

*SPRAWOZDANIE MOŻE BYĆ POWIELANE TYLKO W CAŁOŚCI.
INNA FORMA KOPIOWANIA WYMAGA PISEMNEJ ZGODY LABORATORIUM.*

**SPRAWOZDANIE Z BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH
B-42579/23993/15**

BADANIA WŁASNOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH

Egz. Nr 1

NAZWA BADANEGO WYROBU: PREPARAT EGP

Nr zlecenia: B-42579/15

z dnia: 23.02.2015

Zleceniodawca: ECO-TECH Sp. z o.o., ul. Floksów 7, 04-686 Warszawa

Sposób pobrania i / lub dostarczenia próbki wyrobu do badań: Próbkę do badań dostarczył Zleceniodawca. Za prawidłowe pobranie próbek dostarczonych do badań odpowiada Zleceniodawca.

Opis opakowania: Opakowanie zastępuje: butelka z tworzywa sztucznego z aplikatorem w postaci atomizera, z etykietą, na której podano nazwę produktu.

Stan próbki w chwili dostarczenia do badań: dobry.

Nr próbki: 23993

Data rozpoczęcia badań: 10.02.2015

Data zakończenia badań: 12.02.2015

Data sporządzenia sprawozdania: 25.02.2015

1. CEL/ZAKRES BADANIA:

Celem badań jest potwierdzenie lub wykluczenie deklarowanych własności przeciwdrobnoustrojowych produktu.

Zakres badań obejmuje:

- określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych,
- ocenę przeciwdrobnoustrojowego działania preparatu względem patogennych szczepów testowych *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) oraz *Escherichia coli* (ATCC 8739) (zakupione w firmie Biomedica)

2. OPIS BADANIA

Określenie właściwości przeciwbakteryjnych badanego preparatu zgodnie z Procedurą Badawczą Specjalistycznego Laboratorium Badawczego ITA-TEST PB 33/ChM „Ocena przeciwdrobnoustrojowego działania kosmetyków metodą dyfuzyjną” wydanie 4 z dnia 29.03.2012.

Szczepy testowe:

- a) *Escherichia coli* (ATCC 8739) (zakupiony w firmie Biomedica)
- b) *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) (zakupiony w firmie Biomedica)

Materialy i odczynniki:

- Mannitol Salt Agar (dla *Staphylococcus aureus*)
- Mac Conkey Agar (dla *Escherichia coli*)
- Zbuforowany płyn do rozcieńczeń

PRZEBIEG BADANIA:

1) Przygotowanie hodowli szczepów z kolekcji muzealnej (szczepy testowe)

Do badań wykorzystano dwa dokładnie znane i określone patogeny: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Badania wykonano, aby wykazać własności przeciwdrobnoustrojowe badanego kremu w stosunku do szczepów o podwyższonej odporności na środki przeciwdrobnoustrojowe.

Wybrane do badań szczepy ożywiono zgodnie z Instrukcją Techniczną IT 25/ChM „Postępowanie ze szczepami do badań mikrobiologicznych” wydanie 3 z dnia 17.01.2013. Szczepy pobrano z piątego pasażu.

2) Wykonanie badania

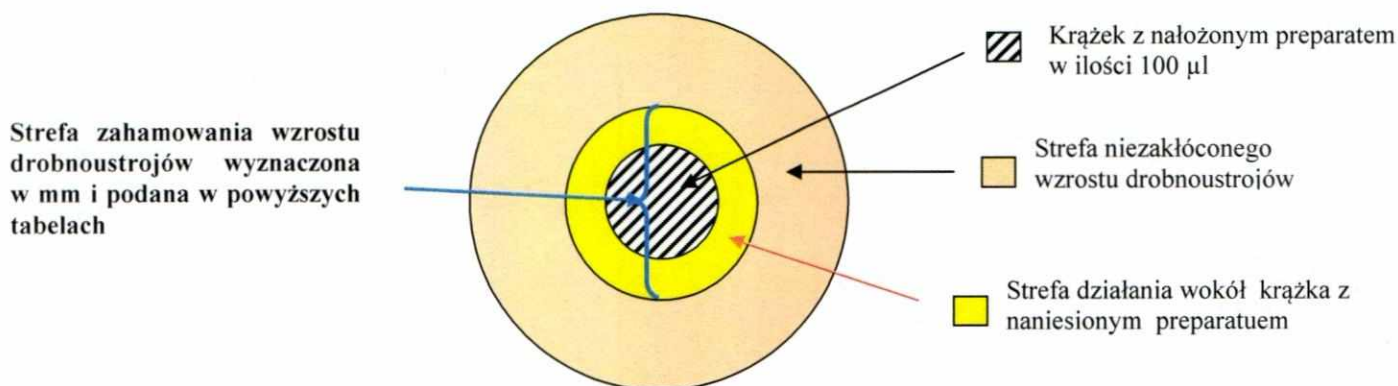
Na płytki z określonym dla danego drobnoustroju zestalonym podłożem hodowlanym nanoszono sterylnie po 0,1 ml wybranych rozcieńczeń inoculum obu drobnoustrojów, które następnie delikatnie wyłaskiwano i pozostawiano na 15 min w temperaturze pokojowej.

Na tak przygotowane płytki umieszczano centralnie krążki nasączone preparatem w ilości 100µl. Płytki inkubowano przez 24 h dla *Escherichia coli* i 48 h dla *Staphylococcus aureus* w temperaturze $+36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Po zakończonym czasie inkubacji określano strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów. Ocena polegała na określeniu wzrostu bakterii lub jego braku w strefie między agarem, a krążkiem z naniesionym preparatem. Zwrócono uwagę na intensywność wzrostu mikroorganizmów pod krążkiem z preparatem, na

zmiany w wyglądzie wyrosłych kolonii, ich kształcie, zabarwieniu oraz wielkości. Szerokość strefy hamowania wzrostu określono wg rys. 1.

Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tabeli nr 1 i nr 2 oraz przykładowo zobrazowano na Fot.1,2

Rys. 1. Objaśnienie sposobu wyznaczania strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów na podłożach hodowlanych.



$$H = \frac{D - d}{2}$$

H – szerokość strefy hamowania w mm

D – łączna średnica krążka z naniesionym produktem i szerokości stref hamowania w mm

d – średnica krążka z naniesionym produktem w mm

3. WYNIKI BADAŃ

Ocena przeciwdrobnoustrojowego działania badanego preparatu względem szczepów wzorcowych *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) oraz *Escherichia coli* (ATCC 8739).

Tabela 1. Wielkość stref zahamowania wzrostu *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

Szczep testowy	Zastosowane podłoże	Produkt badany	
		Średnica strefy zahamowania wzrostu (mm) drobnoustrojów	Intensywność wzrostu pod preparatem **
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	Mannitol Salt Agar	12	-

Tabela 2. Wielkość stref zahamowania wzrostu *Escherichia coli* (ATCC 8739).

Szczep testowy	Zastosowane podłoże	Produkt badany	
		Średnica strefy zahamowania wzrostu (mm) drobnoustrojów	Intensywność wzrostu pod preparatem **
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	MacConkey Agar	4	-

** Skala intensywności wzrostu pod krążkiem z preparatem:

- brak wzrostu
- + słaby wzrost
- ++ silny wzrost
- +++ zlewny wzrost

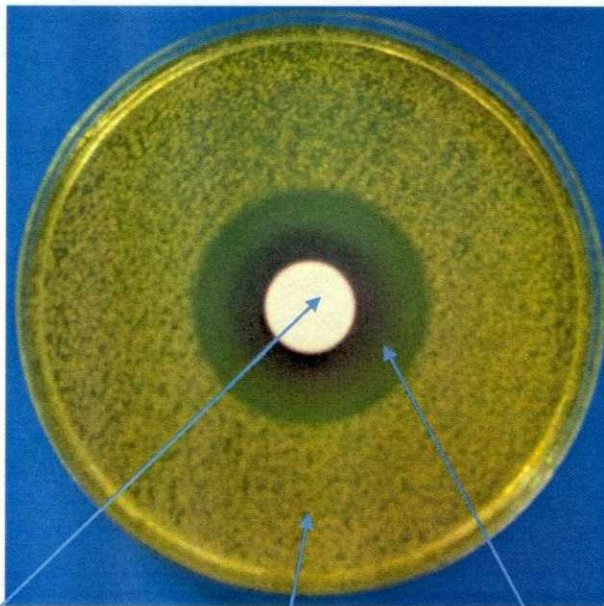
Fot. 1. Obraz siły działania preparatu Preparat EGP 100 na *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)

A – widok z góry

B – powiększenie wokół preparatu – widok z góry

***Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) na podłożu Mannitol Salt Agar.**

A



Krążek z naniesionym preparatem w ilości 100µl

Murawa bakteryjna

Strefa zahamowania wzrostu bakterii wokół krążka z preparatem

B



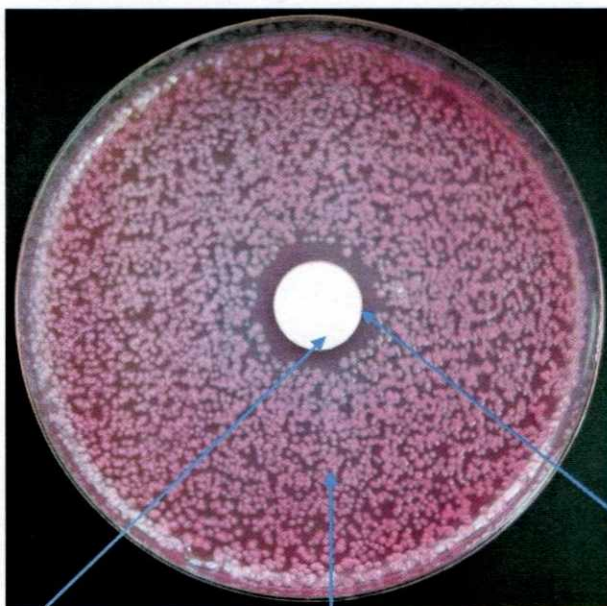
Fot. 2. Obraz siły działania preparatu Preparat EGP 100 na *Escherichia coli* (ATCC 8739)

A – widok z góry

B – powiększenie wokół preparatu – widok z dołu

Escherichia coli (ATCC 8739) na podłożu MacConkey Agar

A

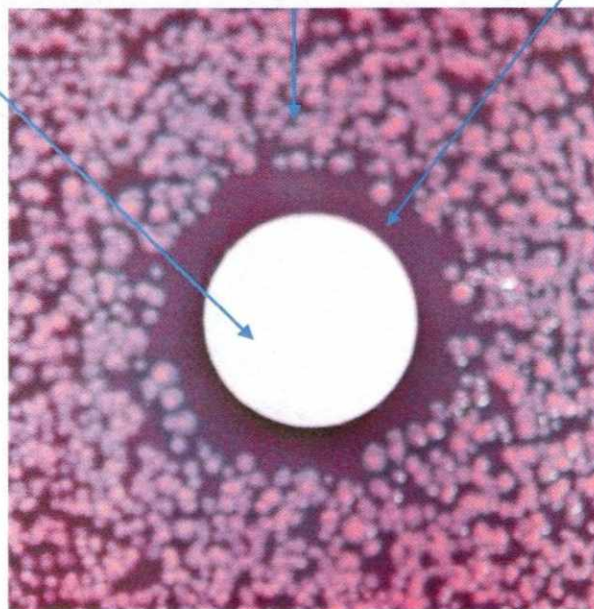


Krążek z naniesionym preparatem w ilości 100 μ l

Murawa bakteryjna

Strefa zahamowania wzrostu wokół krążka z preparatem

B



4. WNIOSKI Z BADAŃ:

Preparat EGP 100 zgłoszony do badań przez **ECO-TECH Sp. z o.o., ul. Floksów 7, 04-686 Warszawa** wykazuje przeciwdrobnoustrojowe działanie w stosunku do szczepów chorobotwórczych *Escherichia coli* ATCC 8739 (Pałeczka okrężnicy) oraz *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Gronkowiec złocisty).

Specjalistyczne Laboratorium Badawcze
ITA-TEST
Zimakowska
mgr Karolina ZIMAKOWSKA
mikrobiolog

*Nazwisko i podpis osoby
opracowującej sprawozdanie z badań*

*Badania wykonano zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Profesjonalnej, a sprawozdanie końcowe odpowiada danym źródłowym.
Badanie wykonano zgodnie z ustalonym ze Zleceniodawcą zakresem.*

*Nazwisko i podpis osoby
autoryzującej sprawozdanie z badań*

Specjalistyczne Laboratorium Badawcze
ITA-TEST
[Podpis]
mgr Agnieszka WASOWSKA
Dyrektor Generalny

Data i podpis **25.02.2015**

Sprawozdanie sporządzono w 3 identycznych egzemplarzach.

Sprawozdanie otrzymują:

Egz. nr 1 i nr 2 – Zleceniodawca

Egz. Nr 3 – Archiwum Specjalistycznego Laboratorium Badawczego „ITA – TEST”.

Sprawozdanie może być powielane tylko w całości. Inna forma kopiowania wymaga pisemnej zgody laboratorium.

Próbki do badań mikrobiologicznych i próbki wody nie są archiwizowane i zostają zlikwidowane po 7 dniach od daty zakończenia badania.

**Wyniki badania odnoszą się wyłącznie do badanej próbki.
K O N I E C S P R A W O Z D A N I A**