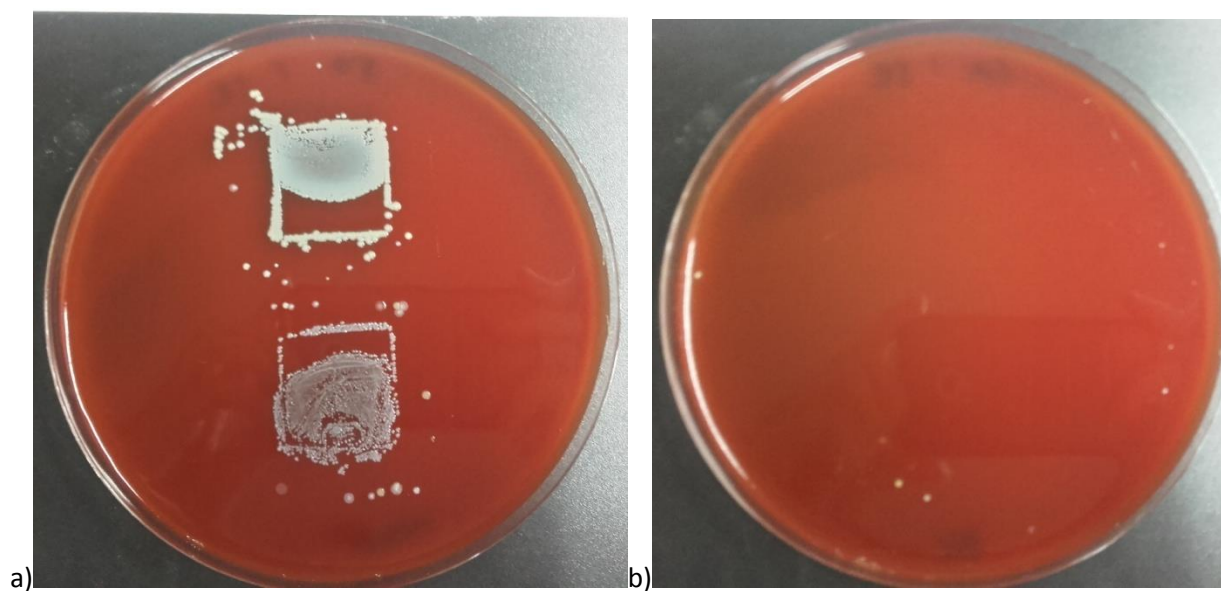


Rys. 11 Preparaty mikroskopowe bakterii z grupy pałeczek Gram ujemnych.

Metoda odciskowa ze skażeniem telefonów



Rys.12 Metoda odciskowa po skażeniu znanymi szczepami bakterii- zdjęcie poglądowe.



Rys. 13. Metoda odciskowa z zaznaczonymi polami do skażenia a)telefon przed dezynfekcją po naniesieniu wzorcowego szczepu gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) na górze i fizjologicznego szczepu gronkowca koagulazo-ujemnego (*Staphylococcus epidermidis*) na dole b) telefon po dezynfekcji



a)



b)

Rys. 14 Metoda odciskowa z zaznaczonymi polami do skażenia a) telefon przed dezynfekcją po naniesieniu wzorcowego szczepu pałeczki okrężnicy (*Escherichia coli*) na dole i środowiskowego szczepu laseczki sporującej (*Bacillus subtilis*) na górze b) telefon po dezynfekcji



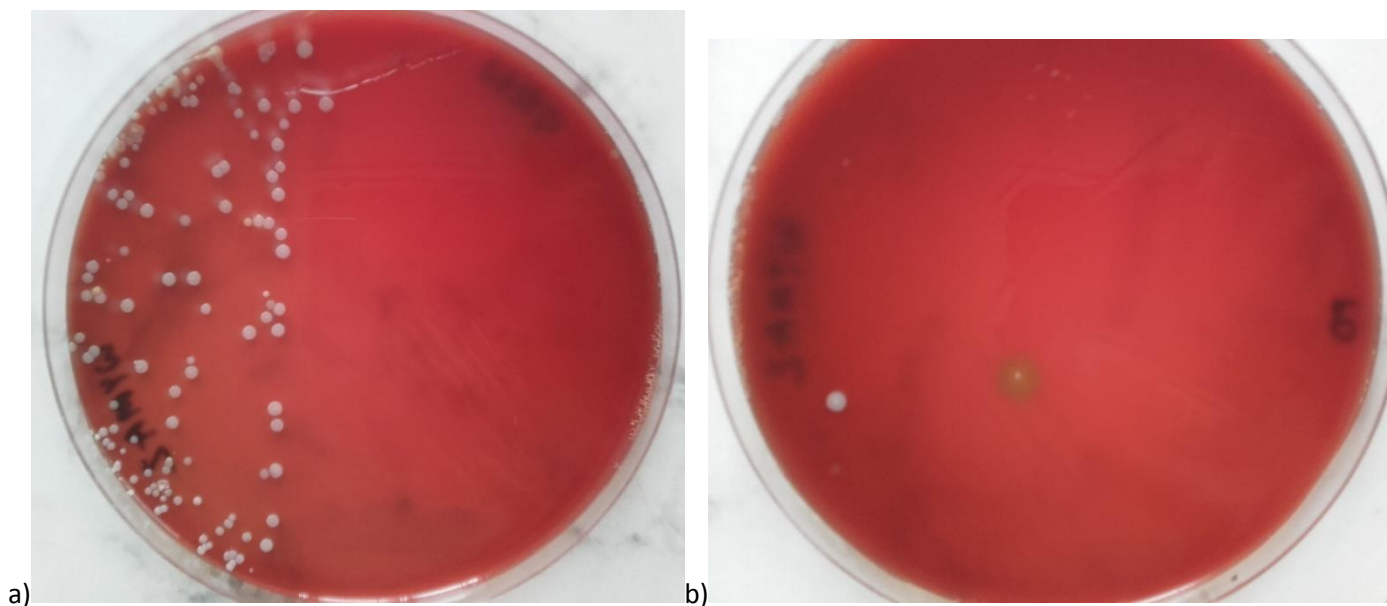
a)



b)

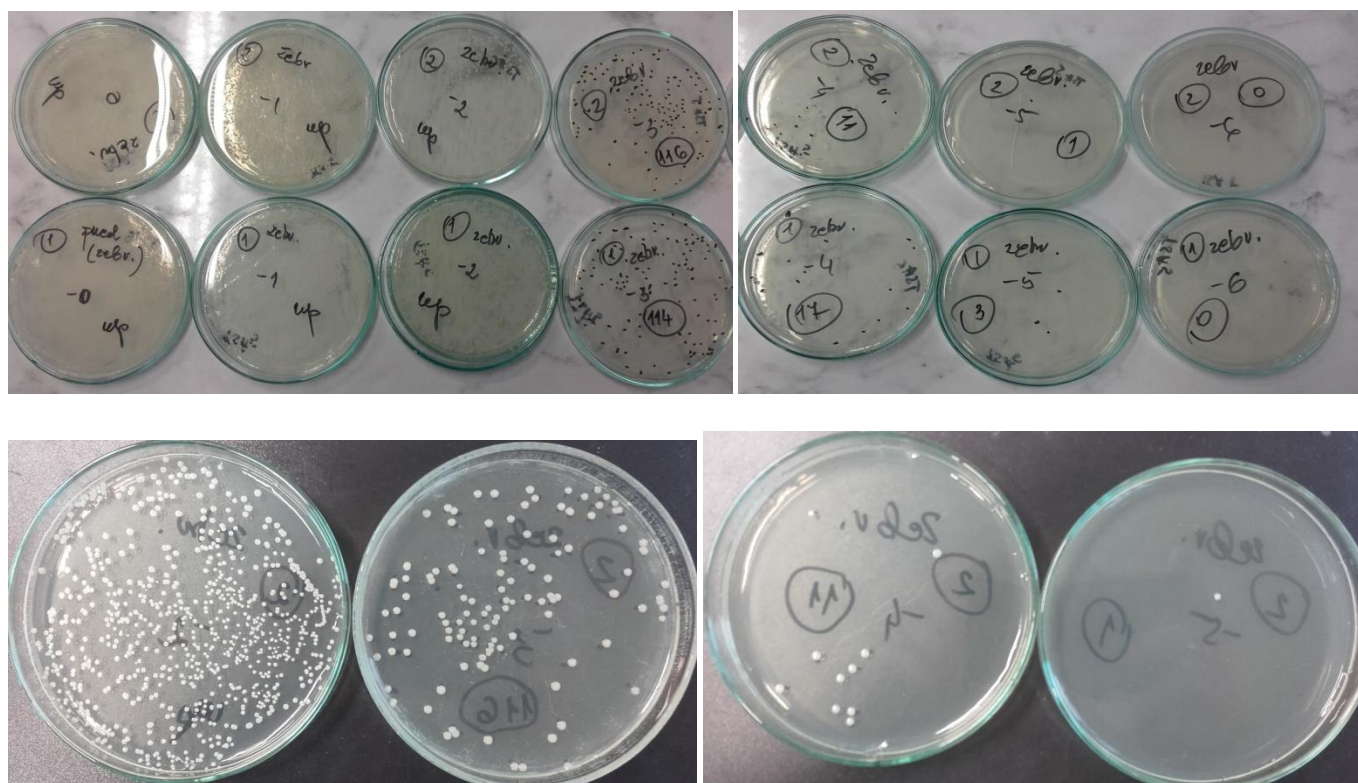
Rys. 15 Metoda odciskowa z zaznaczonymi polami do skażenia a) telefon przed dezynfekcją po naniesieniu wzorcowego szczepu grzyba drożdżopodobnego (*Candida albicans*) b) telefon po dezynfekcji

Metoda wymazu z posiewem redukcyjnym

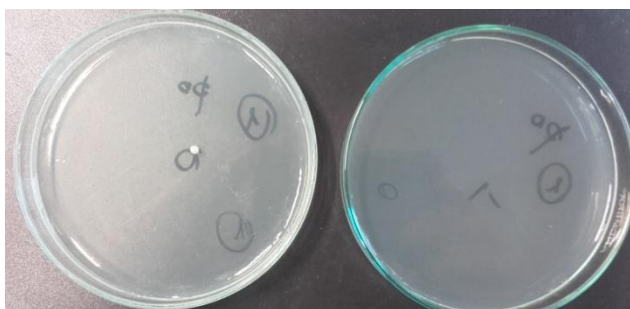
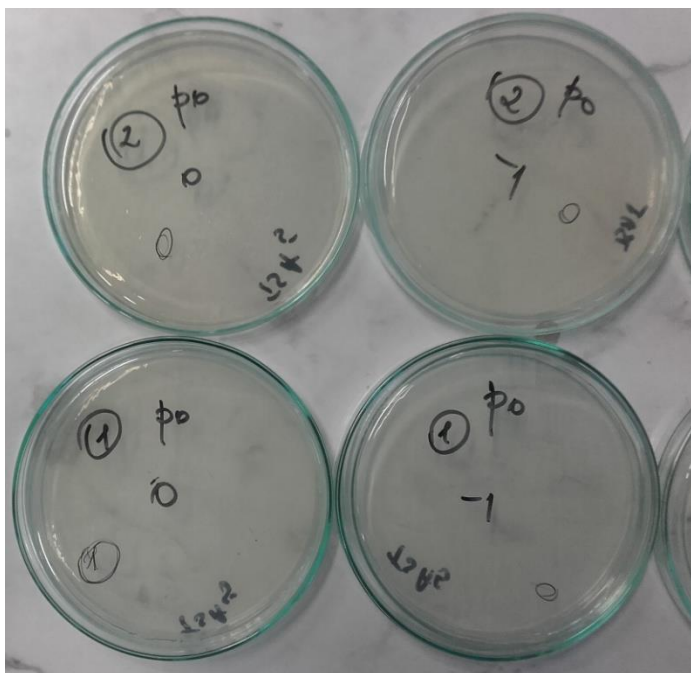


Rys 16. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki zwilżonej solą fizjologiczną; a) telefon przed dezynfekcją b) telefon po dezynfekcji

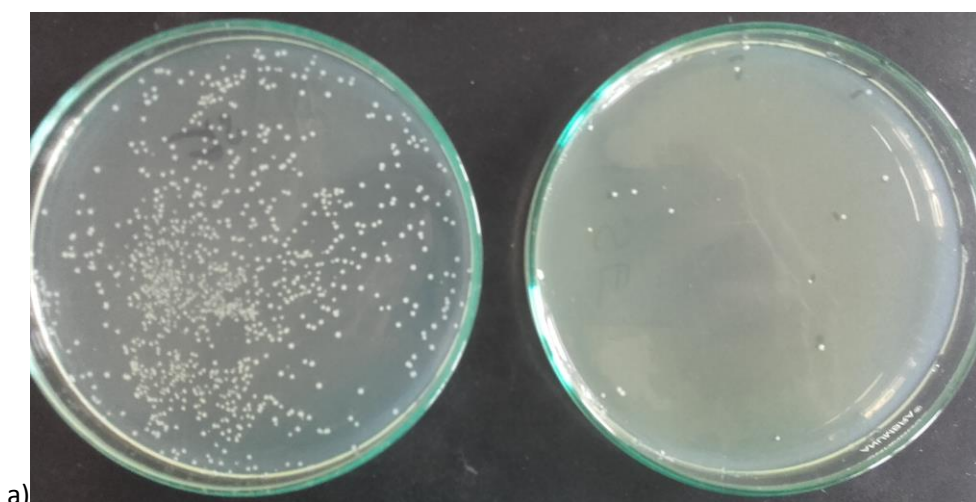
Metoda wymazów po skażeniu telefonów znanymi szczepami i posiewów metodą seryjnych rozcieńczeń.



Rys 17. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki po skażeniu telefonów znanymi szczepami, odzyskaniu naniesionych szczepów i posiewu metodą seryjnych rozcieńczeń. Na zdjęciach szczep *Staphylococcus aureus* odzyskany z telefonu przed dezynfekcją.

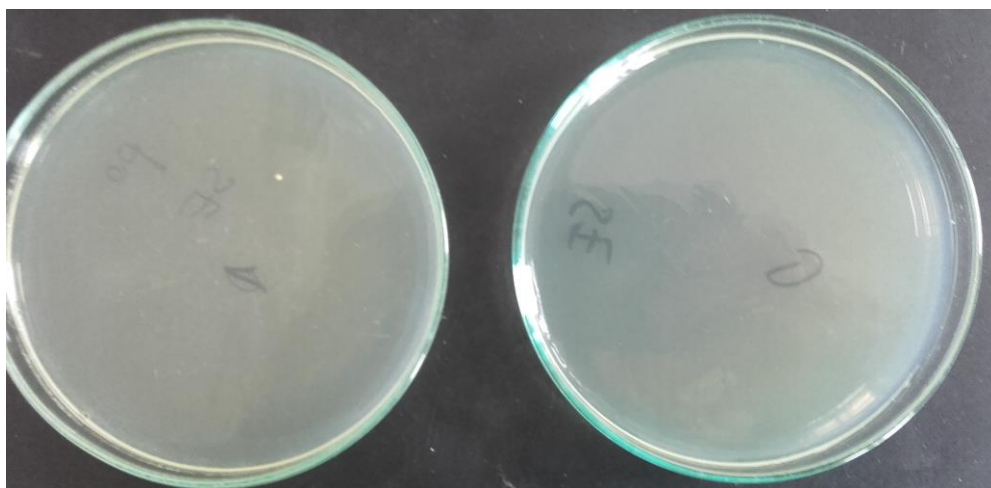


Rys 18. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki po skażeniu telefonów znanymi szczepami, odzyskaniu naniesionych szczepów i posiewu metodą seryjnych rozcieńczeń. Na zdjęciach szczep *Staphylococcus aureus* odzyskany z telefonu po dezynfekcji.



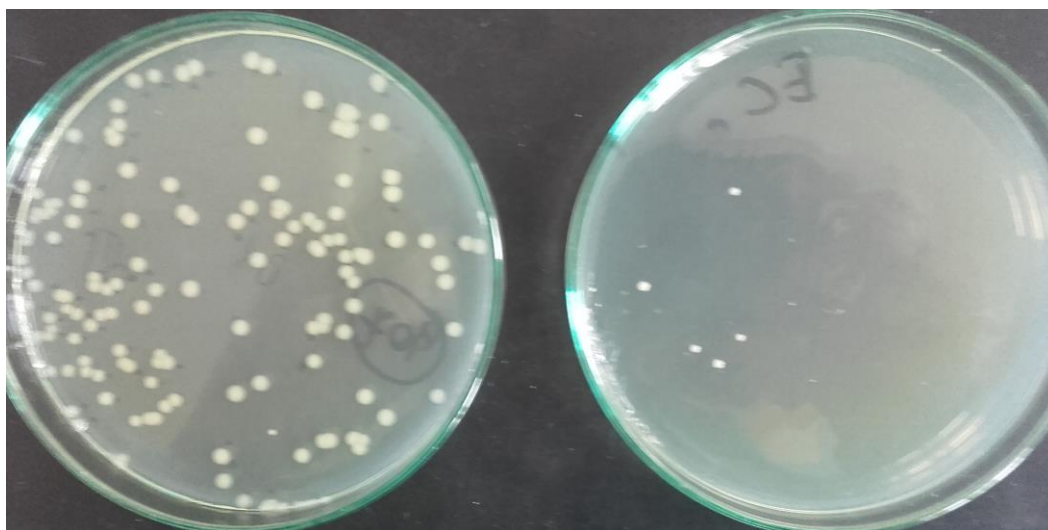
a)

b)

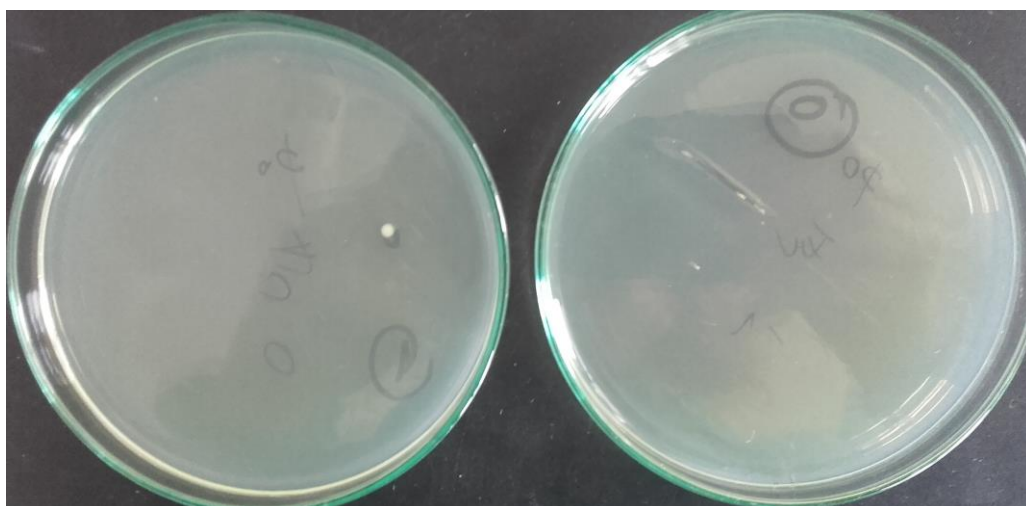


Rys 19. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki po skażeniu telefonów znanymi szczepami, a) odzyskaniu naniesionych szczepów i posiewu metodą seryjnych rozcieńczeń b) odzyskaniu szczepu po dezynfekcji i wykonaniu seryjnych rozcieńczeń. Na zdjęciach szczep *Staphylococcus epidermidis*.

a)

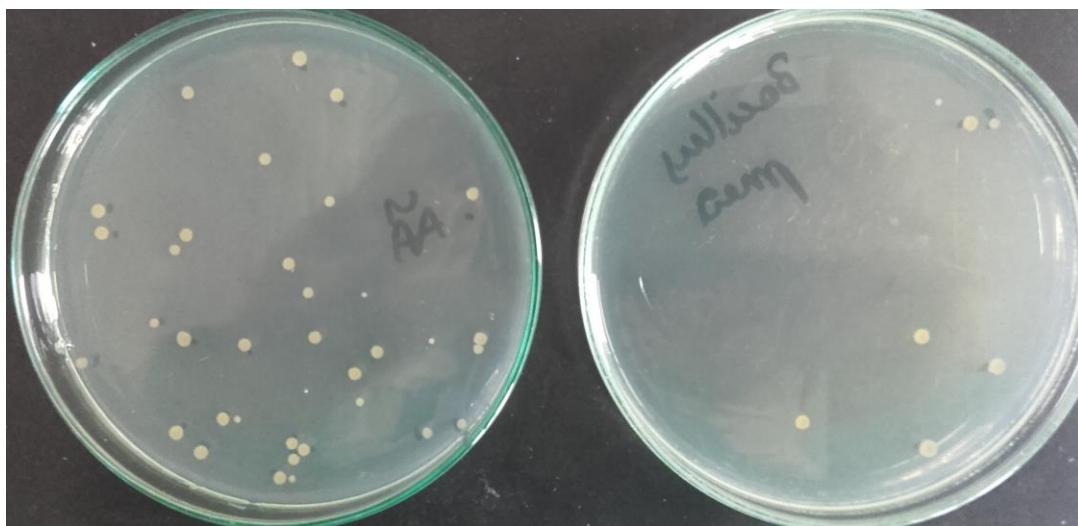


b)

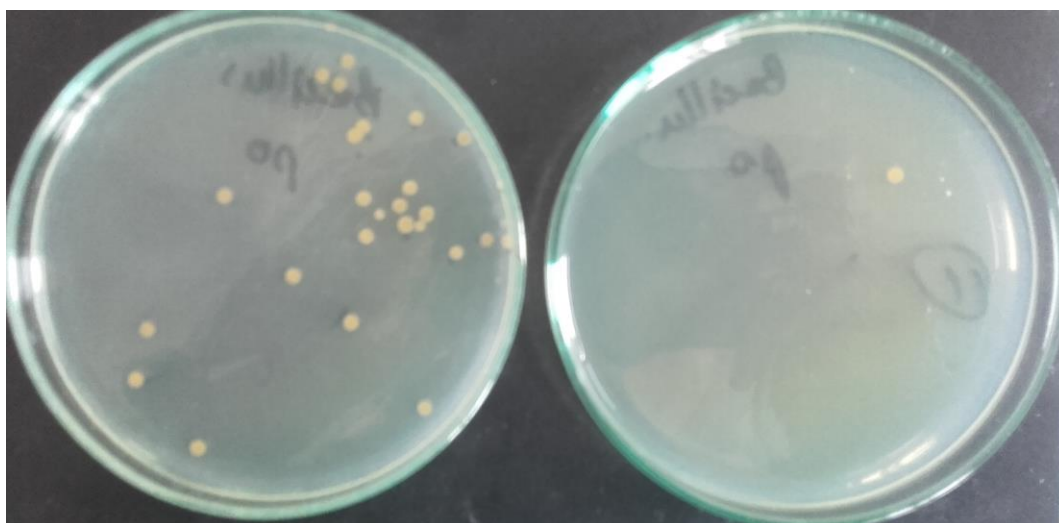


Rys 20. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki po skażeniu telefonów znanymi szczepami, a) odzyskaniu naniesionych szczepów i posiewu metodą seryjnych rozcieńczeń b) odzyskaniu szczepu po dezynfekcji i wykonaniu seryjnych rozcieńczeń. Na zdjęciach szczep *Escherichia coli*.

a)

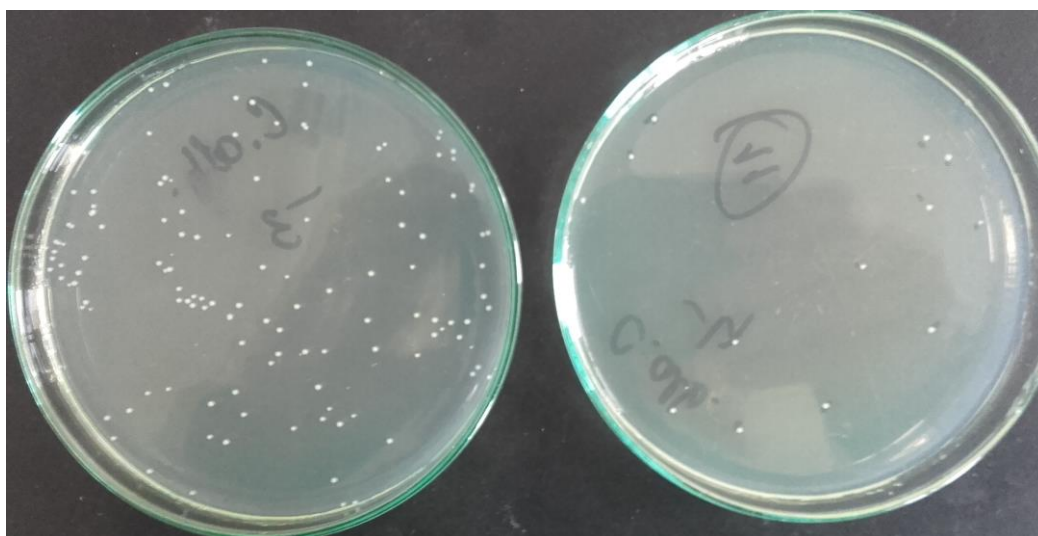


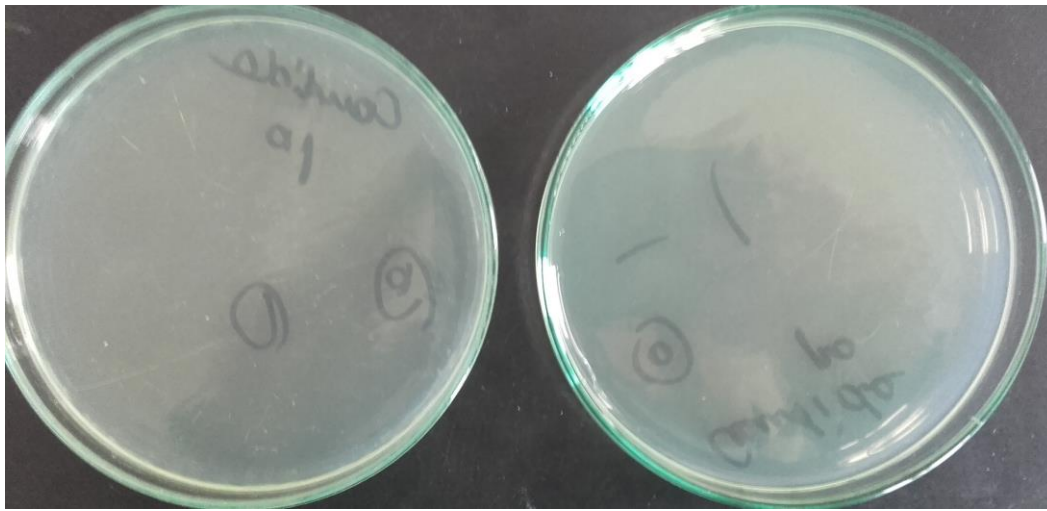
b)



Rys 21. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki po skażeniu telefonów znanymi szczepami, a) odzyskaniu naniesionych szczepów i posiewu metodą seryjnych rozcieńczeń b) odzyskaniu szczepu po dezynfekcji i wykonaniu seryjnych rozcieńczeń. Na zdjęciach szczep *Bacillus subtilis*.

a)





b)

Rys 22. Metoda wymazu z pomocą bawełnianej wymazówki po skażeniu telefonów znanymi szczepami, a) odzyskaniu naniesionych szczepów i posiewu metodą seryjnych rozcieńczeń b) odzyskaniu szczepu po dezynfekcji i wykonaniu seryjnych rozcieńczeń. Na zdjęciach szczep *Candida albicans*.

Wynik:
Drożdże
Karmosyn
Agar
Chloroform

Kontrola wewnętrznlaboratoryjna - dezynfekcja alkoholem 96%

