

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)



SECHENOV
UNIVERSITY

КОНФИДЕНЦИАЛЬНО

УТВЕРЖДАЮ
Первый проректор
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
член-корр. РАН, д.м.н., профессор

А.А. Свистунов

2021 г.



ИТОГОВЫЙ ОТЧЕТ

Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного
биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в
соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности
на поверхности пластмасс и других непористых материалов»

Код исследования: PRC-056

	Ф.И.О.	Дата	Подпись
Проведено:	Величко А.К.		
	в.н.с. ЦДКИ		
Составлено:	Величко А.К.		
	в.н.с. ЦДКИ		
Согласовано:	Морозова Е.Л.		
	Сотрудник СОК		
Утверждено:	Тарасов В.В.		
	Директор ИТМиБ		

Москва, 2021

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)



SECHENOV
UNIVERSITY

КОНФИДЕНЦИАЛЬНО

УТВЕРЖДАЮ

Первый проректор
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
член-корр. РАН, д.м.н., профессор

_____ А.А. Свистунов

«__» _____ 2021 г.


ИТОГОВЫЙ ОТЧЕТ

**Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного
биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в
соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности
на поверхности пластмасс и других непористых материалов»**

Код исследования: PRC-056

	Ф.И.О.	Дата	Подпись
Проведено:	Величко А.К.		
	в.н.с. ЦДКИ		
Составлено:	Величко А.К.		
	в.н.с. ЦДКИ		
Согласовано:	Морозова Е.Л.		
	Сотрудник СОК		
Утверждено:	Тарасов В.В.		
	Директор ИТМиБ		

Москва, 2021

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 <small>SECHENOV UNIVERSITY</small>
Код исследования	PRC-056	Стр. 2 из 29

МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ


Подразделение: Центр доклинических исследований, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Место нахождения: 117418, Москва, Нахимовский проспект, д.45

Телефон-факс: +7(499) 248-01-81

Место проведения исследования:


Институт Биологии Гена Российской Академии Наук, ул. Вавилова, 34/5, Москва, 119334

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 <small>SAKHENOV UNIVERSITY</small>
Код исследования	PRC-056	Стр. 3 из 29

СПОНСОР

Общество с ограниченной ответственностью НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ
ОБЪЕДИНЕНИЕ "РЭК" (ООО НПО «РЭК»)

Место нахождения: 127254, Москва г, Руставели ул, дом 14, строение 6, этаж 4, комн. 40

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKUNOV UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 4 из 29

Заключение руководителя исследования

Наименование исследования: Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель - ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов».

Руководитель исследования (ФИО): Величко Артём Константинович

Адрес: 117418, Москва, Нахимовский пр., 45

Настоящей подписью заверяю, что результаты исследований, представленные в данном отчете достоверны. Исследование проведено в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», ISO 22196 Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов, ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям; ГОСТ 30347-2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*; ГОСТ-Р 52815 – 2007 Методы выявления и определения количества коагулазаположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*.

Руководитель исследования:


Подпись

Величко А.К.

Расшифровка подписи

« _____ » _____

дата

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKUNOV UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 5 из 29

Отчет об обеспечении качества

Исследование выполнялось согласно ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», ISO 22196 Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов, ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям; ГОСТ 30347-2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*; ГОСТ-Р 52815 – 2007 Методы выявления и определения количества коагулазаположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*.

В ходе исследования PRC-056 проведены две инспекционных проверки: 20.12.2020, 25.01.2021, были проведены внутренние аудиты исследования PRC-056. Основными целями внутренних аудитов являлась:

- проверка подготовки лаборатории к исследованию.
- проверка соответствия выполнения процедур протоколу исследования.


Аудиты были проведены на территории ЦДКИ в соответствии с программой аудита. В ходе аудита программа аудита была полностью выполнена. Проверены все помещения и подготовка сотрудников к исследованиям, предусмотренных протоколом. Проверены все процедуры на соответствие их выполнения протоколу исследования. В ходе текущего аудита отклонений от протокола не выявлено.

17.02.2020 была осуществлена проверка первичных данных исследования PRC-056 и записей по лабораторному исследованию с данными и записями, на соответствие протоколу исследования. В ходе мониторингового визита отклонений от протокола исследования не выявлено.

Исследование PRC-056 и отчет соответствуют требованиям GLP.


Представленные в отчете данные в полной мере соответствуют первичным данным исследования. Отклонений, влияющих на целостность, качество данных и интерпретацию результатов, выявлено не было.

ФИО	Подпись	Дата
Морозова Е.Л.		
Пятигорская Н.В.		

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SICHUAN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 6 из 29


ОТВЕТСТВЕННЫЙ ПЕРСОНАЛ

Выполняемые функции	Должность	ФИО	Подпись
Руководитель исследования:	в.н.с.	Величко А.К.	
ПЕРСОНАЛ, ВЫПОЛНЯЮЩИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ			
<i>in vitro</i> тесты	в.н.с.	Одинцова Е.С.	
Провизор	Специалист по доклиническим исследованиям	Подколзина П.Л.	
Соответствие принципам GLP	Специалист СОК	Морозова Е.Л.	

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKHALIN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 7 из 29


СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

GLP	– «Good Laboratory Practice» — «Надлежащая лабораторная практика»
СОП	– Стандартные операционные процедуры
M	– групповое среднее арифметическое
SD	– стандартное отклонение
В.н.с.	– ведущий научный сотрудник
SCDLP broth	– Soybean casein digest broth with lecithin and polyoxyethylene sorbitan monooleate
КОЕ	– колониеобразующая единица

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKHALIN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 8 из 29

ОГЛАВЛЕНИЕ

РЕЗЮМЕ	9
1. ВВЕДЕНИЕ	10
2. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ	10
3. РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ	10
4. ОСНОВНЫЕ ДАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	10
5. АРХИВИРОВАНИЕ МАТЕРИАЛОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	11
6. ДАННЫЕ ОБ ИССЛЕДУЕМОМ МАТЕРИАЛЕ	11
7. ТЕСТ-СИСТЕМА	11
7.1.	12
7.2	Ошибка! Закладка не определена.
7.3	Ошибка! Закладка не определена.
7.4	Ошибка! Закладка не определена.
7.5.	13
7.6.	Ошибка! Закладка не определена.
8. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ	15
8.4.	15
8.5.	16
8.6.	17
8.8.	Ошибка! Закладка не определена.
9. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	18
9.4.	18
9.5.	21
9.6.	23
10. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	24
11. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	25
Приложение 1.	26
Приложение 2.	27
Приложение 3.	28


Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKHALIN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 9 из 29

РЕЗЮМЕ

В данном отчете представлены данные по исследованию антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов».

Полимерный материал REC PETG Biocide обладает бактерицидными свойствами по отношению к культурам клеток *Escherichia coli* (штамм ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (штамм ATCC 6538P). Показатели антибактериальной активности составили для *E. coli* – 0,25, для *S. aureus* – 2,24. Что эффективнее пластика сравнения на 43,7% и 24,4% соответственно.

Исследуемый материал также проявил антибактериальный эффект при воздушном обсеменении. В случае прямой адгезии (отпечаток) на 22,2%, по параметру бактерицидных свойств на 31,3% по сравнению с пластиком сравнения.

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 <small>SAKHALIN UNIVERSITY</small>
Код исследования	PRC-056	Стр. 10 из 29

1. ВВЕДЕНИЕ

Объектом исследования являлся композиционный полимерный биоцидный материал REC PETG Biocide, производства ООО НПО «РЭК».

2. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования:

Изучить антибактериальные свойства композиционного полимерного биоцидного материала REC PETG Biocide.

Задачи исследования:

- Изучить антибактериальные свойства композиционного полимерного биоцидного материала REC PETG Biocide в сравнении с материалом REC PETG при воздушной контаминации.
- Изучить антибактериальные свойства композиционного полимерного биоцидного материала REC PETG Biocide в сравнении с материалом REC PETG на культуре клеток *Escherichia coli*, штамм ATCC 8739;
- Изучить антибактериальные свойства композиционного полимерного биоцидного материала REC PETG Biocide в сравнении с материалом REC PETG на культуре клеток *Staphylococcus aureus*, штамм ATCC 6538P.


3. РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ

Основными документами, регламентирующими объем, схему и процедуру проведения экспериментов являются:

- ISO 22196:2011 Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов;
- ГОСТ 30347-2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*;
- ГОСТ-Р 52815 2007 Методы выявления и определения количества коагулазаположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*;
- ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
- ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

4. ОСНОВНЫЕ ДАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

18.12.2020 - дата инициации исследования

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKHALIN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 11 из 29

18.01.2021 - дата начала эксперимента

12.02.2021 - дата окончания эксперимента

26.02.2021 - дата окончания исследования

5. АРХИВИРОВАНИЕ МАТЕРИАЛОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перечень документов и материалов, которые переданы в архив по окончании исследования:

- Расчеты и записи приготовления питательных сред;
- Первичные аналитические данные;
- Заметки и другая письменная информация, касающаяся исследования;
- Протокол и поправки, отклонения от Протокола исследования.

Продолжительность хранения материалов **5 лет**, по истечении которых Исполнитель обязуется проинформировать Заказчика о завершении периода хранения документов в архиве и передать по запросу Заказчику.

Адрес архива: Москва, Нахимовский проспект, д. 45, Архив ДКИ

6. ДАННЫЕ ОБ ИССЛЕДУЕМОМ МАТЕРИАЛЕ

6.1. Образец

Название: композиционный полимерный биоцидный материал REC PETG Biocide, (REC Biocide (Petg модифицированный))

Внешний вид: Мононить, с оттенком от бледно-серого до серого цвета;

Состав: гомогенизированный полиэтилентерефталатгликоль, аддитив биоцидный, модификатор ввода;

Намотанная на катушки, весом 750г(+5г);

Показатель вязкости расплава – 80ед.;

Диаметр мононити – 1,73мм-1,78мм. Измерения произведены на приборе «Цикада-2М» (дата поверки 13 июня 2019 года протокол номер 13538) (ТУ20.60.13-11757806-2017) - соответствует;

Посторонние включения в мононить – отсутствуют.


6.2. Образец сравнения

Название: материал REC PETG

Цвет: оранжевый

Серия: WS/05/01/1119

Срок годности: до 11.2023

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SACHINOW UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 12 из 29

7. ТЕСТ-СИСТЕМА

7.1. Культура клеток

В исследовании для изучения бактерицидных свойств пластика использованы бактериальные культуры клеток:

Escherichia coli, штамм ATCC 8739;

Staphylococcus aureus, штамм ATCC 6538P.

7.2 Обоснование выбора культуры клеток

Данные бактериальные культуры клеток являются релевантными для исследования антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов.

7.3 Источник получения культуры клеток

Банк клеточных культур - American Type Culture Collection (ATCC)

7.4 Условия культивирования клеточных культур

7.4.1 Условия культивирования *Escherichia coli*


Среду LB с агаром для подсчета колониеобразующих единиц *E. coli* (кат. № L2897 Sigma-Aldrich, США) стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 30 мин. По 20 мл теплой среды заливали в стерильные чашки Петри (Nunc, Дания) и давали остыть при комнатной температуре.

Культуру клеток *E. coli* наращивали в жидкой среде LB (кат. № L7658 Sigma-Aldrich, США) в шейкер-инкубаторе при 37°C и 250 об/мин в течение 8 ч. Среду перед использованием стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 30 мин.

7.4.2. Условия культивирования *Staphylococcus aureus*

Селективную среду для выделения *S. aureus* – агар Байрда-Паркера готовили растворением 58 г среды (кат. № 105406.0500, Merck, Германия) в 950 мл дистиллированной воды. Затем давали среде набухнуть в течение 20-30 минут и стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 30 мин. После этого охлаждали до $45-50^\circ\text{C}$ и смешивали с 50 мл стерильной желточно-теллуритной эмульсии (Egg yolk tellurite emulsion sterile, for microbiology, кат. №1.03785.0001 Merck, Германия). По 20 мл теплой среды заливали в стерильные чашки Петри (Nunc, Дания) и давали заполимеризоваться.

Культуру клеток *S. aureus* наращивали в селективном бульоне Жиолитти-Кантони (кат. № 110675.0500, Merck, Германия), содержащую в 1000 мл раствора пептон казеина

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKHALIN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 13 из 29

10,0 г; мясной экстракт 5,0 г; дрожжевой экстракт 5,0 г; хлористый литий 5,0 г; хлористый натрий 5,0 г; маннит 20,0; глицин 1,2 г; пируват натрия 3,0 г; Твин-80 1,0 г.

Сухой бульон растворяли в концентрации 55 г/л в воде, разливали в пробирки по 19 мл и стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 20 мин. Затем охлаждали, вносили по 0,1 мл 1 %-ного раствора теллурита калия в каждую пробирку по необходимости. Контролировали pH среды $6,9 \pm 0,2$ при 25°C .

7.5. Приготовление растворов для инокуляции культур клеток

Среда SCDLP broth (Soybean casein digest broth with lecithin and polyoxyethylene sorbitan monooleate) состоит из 17,0 г казеинового пептона, 3,0 г пептона сои, 5,0 г хлорида натрия, 2,5 г гидрофосфата натрия, 2,5 г глюкозы, 1,0 г лецитина и 7,0 г Твин-80, разведенных в 1 000 мл дистиллированной воды (pH 7,2). Среду стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 30 мин.

Для приготовления Физиологического раствора с фосфатным буфером сначала готовили эти растворы по-отдельности.


Фосфатный буферный раствор готовили, поместив 34,0 г дигидрофосфата калия в емкость объемом 1000 мл. Затем добавляли 500 мл деионизированной воды и перемешивали до растворения. pH раствора доводили добавлением гидроксида натрия до значения от 6,8 до 7,2 (при 25°C). Объем доводили до 1000 мл в мерной колбе. Раствор стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 30 мин.

Физиологический раствор готовили, поместив 8,5 г хлорида натрия в 1000 мл деионизированной воды и перемешав до растворения.

После приготовления обоих растворов фосфатный буферный раствор разбавляли физиологическим раствором в 800 раз. Раствор стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$, давлении (103 ± 5) кПа в течение 30 мин.

7.6. Материалы и оборудование, необходимые для проведения исследования

Процедура	Перечень оборудования и материалов	Спецификация	Кол-во
1. Работа с клеточными культурами	1. Чашки Петри	Nunc, Дания Кат. № 150350	50
	2. Ламинарный шкаф	Бокс микробиологической безопасности БМБ-П-"Ламинар-С"-1,2 (221.120)	1 шт.

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 14 из 29

		3. Рабочая одежда:	-	10 компл.
		4. Твин-80	AppliChem, Германия, Кат. № А1390	1 шт.
		5. Пептон казеина	AppliChem, Германия, Кат. № А2208,0500	1 шт.
		6. Мясной экстракт	ООО «Гем», кат. № TN 1410	1 шт.
		7. Дрожжевой экстракт	Biospringer, Франция, Кат. № Н-0601MG-0.5	1 шт.
		8. Хлористый литий	Amresco, США Кат. № Am-0416-0,5	1 шт.
		9. Гидрофосфат натрия	Sigma-Aldrich, США, Кат. № 255793	1 шт.
		10. Глюкоза	Sigma-Aldrich, США, Кат. № G8270	1 шт.
		11. Лецитин	Sigma-Aldrich, США, Кат. № 44924	1 шт.
		12. Пируват натрия	Sigma-Aldrich, США, Кат. № P5280	1 шт.
		13. Дигидрофосфат калия	Sigma-Aldrich, США, Кат. № S8282	1 шт.
		14. Гидроксид натрия	Panreac, Германия, Кат. № 145881	1 шт.
		15. Хлористый натрий	Sigma-Aldrich, США, Кат. № 746398	1 шт.
		16. Маннит	Sigma-Aldrich, США, Кат. № 443907	1 шт.
		17. Глицин	Sigma-Aldrich, США, Кат. № G8898	1 шт.
		18. Агар Байрд-Паркера	Мерк, Германия (Merck KGaA), Кат. № 105406	1 шт.
		19. LB с агаром	Sigma-Aldrich, США, Кат. № L2897	1 шт.
		20. Бульон Жиолитти-Кантони	Merck, Германия, Кат. № 110675.0500,	1 шт.
		21. Желточно-теллуридная эмульсия)	Merck, Германия, Кат. № 1.03785.0001	
2. Анализ		1. Спектрофотометр	Thermo Scientific Multiskan GO	1 шт.

8. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте по определению бактерицидных свойств пластика использованы бактериальные культуры *Escherichia coli*, штамм ATCC 8739; *Staphylococcus aureus*, штамм ATCC 6538P, а также проведено исследование свойств образцов при воздушной контаминации. Образцы материала тестировали по схеме согласно таблице №1.


Итоговый отчет	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SACHINOW UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 15 из 29

Таблица 1. Схема проведения исследования


Бактериальная клеточная культура / Наименование исследования	Временные точки отбора проб	Материал	Манипуляции
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	0, 24 часа после инокуляции	Образец 1	Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании <i>E. coli</i> на поверхности
	0, 24 часа после инокуляции	Образец 2 (контроль)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538P)	0, 24 часа после инокуляции	Образец 1	Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании <i>S. aureus</i> на поверхности
	0, 24 часа после инокуляции	Образец 2 (контроль)	
Воздушная контаминация (<i>отпечаток</i>)	1 час экспозиции	Образец 1	Исследование бактерицидных свойств поверхности пластика при воздушной контаминации
	1 час экспозиции	Образец 2 (контроль)	
Воздушная контаминация (<i>смыв</i>)	1 час экспозиции	Образец 1	
	1 час экспозиции	Образец 2 (контроль)	

8.4. Исследование бактерицидных свойств поверхности пластика при воздушной контаминации

Образцы пластика стерилизовали перед тестированием обработкой 70% этанолом. Для воздушной контаминации исследуемые образцы помещали в нестерильную комнату на 1 ч. Исследование проводили в трех повторах для каждого вида пластика. В качестве контроля контаминации рядом с пластиком помещали открытую чашку Петри со стерильной агаризированной средой LB.

Отпечаток. По истечении 1 ч делали отпечатки образцов пластика на стерильных чашках Петри со стерильной агаризированной средой LB. Чашки Петри инкубировали в течение 48 ч в термостате при температуре 37°C. Затем проводили подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ).

Смыв. По истечении 1 ч образцы пластика промывали 5 мл стерильного физиологического раствора и высевали по 0,5 мл инокулята на стерильные чашки Петри со стерильной агаризированной средой LB. Чашки Петри инкубировали в течение 48 ч в

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 16 из 29

термостате при температуре 37°C. Затем проводили подсчет КОЕ.

8.5. Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании *E. coli* на поверхности

Образцы пластика стерилизовали перед тестированием обработкой 70% этиловым спиртом. Исследование проводили на шести образцах пластика REC PETG Biocide (Образец 1) и на шести образцах пластика REC PETG (Образец 2, контроль). 0,4 мл суспензии клеток *E. coli* с концентрацией $2,5 \cdot 10^5$ клеток/мл инокулировали на исследуемые образцы и закрывали куском пленки размером 4 см x 4 см. Сразу после инокуляции половину образцов (по 3 образца каждого вида пластика) промывали 10 мл среды SCDLP. Остальные чашки Петри, содержащие инокулированные образцы (по 3 образца каждого вида пластика), инкубировали при температуре 35°C и относительной влажности 90% в течение 24 ч. Через 24 ч образцы промывали 10 мл среды SCDLP. Схема постановки исследования приведена в таблице №2.

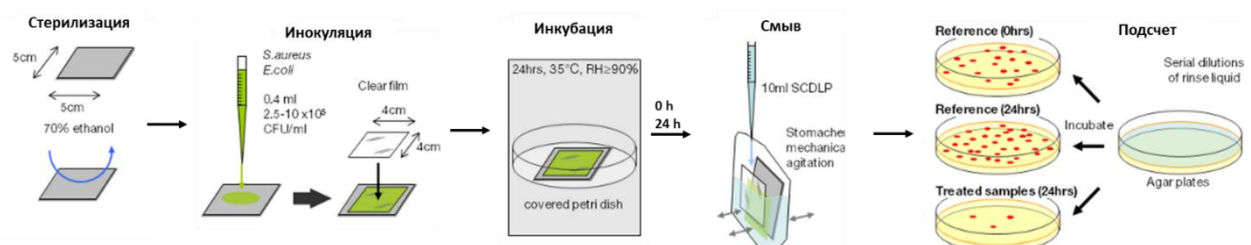
Таблица 2. Схема постановки исследования


Время инокуляции, ч	Образец 1	Образец 2
0 часов	3 шт. пробы	3 шт. пробы
24 часа	3 шт. пробы	3 шт. пробы

При тестировании серии антибактериальных материалов, изготовленных из одного полимера возможно проведение исследования на одной серии (3 шт. пробы) контрольных образцов, изготовленных из пластика без добавок, придающих ему антибактериальные свойства.

Для подсчета жизнеспособных бактерий (колониеобразующих единиц - КОЕ) элюированных с образцов в 0 и 24 ч, в среде SCDLP, среду разводили в 10^4 раз в растворе физиологическом буфера с фосфатным и высевали по 1 мл разведенного раствора в отдельные стерильные чашки Петри в дублях. Чашки Петри инкубировали при 35°C 48 ч. После инкубации подсчитывали количество КОЕ. Последовательность действий при проведении исследования представлена на рисунке 1.

Рисунок 1. Схема проведения исследования.



Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 17 из 29

8.6. Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании *S. aureus* на поверхности

Образцы пластика стерилизовали перед тестированием обработкой 70% этиловым спиртом. Исследование проводили на шести образцах пластика REC PETG Biocide (Образец 1) и на шести образцах пластика REC PETG (Образец 2, контроль). 0,4 мл суспензии клеток *S. aureus* с концентрацией $2,5 \cdot 10^5$ клеток/мл инокулировали на исследуемые образцы и закрывали куском пленки размером 4 см x 4 см. Сразу после инокуляции половину образцов (по 3 образца каждого вида пластика) промывали 10 мл среды SCDLP. Остальные чашки Петри, содержащие инокулированные образцы (по 3 образца каждого вида пластика), инкубировали при температуре 35°C и относительной влажности 90% в течение 24 ч. Через 24 ч образцы промывали 10 мл среды SCDLP. Схема постановки исследования приведена в таблице №3.

Таблица 3. Схема постановки исследования

Время инокуляции, ч	Образец 1	Образец 2
0 часов	3 шт. пробы	3 шт. пробы
24 часа	3 шт. пробы	3 шт. пробы


При тестировании серии антибактериальных материалов, изготовленных из одного полимера возможно проведение исследования на одной серии (3 шт. пробы) контрольных образцов, изготовленных из пластика без добавок, придающих ему антибактериальные свойства.

Для подсчета жизнеспособных бактерий *S. aureus* (КОЕ) элюированных с образцов в 0 и 24 ч, в среде SCDLP, среду разводили в 10^4 раз в растворе физиологическом буфера с фосфатным и высевали по 1 мл разведенного раствора в отдельные стерильные чашки Петри в дублях. Чашки Петри инкубировали при 35°C 48 ч. После инкубации подсчитывали количество КОЕ. Последовательность действий при проведении исследования представлена на рисунке 1.

8.7. Интерпретация результатов исследования

Подсчет КОЕ

Для каждого исследуемого образца определяли количество извлеченных

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SACHINOW UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 18 из 29

жизнеспособных бактерий (КОЕ) в соответствии с уравнением:

$$N = (100 \times C \times D \times V) / A, \text{ где}$$

N - КОЕ, выделенные на 1 см² исследуемого образца;

C - среднее количество чашек для дубликатов чашек;

D - коэффициент разбавления для подсчитанных чашек;

V - объем среды SCDLP в мл, добавленной к образцу;

A - площадь поверхности покровной пленки в мм².

Расчет показателя антибактериальной активности

Показатель антибактериальной активности рассчитывается по уравнению:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t, \text{ где}$$

R – показатель антибактериальной активности;

U₀ - представляет собой среднее значение десятичного логарифма количества КОЕ в КОЕ/см² из контрольного образца сразу после инокуляции;

U_t - это среднее значение десятичного логарифма количества КОЕ в КОЕ/см² для контрольного образца через 24 часа;

A_t - среднее значение десятичного логарифма количества КОЕ в КОЕ/см² для исследуемого образца через 24 ч.

8.8. Статистический анализ данных

Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (SM). Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 12. Графики строили в SigmaPlot.

9. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

9.4. Исследование бактерицидных свойств поверхности пластика при воздушной контаминации

В результате исследования антибактериальной активности образцов пластика REC PETG Biocide была проведена оценка КОЕ методом отпечатка и смыва с поверхности пластика. Образец 1 (серый) – исследуемый, Образец 2 (оранжевый) – контрольный пластик, чашки справа – контрольная воздушная контаминация без пластика (тотальная контаминация из воздуха). Результаты приведены на рисунках 2 и 3.


Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 19 из 29

Рисунок 2. КОЕ, отпечаток пластика, 48ч инкубации.

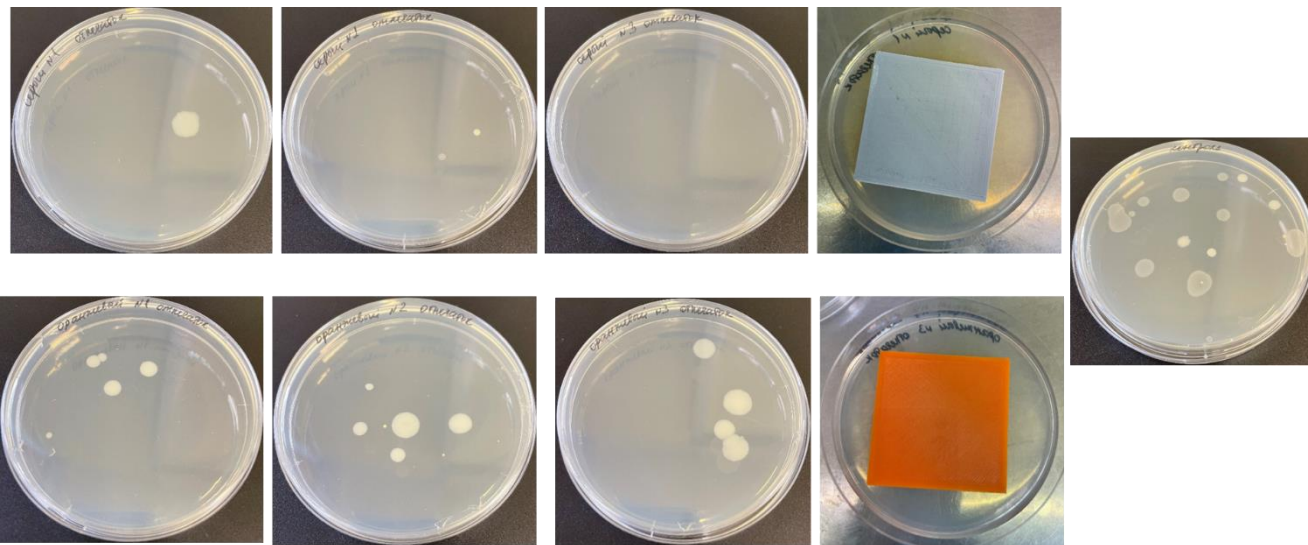
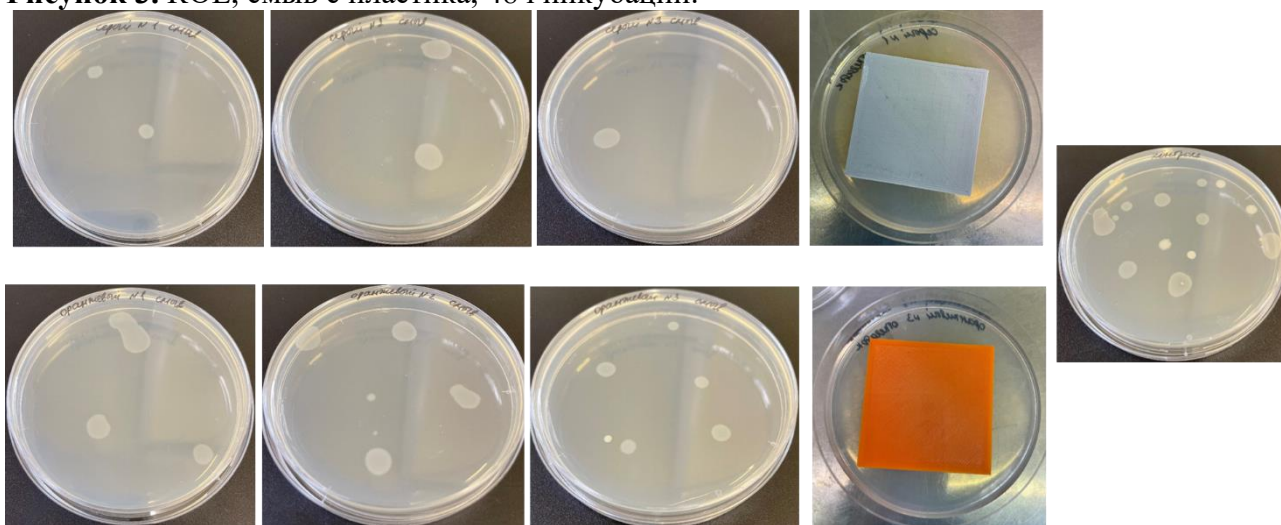



Рисунок 3. КОЕ, смыв с пластика, 48ч инкубации.



Средние значения КОЕ после 48 часов инкубации на отпечатках и в смывах приведены в таблице 4. Первичные данные приведены в Приложении 1.

Таблица 4.

Повторы	Отпечаток, КОЕ		Смыв, КОЕ		На чашке Петри
	Образец 1	Образец 2	Образец 1	Образец 2	
1	1	5	2	4	14
2	2	8	2	6	10
3	1	5	1	6	16
<i>M</i>	<i>1,3</i>	<i>6,0</i>	<i>1,7</i>	<i>5,3</i>	<i>13,3</i>
<i>SD</i>	<i>0,5</i>	<i>1,4</i>	<i>0,5</i>	<i>0,9</i>	<i>2,5</i>

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 20 из 29

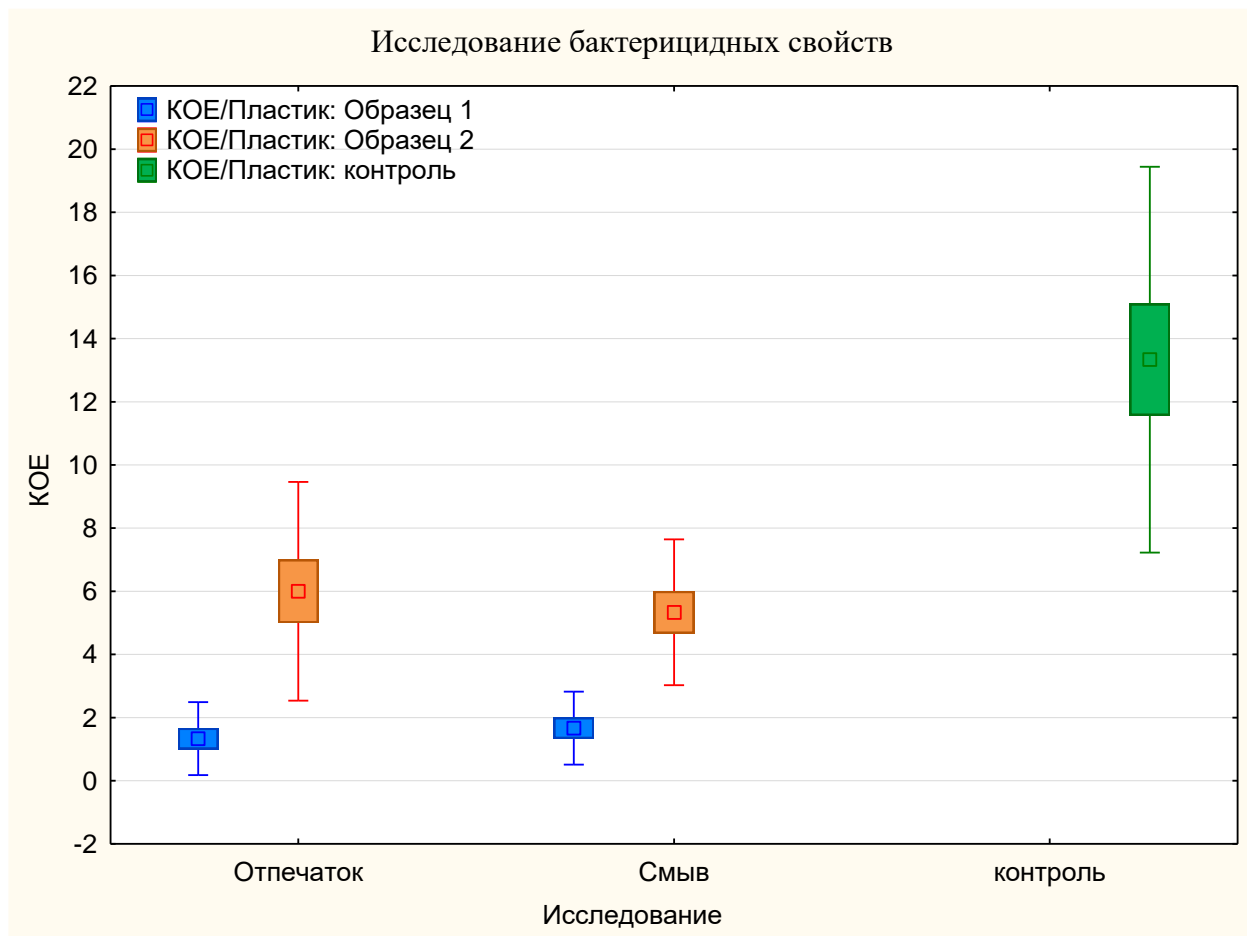
В результате анализа контаминации бактерий в нестерильных условиях в течение одного часа выявили:


1. В контрольной чашке Петри вырастает $13,3 \pm 2,5$ КОЕ через 48 часов
2. На отпечатке исследуемого пластика (Образец 1) вырастает $1,3 \pm 0,5$ КОЕ против $6,0 \pm 1,4$ КОЕ на отпечатке пластика сравнения (Образец 2), что составляет 22,2%.
3. На смыве исследуемого пластика (Образец 1) вырастает $1,7 \pm 0,5$ КОЕ против $5,3 \pm 0,9$ КОЕ на отпечатке пластика сравнения (Образец 2), что составляет 31,3%

Таким образом, в результате исследования бактерицидных свойств поверхности пластика при воздушной контаминации выявили, что исследуемого пластика (Образец 1) эффективнее пластика сравнения (Образец 2) в случае прямой адгезии (отпечаток) на 22,2%, по параметру бактерицидных свойств на 31,3%.

Графические данные приведены на графике 1.

График 1. Исследование бактерицидных свойств поверхности пластика при воздушной контаминации. (Ср.Зн. \pm Ст.Ошиб.)

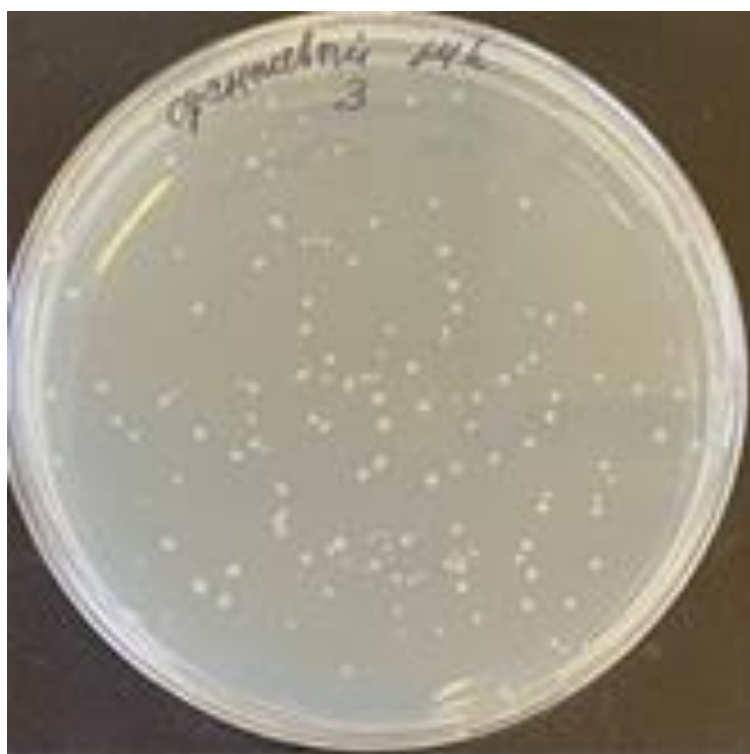


Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 21 из 29

9.5. Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании *E. coli* на поверхности

Подсчет КОЕ проводили в смывах с контрольного и исследуемого образцов пластика в 0 ч и после 24 ч инокуляции бактериальной культуры. Затем через 24 ч оценивали количество КОЕ на чашках Петри. Типичный результат приведен на рисунке 3.


Рисунок 3. Рост бактерий *E. coli* на чашках Петри с агаризированной средой LB.



В таблице 5 приведены средние значения по высевам *E. coli* после смывов с образцов пластика. Первичные данные приведены в Приложении 1.

Таблица 5. Среднее количество КОЕ *E. coli* в высевах с образцов пластика после инокуляции

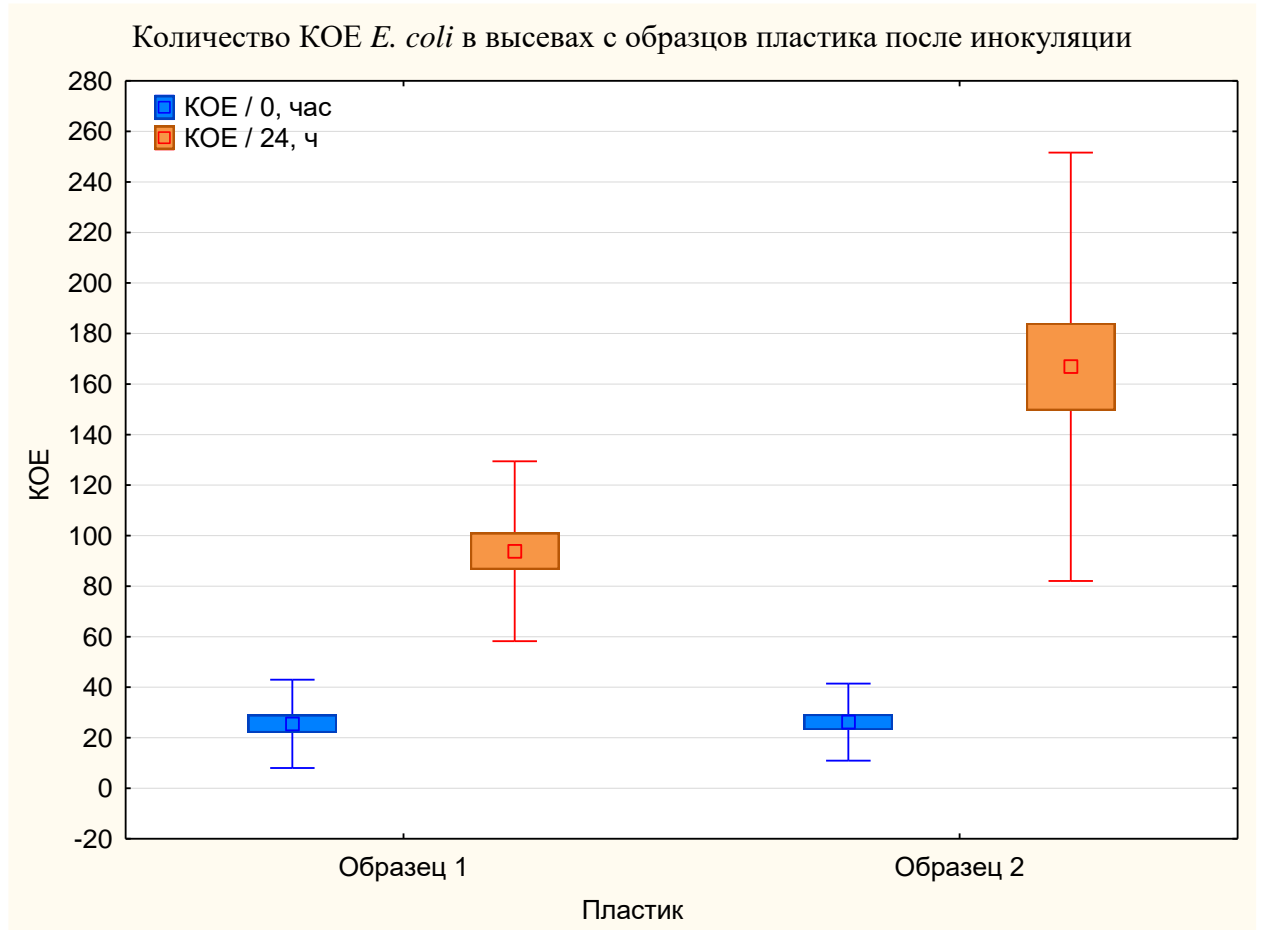
Время, ч	Образец 1	Образец 2	Образец 1	Образец 2
	Среднее значение КОЕ по 2 высевам с 1 образца		КОЕ / см ²	
0	31,5	34,5	7,88E+05	8,63E+05
	22	19	5,50E+05	4,75E+05
	23	25	5,75E+05	6,25E+05
M	25,5	26,2	6,38E+05	6,54E+05
SD	5,2	7,8	1,07E+05	1,60E+05
24	94,5	180	2,36E+06	4,50E+06
	86,5	189	2,16E+06	4,73E+06
	100,5	131,5	2,51E+06	3,29E+06
M	93,8	166,8	2,35E+06	4,17E+06

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 22 из 29

SD	7,0	30,9	1,43E+05	6,31E+05
-----------	------------	-------------	-----------------	-----------------

Графические данные приведены на графике 2.

График 2. Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании *E. coli*




В результате оценки бактерицидных свойств пластика при культивировании *E. coli* на поверхности, определяли R – показатель антибактериальной активности исследуемого пластика REC PETG Biocide (Образец 1) по сравнению с REC PETG (Образец 2, контроль). Показатель составил 0,25. Расчет показателя приведен в таблице 6.

Таблица 6. Расчет показателя антибактериальной активности по отношению к *E. coli*.

	КОЕ/см ²		log ₁₀ (КОЕ/см ²)		R	R, %
	0 ч	24 ч	0	24		
КОНТРОЛЬ	654 167	4 170 833	5,8	6,62	-0,80	0
ОБРАЗЕЦ	637 500	2 345 833	5,8	6,37	0,25	43,76

По данным исследования можно сделать вывод, что пластик REC PETG Biocide (Образец 1) обладает антибактериальным эффектом по отношению к культуре клеток *E. coli*. Показатель антибактериальной активности в соответствии с требованиями ИСО 22196 составил 0,25. То есть, исследуемый образец (пластик REC PETG Biocide) на 43,7%

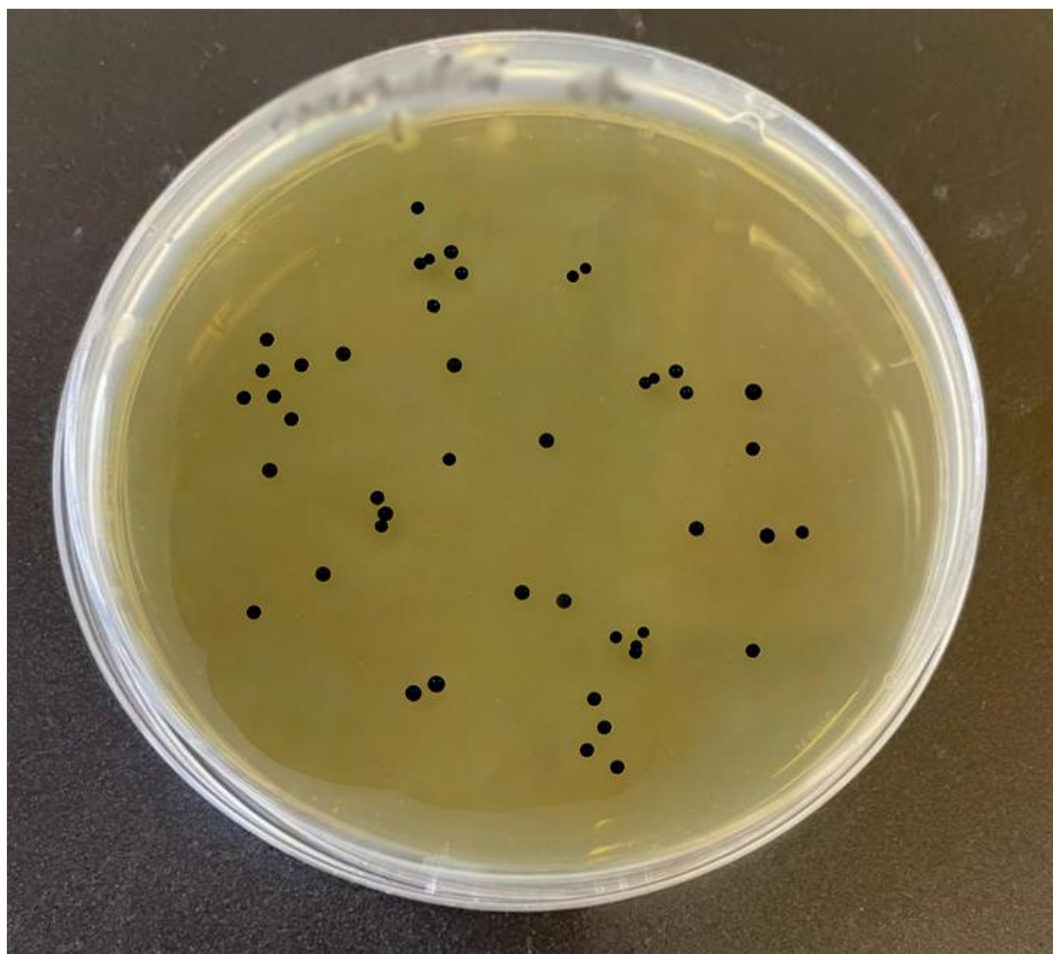
Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SACHINOW UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 23 из 29

эффективнее контрольного образца по параметру бактерицидных свойств относительно *E. coli*.

9.6. Исследование бактерицидных свойств пластика при культивировании *S. aureus* на поверхности

Подсчет КОЕ проводили в смывах с контрольного и исследуемого образцов пластика в 0 ч и после 24 ч инокуляции бактериальной культуры. Затем через 24 ч оценивали количество КОЕ на чашках Петри со средой Брайд-Паркера. На среде Байрд-Паркера колонии коагулазоположительных стафилококков растут в виде черных, блестящих, выпуклых колоний диаметром (1-1,5) мм. Типичный результат приведен на рисунке 4.

Рисунок 4. Рост бактерий *S. aureus* на чашках Петри со средой Брайд-Паркера



В таблице 7 приведены средние значения по высевам *S. aureus* после смывов с образцов пластика. Первичные данные приведены в Приложении 2.


Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 24 из 29

Таблица 7. Среднее количество КОЕ *S. aureus* в высевах с образцов пластика после инокуляции

Время, ч	Образец 1	Образец 2	Образец 1	Образец 2
	Среднее значение КОЕ по 2 высевам с 1 образца		КОЕ / см ²	
0	74,5	67,3	1,86E+06	1,68E+06
	80,1	82,0	2,00E+06	2,05E+06
	59,6	70,7	1,49E+06	1,77E+06
M	71,4	73,3	1,78E+06	1,83E+06
SD	10,6	7,7	2,17E+05	1,57E+05
24	14,0	19,7	3,50E+03	4,92E+05
	11,5	14,0	2,88E+03	3,50E+05
	5,9	21,0	1,48E+03	5,25E+05
M	10,5	18,2	2,62E+03	4,56E+05
SD	4,1	3,7	8,45E+02	7,60E+04

В результате оценки бактерицидных свойств пластика при культивировании *S. aureus* на поверхности определяли R – показатель антибактериальной активности исследуемого пластика REC PETG Biocide (Образец 1) по сравнению с REC PETG (Образец 2, контроль). Показатель составил 0,24. Расчет показателя приведен в таблице 8.


Таблица 8. Расчет показателя антибактериальной активности по отношению к *S. aureus*.

	КОЕ/см ²		log ₁₀ (КОЕ/см ²)		R	R, %
	0 ч	24 ч	0	24		
КОНТРОЛЬ	1 833 478	455 818	6,3	5,66	0,60	75
ОБРАЗЕЦ	1 784 617	2 618	6,3	3,42	2,24	99,43

По данным исследования можно сделать вывод, что пластик REC PETG Biocide (Образец 1) обладает антибактериальным эффектом по отношению к культуре клеток *S. aureus*. Показатель антибактериальной активности в соответствии с требованиями ИСО 22196 составил 2,24. То есть, исследуемый образец (пластик REC PETG Biocide) на 24,4% эффективнее контрольного образца по параметру бактерицидных свойств относительно *S. aureus*.


10. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном отчете представлены данные по исследованию антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов».

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SAKHENOV UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 25 из 29


Полимерный материал REC PETG Biocide обладает бактерицидными свойствами по отношению к культурам клеток *Escherichia coli* (штамм ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (штамм ATCC 6538P). Показатели антибактериальной активности составили для *E. coli* – 0,25, для *S. aureus* – 2,24. Что эффективнее пластика сравнения на 43,7% и 24,4% соответственно.

Исследуемый материал также проявил антибактериальный эффект при воздушном обсеменении. В случае прямой адгезии (отпечаток) на 22,2%, по параметру бактерицидных свойств на 31,3% по сравнению с пластиком сравнения.

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 <small>SAKHALIN UNIVERSITY</small>
Код исследования	PRC-056	Стр. 26 из 29

11. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ


1. Малета Ю.С., Тарасов В.В. Непараметрические методы статистического анализа в биологии и медицине. - М. Изд-во Моск. ун-та, 1982;
2. Справочник лабораторных методов исследования, под редакцией В.В. Меншикова. М., 1986.
3. ISO 22196:2011 Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов;
4. ГОСТ-Р 52815 2007 Методы выявления и определения количества коагулазаположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*;
5. ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
6. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SICHUAN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 27 из 29

Приложение 1.

Таблица. 9. Количество КОЕ после воздушной контаминации.


	Отпечаток		Смыв		Чашка Петри
	Образец 1 (Серый)	Образец 2 (Оранж.)	Образец 1 (Серый)	Образец 2 (Оранж.)	
КОЕ	1	5	2	4	14
	2	8	2	6	10
	1	5	1	6	16

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	 SICHUAN UNIVERSITY
Код исследования	PRC-056	Стр. 28 из 29

Приложение 2.

Таблица 10. Количество КОЕ *E. coli* в посевах с образцов пластика после инокуляции

Время, ч	№ пробы	КОЕ					
		Образец 1 (Серый)			Образец 2 (Оранжевый)		
		Повтор 1	Повтор 2	М	Повтор 1	Повтор 2	М
0	1	34	29	31,5	32	37	34,5
	2	29	15	22	20	18	19
	3	32	14	23	29	21	25
	М			25,5			26,2
	SD			5,2			7,8
24	1	94	95	94,5	140	220	180
	2	66	107	86,5	204	174	189
	3	117	84	100,5	159	104	131,5
	М			93,8			166,8
	SD			7,0			30,9

Итоговый отчёт	Исследование антибактериальных свойств композиционного полимерного биоцидного материала (REC PETG Biocide), производитель ООО НПО «РЭК», в соответствии с требованиями ISO 22196 «Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов»	
Код исследования	PRC-056	Стр. 29 из 29

Приложение 3.

Таблица 11. Количество КОЕ *S. aureus* в посевах с образцов пластика после инокуляции

Время, ч	№ пробы	КОЕ					
		Образец 1 (Серый)			Образец 2 (Оранжевый)		
		Повтор 1	Повтор 2	М	Повтор 1	Повтор 2	М
0	1	90	59	74,5	82	52	67,3
	2	84	76	80,1	86	78	82,0
	3	65	54	59,6	61	80	70,7
	М			71,4			73,3
	SD			10,6			7,7
24	1	23	5	14,0	18	21	19,7
	2	11	12	11,5	15	13	14,0
	3	9	3	5,9	30	12	21,0
	М			10,5			18,2
	SD			4,1			3,7