	Technická univerzita v Liberci Oddělení aplikované biologie Bendlova 1409/7, 461 17 Liberec	strana: 1 celkem stran: 7 datum vydání: 26. 2. 2021
Protokol o zkoušce č. 1		kontakt: alena.sevcu@tul.cz 485 353 805

Objednatel: NanoFlow s. r. o.
 Doubská 356/12
 460 06 Liberec 6

Zástupce objednatele: Lukáš Prade

Datum provedení zkoušek: 25. 1. 2021 – 5. 2. 2021

Požadované testy: **Testování účinnosti čističky vzduchu s využitím umělé mikrobiální kontaminace místnosti**

Typ přístroje: Nanočistička NanoFlow, verze na zavěšení

Mikrobiální kontaminace: *Micrococcus luteus*


Místo provedení analýz: Technická univerzita v Liberci, laboratoř chemických sanačních procesů

Analýzy provedla: Bc. Alice Břečková a Hana Řeháková

Výsledky zkoušek uvedené na protokolu se vztahují pouze ke zkoušeným položkám.

Bez písemného souhlasu zkušební laboratoře, nesmí být protokol reprodukován jinak, než celý.

RNDr. Alena Ševců, Ph.D.

	Technická univerzita v Liberci Oddělení aplikované biologie Bendlova 1409/7, 461 17 Liberec	strana: 2 celkem stran: 7 datum vydání: 26. 2. 2021
Protokol o zkoušce č. 1		kontakt: alena.sevcu@tul.cz 485 353 805

Metodika provedených prací:

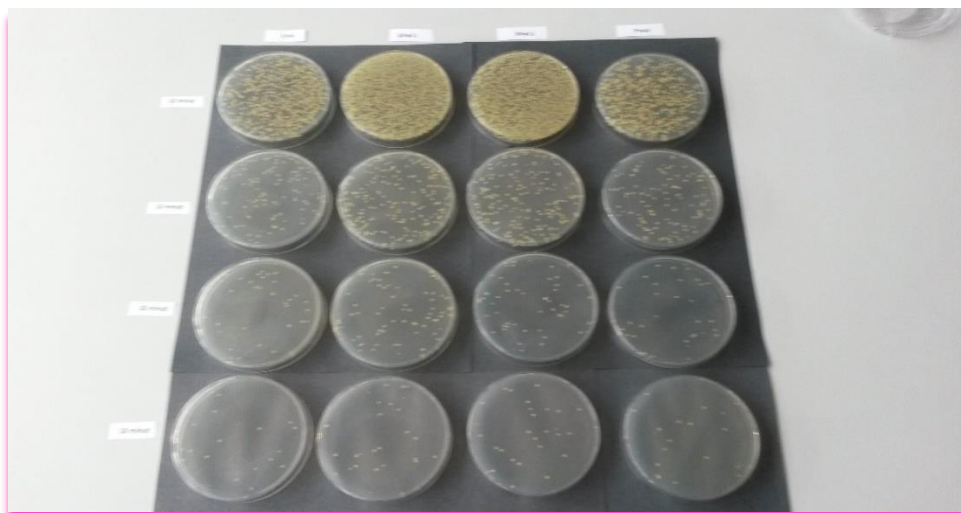
K zjištění účinnosti čističky byla využita metoda Stanovení počtu sedimentujících mikrobů v ovzduší ČSN 56 01 00 čl. 150. Při normálním provozu laboratoře byly výchozí počty spadů bakterií velmi nízké, proto bylo přistoupeno k umělé kontaminaci pomocí aerosolu (nastříkání určitého objemu inokula bakterií) a použití stojanového ventilátoru, aby se bakterie udržely delší dobu ve zviřeném vzduchu. K pokusu byl použit *Micrococcus luteus* (výskyt v prostředí – půda, voda, také fyziologická součást lidské mikroflóry). Pokus byl proveden v místnosti o velikosti 2,95 x 3,40 x 3,00 m (viz. obr. 1). Četnost provedených pokusů 2x negativní kontrola bez využití čističky, 3x s použitím čističky na výkon větráku 25%, 3x s použitím čističky na výkon větráku 75%.

Postup:

1. Vytěření místnosti před pokusem (30 min, zajištění dostatečné vlhkosti).
2. Při měření s čističkou byl spuštěn její provoz 30 min před pokusem.
3. Na plochy v místnosti byly rozmístěny Petriho misky s vylitým agarovým médiem PCA without Dextrose (firma BIO-RAD). Byla vybrána tři místa – přímo před čističkou (v duplikátu), při levé a pravé straně místnosti (úhlopříčkou cca 1,5 m od čističky, obr. 1).
4. Petriho misky byly označeny 1-4, postupně se po 10 min otvíraly a zavíraly.
5. Vlastní pokus začal otevřením misky č. 1 na všech třech stanovištích, následným spuštěním stojanového ventilátoru a nastříkáním aerosolu 5 ml inokula *Micrococcus luteus*. Inokulum zákalové stupnice 1 McFarland, přibližně koresponduje s hustotou buněčné kultury 3×10^8 buněk/ml.
6. Po 10 min se misky uzavřely, otevřely se misky č. 2, po 10 min se uzavřely a totéž se zopakovalo s miskami č. 3 a 4.
7. Následovala inkubace v termostatu při 37°C / 48 hod, kultivace do viditelných kolonií (viz obr. 2).
8. Odečítání výsledků = počítání narostlých kolonií tvořících jednotek (KTJ). Výsledkem byly čtyři hodnoty spadů v 10 min intervalech, v celkovém časovém úseku 40 min.
9. Grafy a statistické analýzy byly provedeny v programu GraphPad Prism, neparametrický Mann-Whitney test, hladina významnosti $P < 0.05$.



**Obr. 1 - Prostor, kde byla ověřována účinnost čističky
(š. 2,95 x d. 3,40 x v. 3,00 metru)**



**Obr. 2 - Petriho misky s agarovým médiem PCA without DEXTROSE (BIORAD) a získané spady
KTJ z jednoho z pokusů**

**Protokol o zkoušce č. 1**kontakt: alena.sevcu@tul.cz
485 353 805**Výsledky testů**

V reálném prostředí se námi zvolená vysoká kontaminace bakterií nebude vyskytovat, pro provedení testu byla nezbytná. Bez čističky probíhaly pouze dva testy v duplikátech (praskl rozprašovač aerosolu), s čističkou byla provedena tři stanovení v duplikátech.

Tab. 1 - Negativní kontrola – výsledky po nástřiku aerosolu s *M. luteus* bez čističky. KTJ – kolonie tvořící jednotka. Test byl zopakovaný dvakrát.

datum	čas	levá strana	střed 1	střed 2	pravá strana
28. 1. 2021	0-10 min	1618 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	1716 KTJ
	10-20 min	196 KTJ	572 KTJ	435 KTJ	219 KTJ
	20-30 min	59 KTJ	122 KTJ	84 KTJ	53 KTJ
	30-40 min	23 KTJ	30 KTJ	28 KTJ	20 KTJ
30. 1. 2021	0-10 min	1757 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	2152 KTJ
	10-20 min	385 KTJ	760 KTJ	748 KTJ	403 KTJ
	20-30 min	122 KTJ	267 KTJ	205 KTJ	158 KTJ
	30-40 min	58 KTJ	86 KTJ	67 KTJ	77 KTJ

Tab. 2 - Čistička – výsledky po nástřiku aerosolu s *M. luteus* a výkonu větráku 25%. Test byl zopakovaný třikrát.

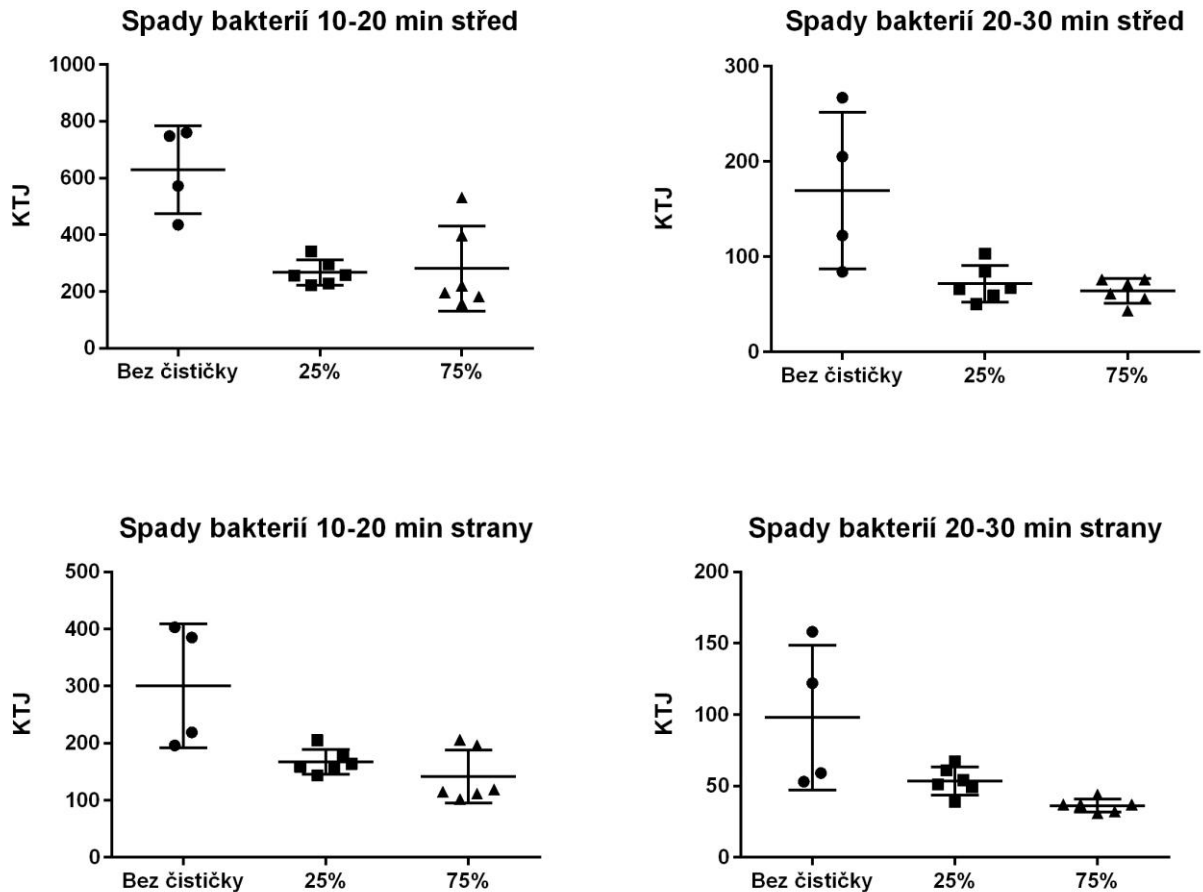
datum	čas	levá strana	střed 1	střed 2	pravá strana
31. 1. 2021	0-10 min	1135 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	1082 KTJ
	10-20 min	164 KTJ	296 KTJ	222 KTJ	159 KTJ
	20-30 min	67 KTJ	84 KTJ	67 KTJ	54 KTJ
	30-40 min	23 KTJ	20 KTJ	19 KTJ	17 KTJ
1. 2. 2021	0-10 min	1181 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	987 KTJ
	10-20 min	144 KTJ	256 KTJ	228 KTJ	177 KTJ
	20-30 min	61 KTJ	50 KTJ	59 KTJ	39 KTJ
	30-40 min	18 KTJ	32 KTJ	37 KTJ	21 KTJ

**Protokol o zkoušce č. 1**kontakt: alena.sevcu@tul.cz
485 353 805

2. 2. 2021	0-10 min	1143 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	967 KTJ
	10-20 min	156 KTJ	342 KTJ	259 KTJ	205 KTJ
	20-30 min	49 KTJ	103 KTJ	66 KTJ	51 KTJ
	30-40 min	21 KTJ	26 KTJ	35 KTJ	24 KTJ

Tab. 3 - Čistička – výkon větráku 75%. Test byl zopakovaný třikrát.


datum	čas	levá strana	střed 1	střed 2	pravá strana
3. 2. 2021	0-10 min	1704 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	638 KTJ
	10-20 min	196 KTJ	531 KTJ	398 KTJ	206 KTJ
	20-30 min	44 KTJ	76 KTJ	56 KTJ	31 KTJ
	30-40 min	15 KTJ	24 KTJ	26 KTJ	15 KTJ
4. 2. 2021	0-10 min	1169 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	902 KTJ
	10-20 min	102 KTJ	182 KTJ	158 KTJ	115 KTJ
	20-30 min	37 KTJ	71 KTJ	43 KTJ	32 KTJ
	30-40 min	10 KTJ	9 KTJ	13 KTJ	13 KTJ
4. 2. 2021	0-10 min	943 KTJ	>3000 KTJ	>3000 KTJ	796 KTJ
	10-20 min	112 KTJ	220 KTJ	196 KTJ	119 KTJ
	20-30 min	37 KTJ	76 KTJ	61 KTJ	37 KTJ
	30-40 min	18 KTJ	29 KTJ	29 KTJ	18 KTJ



Obr. 3. – Spady bakterií (hodnoty z Tab. 1, 2, 3) po 10-20 minutách a 20-30 minutách ve středu před čističkou a po stranách místnosti. KTJ – kolonie tvořící jednotky (počet narostlých kolonií na Petriho misce). 25% a 75% - výkon větráku čističky. Chybové úsečky – směrodatná odchylka (SD).

Tabulka 4. Výsledky statistické analýzy dat (neparametrický Mann-Whitney test, hladina významnosti P – pokud je $P < 0.05$, varianty se od sebe statisticky významně liší. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$).

	Bez čističky vs 25% výkon větráku	Bez čističky vs 75% výkon větráku
Střed 10-20 min	$P = 0,0095^{**}$	$P = 0.019^*$
Střed 20-30 min	$P = 0,028^*$	$P = 0,0095^{**}$
Strany 10-20 min	$P = 0,019^*$	$P = 0,028^{**}$
Strany 20-30 min	$P = 0,17$	$P = 0,0048^{**}$

	Technická univerzita v Liberci Oddělení aplikované biologie Bendlova 1409/7, 461 17 Liberec	strana: 7 celkem stran: 7 datum vydání: 26. 2. 2021
Protokol o zkoušce č. 1		kontakt: alena.sevcu@tul.cz 485 353 805

Hodnocení:

Pokus byl proveden na základě metody Stanovení počtu sedimentujících mikrobů v ovzduší s využitím stojanového ventilátoru a umělé mikrobiální kontaminace *Micrococcus luteus*. Získané hodnoty spadů jsou uvedeny ve výsledkové části pomocí tabulek a grafů.

Z výše uvedených hodnot (viz. Tab. 1-3) je patrné, že maximum nastříkaného aerosolu inokula a následných spadů bakterií (počty KTJ) se drží v hlavním proudu vzduchu směrem od stojanového ventilátoru středem místnosti k čističce.

Ze získaných hodnot je zřejmé, že při použití čističky za výše uvedených podmínek dochází průběžně k cca 50% úbytku KTJ (spadů) po každé 10 min expozici ve středu i po stranách místnosti. Rozdíly hodnot naměřených bez zapnuté čističky a po jejím působení jsou statisticky významné (Tab. 4) pouze s jednou výjimkou. Výsledky spadů při výkonu větráku na 25% a 75% se až na jednu výjimku (20-30 min. strany, $P = 0,0043$) statisticky nelišily.