



ACCUGEN LABORATORIES, INC.

FINAL REPORT

ISO 20645

Textile fabrics — Determination of antibacterial activity — Agar diffusion plate test

TEST AGENT

Absorbable Hemostat Pahacel Oxidized Regenerated Cellulose
Lot # 611289

Laboratory Number

98143

Testing Laboratory

Accugen Laboratories, Inc.
50 West 75th street, Ste 209
Willowbrook, IL 60527
Tel: 630-789-8105
Toll free: 800-282-7102
Fax: 630-789-8104
Web address: www.accugenlabs.com
Email: info@accugenlabs.com

Sponsor

ALTAYLAR MEDICAL LTD. STI
Anadolu Bulvari 174 cd
ATB is Merkezi No.222
Macunkoy Yenimahalle-09370
ANKARA-TR
Tel: +90 312 387 3218
Fax: +90 312 387 3219
M: +90 554 583 29 48
Contact: PASA ALTAY / SELJUK HAYDANLI
Email: info@altaylarmedikal.com
imp_altaylarmedikal@hotmail.com

Date Received: 01-21-13

Study Completion Date: 02-26-13

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

	Page
Title	3
Scope	3
Summary	3
Test Material	3
Test Bacteria	4
Apparatus, Reagents and Culture Media	5
Preparation of the Test Organisms	6
Preparation of test specimen	6
Conditioning of specimens	6
Test procedure	7
Evaluation	7
Evaluation Criteria	8
Test Results	9-10
Conclusion	11

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

Table of Contents

TITLE:

Textile fabrics — Determination of antibacterial activity — Agar diffusion plate test-ISO 20645

SCOPE:

The test is used to evaluate the antibacterial activity of antibacterial-treated woven, knitted and other flat textiles. It is applicable to testing hygienic finishes of hydrophilic, air-permeable materials or antibacterial products incorporated in the fiber. A minimum diffusion of the antibacterial treatment into the test agar is required.

SUMMARY:

Two layered growth medium was prepared. The lower layer consists of a culture medium free from bacteria and the upper layer was inoculated with the selected bacteria. Test samples were placed on two-layered agar plates. The textiles were tested on both sides. The level of antibacterial activity was assessed by examining the extent of bacterial growth in the contact zone between the agar and the specimen. If zone of inhibition was present around the sample, the size of zone of inhibition was also measured.

TEST MATERIALS: Samples of yellowish off white color, rectangular shape, 4 x 7 inches size pieces with one side glossy labeled as **Absorbable Hemostat Pahacel**

Oxidized Regenerated Cellulose, Lot # 611289 were submitted to be tested for antimicrobial activity according to ISO 20645 test method.

Microorganisms

- *Escherichia. Coli* ATCC # 15597
- *Serratia marcescens* ATCC # 13880
- *Streptococcus agalactiae* ATCC # 12386
- *Salmonella enterica* ATCC # 10708

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

- *Staphylococcus epidermidis* ATCC # 12228
- *Enterococcus faecalis* ATCC # 29212
- *Clostridium perfringens* ATCC # 13124
- *Proteus mirabilis* ATCC # 7002
- *Proteus vulgaris* ATCC # 13315
- *Corynebacterium xerosis* ATCC # 373
- *Pseudomonas stutzeri* ATCC # 11607
- *Micrococcus luteus* ATCC # 381
- *Shigella flexneri* ATCC # 12022
- *Streptococcus pneumonia* ATCC # 49619 Penicillin Resistant
- *Streptococcus salvarius* ATCC # 13419
- *Branhamella catarrhalis* ATCC # 8176
- *Streptococcus pyogenes* ATCC # 19615
- *Bacteroides fragilis* ATCC # 25285
- *Mycobacterium smegmatis* ATCC # 14468
- *Lactobacillus acidophilus* ATCC # 4356
- *Clostridium tetani* ATCC # 19406
- Vancomycin Resistant Enterococci ATCC # 51299

Contact temperature: At (37 ± 1) °C

Control: Cotton fabric without antibacterial treatment for the bacterial growth control was used.

Negative Control: media without organism.

Reference:

Textile fabrics — Determination of antibacterial activity — Agar diffusion plate test, ISO 20645-2004, First edition 2004-12-01

Reagents, culture media and solutions:

- Deionized sterilized water
- Gram stain reagents
- Biochemicals like catalase, coagulase, indole, oxidase

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

Culture medium:

- Tryptic Soy agar
- Blood agar
- Lowenstein Jensen agar
- Lactobacillus agar
- Phosphate buffer solution

Supplies:

- Sterile petri dishes 15 x 100 mm
- 1 mL, 5 mL and 10 mL sterile pipettes
- sterile bottles
- Sterile 16 x 100 mm glass test tubes with screw caps
- Pipetters, sterile, with 1 000 µl tips.
- Inoculating loops
- Routine Microbiological test materials
- 1000 ml volumetric flask.
- Erlenmeyer flasks or media bottles, as required for preparation of media.

Equipments:

- Vortex mixer
- Incubator , capable of maintaining a temperature of $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.
- Microscope, 20 × magnification, lighting from beneath (lens 20x, stereomicroscope 20x).
- Weighing balance capable of weighing to $\pm 0,01\text{g}$.
- pH meter sensitive to 0.1 pH unit
- Water bath capable of 45°C
- Refrigerator $2-8^\circ\text{C}$
- Steam sterilizer capable of 121°C and 15 lbs pressure
- Hotplate with stirrer, or hot-water bath.

Storage of test specimens: Samples were stored at room temperature in their original package.

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

Pretreatment of the test specimen by lab:

No washing, no UV light sterilization and no steam sterilization was carried out on the sample prior to testing. Sample was tested as provided.

Preparation of test specimens:

The test specimens was prepared in circular shape, with a diameter of (25 ± 5) mm. Tests were carried out on both sides of the specimens. Four specimens were used to test each test organism.

Conditioning of Test Specimens:

The samples were conditioned by leaving in sterilized petri dishes at room temperature for 24 hours.

Preparation of test organisms:

The lyophilized bacteria were suspended in an adequate quantity of growth broth. Liquid subcultures were prepared from the suspension and agar plate cultures were prepared.

Bacteria from the stock cultures were transferred to the slant culture medium by using inoculating loop. Cultures were incubated at $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ for 16 h to 24 h.

Streaked to check the purity of the culture, and confirmed the identity by microscopic examination and gram stain. Broth subculture transfers were carried out for up to three days to avoid the opportunity for contamination. Incubated for 24 h in each case at $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. The purity of the colonies again was verified by streaking on growth medium agar plates.

Test Procedure:

About ten ml of the growth media was poured into each sterilized petri dishes and let the agar solidify.

The required agar quantity was prepared and cooled to $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$ in the water bath. 150 ml of growth medium agar was inoculated with $(1 \pm 0,1)$ ml of bacterial working culture ($1-5 \times 10^8$ cfu/ml). The flasks were vortexed vigorously to distribute the bacteria evenly. About five ml was poured into each petri dish and let the agar solidify. The inoculated agar plates were

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

used within 1 h.

The test samples were picked up with a pair of sterilized forceps and left on top of inoculated agar plate. Samples were slightly pressed with sterile bent glass rod evenly on the sample until the texture of the fabric was uniformly imprinted and there was good contact between specimen and agar.

The plates were incubated for 18 h to 24 h at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ immediately after placing the test specimens on the agar and then checked for bacterial growth. It was ensured that there is contact between specimen and agar for the whole incubation period.

Incubation of the inoculated test specimens:

Incubated the Petri dishes containing the inoculated test specimens including the untreated test specimens, at a temperature of $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ for (24 ± 1) h.

Evaluation:

The assessment was based on the absence or presence of bacterial growth in the contact zone between agar and specimen and on the eventual appearance of an inhibition zone around the specimens.

The width of the inhibition zone was calculated, i.e. the zone free from bacteria near the specimen's edge, using the following formula:

Calculation of the antibacterial activity:

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

where

- H is the inhibition zone in mm
- D is the total diameter of specimen and inhibition zone in mm
- d is the diameter of specimen in mm

After measuring the inhibition zone, the specimens was removed from the agar. The contact zones under the specimens was observed for bacterial growth with a microscope at 20 times magnification and lighting from beneath.

Evaluation Criteria:

Inhibition zone (mm) Mean value	Growth	Description	Evaluation

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

>1	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	good effect
1-0	None	inhibition zone up to 1 mm, no growth	
0	None	no inhibition zone, no growth	
0	Slight	no inhibition zone, only some restricted colonies, growth nearly totally suppressed	Limit of efficacy
0	Moderate	no inhibition zone, compare to the control growth reduced to half	Insufficient effect
0	Heavy	no inhibition zone, compare to the control no growth reduction or only slightly reduced growth	

Test report includes following informations:

- a) reference to the method,
- b) description of the type of material tested,
- c) pretreatment of the test specimen (e.g. washing, exposition to light, weathering),
- d) size, number and preparation of the specimens,
- e) storage of the specimens prior to the test,
- f) test bacteria,
- g) results of the test according to the evaluation scheme
- h) date, signature and name of the testing organization

Testing Facility: Studies were conducted by Accugen Laboratories, Inc located at 50 West, 75th street, Willowbrook, IL 60527

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

TEST RESULTS : d is the diameter of specimen in mm d= 25 mm

Serial #	Test Organism	D = the total diameter of specimen and inhibition zone in mm			Mean D	H Inhibit ion zone (mm) Mean	Growth Under the specim en	Description	Evaluation
1	<i>Escherichia.coli</i> ATCC # 15597	Upside	29	29	29.5	2.25	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	good effec
		Bottom side	30	30					
2	<i>Serratia marcescens</i> ATCC # 13880	Upside	28	29	29.25	2.12	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	good effec
		Bottom side	30	30					
3	<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC # 12386	Upside	35	36	35.5	5.25	None	Inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effec
		Bottom side	36	35					
4	<i>Salmonella enterica</i> ATCC # 10708	Upside	25	26	25.75	0.38	None	inhibition zone less than 1 mm, no growth under sample	Good effec
		Bottom side	26	26					
5	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC # 12228	Upside	28	28	29	2	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effec
		Bottom side	30	30					
6	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC # 29212	Upside	27	27	26.75	0.88	None	inhibition zone less than 1 mm, no growth under sample	Good effec
		Bottom side	27	26					
7	<i>Clostridium perfringens</i> ATCC # 13124	Upside	27	26	26.50	0.75	None	inhibition zone less than 1 mm, no growth under sample	Good effec
		Bottom side	27	26					

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

8	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC # 7002	Upside	28	27	27	1.0	None	inhibition zone up to 1 mm, no growth	Good effect
		Bottom side	26	27					
9	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC # 13315	Upside	30	30	30	2.5	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	30	30					
10	<i>Corynebacterium xerosis</i> ATCC # 373	Upside	39	40	39.50	7.25	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	39	40					
11	<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC # 11607	Upside	30	30	29.75	2.38	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	29	30					
12	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC # 381	Upside	38	38	37.50	6.25	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	37	37					
13	<i>Shigella flexneri</i> ATCC # 12022	Upside	34	34	33.50	4.25	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	33	33					
14	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC # 49619 Penicillin resistant	Upside	40	38	37.50	6.25	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	36	36					
15	<i>Streptococcus salvarius</i> ATCC # 13419	Upside	34	35	33.50	4.25	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	32	33					
16	<i>Branhamella</i>	Upside	47	46	47.50	11.25	None	inhibition zone	Good effect

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

	<i>catarrhalis</i> ATCC # 8176	Bottom side	49	48				exceeding 1 mm, no growth under sample	
17	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC # 19615	Upside	40	40	40.75	7.88	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	41	42					
18	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC # 25285	Upside	28	28	28.50	1.75	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	29	29					
19	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC # 14468	Upside	25	25	25	0	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	25	25					
20	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC # 4356	Upside	31	32	31.75	3.38	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	32	32					
21	<i>Clostridium tetani</i> ATCC # 19406	Upside	29	29	29	2.00	None	inhibition zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	29	29					
22	<i>Vancomycin Resistant Enterococci</i> ATCC # 51299	Upside	29	29	29	2	None	Inhibition Zone exceeding 1 mm, no growth under sample	Good effect
		Bottom side	28	29					

Conclusion: The antibacterial treatment requirements of good effect were fulfilled by the sample tested against both the gram negative and gram positive bacteria, mycobacteria and antibiotic resistant bacteria tested.



T. Naqvi M.S Microbiology, M (ASCP). Study Director

All analytical data and reports are client confidential and available only to the client. Authorization for publication of excerpt, statements, or conclusions regarding our reports is reserved pending written approval from Accugen, Laboratories, Inc.

ACCUGEN LABORATORIES, INC.

RAPORT KOŃCOWY

ISO 20645

Wyroby włókiennicze -- Wyznaczanie aktywności antybakteryjnej -- Metoda dyfuzji na płytce z agarem

BADANY PRODUKT

Wchłaniaalny Hemostatyk Pahacel Oksydowana Regenrowana Celuloza
nr LOT 611289

Numer laboratorium

98143

Laboratorium testujące

Accugen Laboratories, Inc.
50 West 75th street, Ste 209
Willowbrook, IL 60527
Tel: 630-789-8105
Toll free: 800-282-7102
Fax: 630-789-8104
Web address: www.accugenlabs.com
Email: info@accugenlabs.com

Sponsor

ALTAYLAR MEDICAL LTD. STI
Anadolu Bulvari 174 cd
ATB is Merkezi No.222
Macunkoy Yenimahalle-09370
ANKARA-TR
Tel: +90 312 387 3218
Fax: +90 312 387 3219
M: +90 554 583 29 48
Contact: PASA ALTAY / SELJUK HAYDANLI
Email: info@altaylarmedikal.com
imp_altaylarmedikal@hotmail.com

Data otrzymania: 21-01-13

Data zakończenia badań : 26-02-13

Spis Treści

TYTUŁ

Wyroby włókiennicze - Wyznaczanie aktywności antybakteryjnej - Metoda dyfuzji na płytce z agarem –ISO 20645

ZAKRES

Test w celu określenia efektu antybakteryjnego obróbek stosowanych dla tkanin, dzianin i innych płaskich wyrobów włókienniczych. Metoda stosowana do badania wykończeń higienicznych hydrofilowych i przewodzących materiałów lub produktów antybakteryjnych zawierających włókno. Wymagana jest minimalna dyfuzja działania antybakteryjnego na płytce z agarem.

PODSUMOWANIE

Przygotowano dwuwarstwowe podłoże hodowlane. Niższa warstwa składa się z medium hodowlanego wolnego od bakterii, a wyższa warstwa została zaszczipiona wybranym rodzajem bakterii. Badane próbki zostały umieszczone na dwuwarstwowych płytkach z agarem. Włókna były badane na obu stronach. Poziom działania antybakteryjnego był oceniany przez sprawdzenie stopnia wzrostu bakteryjnego w przestrzeni kontaktowej pomiędzy agarem a próbką. Jeśli obszar zahamowania był obecny wokół próbki, rozmiar obszaru zahamowania był także mierzony.

Badanie materiału: próbki o żółtawo białym kolorze, prostokątny kształt 4 x 7 cala z połyskującym oznaczeniem z jednej strony jako **Absorbable Hemostat Pahacel Oxidized Regenerated Cellulose**, nr LOT 611289, zostały poddane badaniom na działanie przeciwmikrobowe, metodami badań zgodnie z normą ISO 20645.

Mikroorganizmy

- Escherichia. Coli ATCC # 15597
- Serratia marcescens ATCC # 13880
- Streptococcus agalactiae ATCC # 12386
- Salmonella enterica ATCC # 10708
- Staphylococcus epidermidis ATCC # 12228
- Enterococcus faecalis ATCC # 29212
- Clostridium perfringens ATCC # 13124
- Proteus mirabilis ATCC # 7002
- Proteus vulgaris ATCC # 13315
- Corynebacterium xerosis ATCC # 373
- Pseudomonas stutzeri ATCC # 11607
- Micrococcus luteus ATCC # 381
- Shigella flexneri ATCC # 12022
- Streptococcus pneumonia ATCC # 49619 Penicillin Resistant
- Streptococcus salivarius ATCC # 13419
- Branhamella catarrhalis ATCC # 8176
- Streptococcus pyogenes ATCC # 19615
- Bacteroides fragilis ATCC # 25285
- Mycobacterium smegmatis ATCC # 14468
- Lactobacillus acidophilus ATCC # 4356
- Clostridium tetani ATCC # 19406
- Vancomycin Resistant Enterococci ATCC # 51299

Wszystkie dane analityczne i raporty są poufne i dostępne tylko dla klienta. Zezwolenie na publikację fragmentów, oświadczeń lub wniosków raportu możliwe po otrzymaniu pisemnej zgody Accugen, Laboratories, Inc.

Temperatura kontaktowa : 37±1°C
Grupa kontrolna: użyto bawełnianego włókna bez właściwości antybakteryjnych do kontrolnej hodowli bakterii
Grupa kontroli ujemnej: pożywki bez organizmów

Referencje

Wyroby włókiennicze - Wyznaczanie aktywności antybakteryjnej - Metoda dyfuzji na płytce z agarem - ISO 20645-2004, pierwsze wydanie 2004-12-01

Odczynniki, pożywki hodowlane i roztwory:

- dejonizowana sterylna woda
- odczynniki do barwienia metodą Grama
- biochemikalia jak katalaza, koagulaza, indol, oksydaza.

Pożywki hodowlane

- tryptic soy agar
- agar z krwią
- agar Lowensteina Jensesna
- agar do hodowli bakterii z rodzaju Lactobacillus
- roztwór buforu fosforanowego

Materiały

- sterylne szalki Petriego 15x100mm
- sterylne pipety 1ml, 5ml, 10ml
- sterylne butelki
- sterylne probówki z nakrętkami 16x100mm
- sterylne pipety z końcówkami 1 000µl
- ezy
- standardowe materiały do testów mikrobiologicznych
- kolba 1000ml
- kolba Erlenmeyer lub butelki na pożywki, zgodnie z wymaganiami dotyczącymi przygotowania pożywki

Wypożenie

- wstrząsarka Vortex
- inkubator, utrzymujący temperaturę 37±1°C
- mikroskop, powiększenie x20, oświetlenie dolne (soczewka 20x, stereomikroskop 20x)
- waga z dokładnością ±0,01g
- miernik pH, czułość do 0,1pH
- myjka wodna w 45°C
- lodówka 2-8°C
- sterylizator parowy z programem 121°C i ciśnieniem 15lbs
- płyta grzejna z mieszadłem

Przechowywanie próbek do badań: próbki przechowywane w temperaturze pokojowej w oryginalnym opakowaniu

Wszystkie dane analityczne i raporty są poufne i dostępne tylko dla klienta. Zezwolenie na publikację fragmentów, oświadczeń lub wniosków raportu możliwe po otrzymaniu pisemnej zgody Accugen, Laboratories, Inc.

Wstępne przygotowanie badanych próbek przez laboratorium

Przed badaniem nie przeprowadzono mycia, sterylizacji światłem UV, ani sterylizacji parowej próbek. próbki zostały zbadane w stanie, w jakim je dostarczono.

Przygotowanie badanych próbek

Próbki do badań zostały przycięte do okrągłego kształtu, o średnicy 25±5mm. Badania zostały przeprowadzone po obu stronach próbek. Do badania każdego z organizmów użyto czterech próbek

Warunki badania próbek

Próbki pozostawiono w sterylnych szalkach petriego w temperaturze pokojowej przez 24 godziny

Przygotowanie badanych organizmów

liofilizowane bakterie były zawieszane w odpowiedniej ilości pożywki. Przygotowywano płynne subkultury z zawiesiny oraz hodowle na płytce z agarem. Bakterie z preparatu były przenoszone na skośne podłoże hodowlane za pomocą ezy. Hodowle były inkubowane w 37±1°C przez 16 do 24 godzin. Wykonano posiew, by sprawdzić czystość hodowli i potwierdzić tożsamość za pomocą badania mikroskopowego i barwieniem metodą Grama. Transfery pożywki subkultur przeprowadzano co 3 dni, aby uniknąć możliwości zanieczyszczenia. W każdym przypadku były inkubowane przez 24 godziny w 37±1°C. Ponownie sprawdzano czystość kolonii, posiewem na pożywkę z agarem

Procedura badania

Do każdej sterylnej szalki petriego wiano około 10ml pożywki i pozostawiono do stwardnienia agaru. Przygotowano i schłodzono w kąpielii wodnej (45±1 °C) wymaganą ilość agaru. 150ml pożywki z agarem (1±0,1)ml zostało zaszczerpione pracującą kulturą bakterii (1-5x10⁸ cfu/ml). Kolby zostały mocno wstrząśnięte, aby równomiernie rozmieścić bakterie. Około 5ml zostało wlane do każdej z szalek petriego o pozostawione do stężenia agaru. Zaszczerpione płytki z agarem zostały wykorzystane w ciągu jednej godziny. Badane próbki były podnoszone za pomocą sterylnych pęsety i pozostawiane na górze zaszczerpionych płytek z agarem. Próbki były lekko przyciskane równomiernie sterylnym wygiętym szklanym pręcikiem, aż struktura włókna była jednolicie odcisnięta i powstał dobra styczność pomiędzy próbka i agarem. Płytki były inkubowane przez 18 do 24 godzin w 37±1°C, natychmiast po umieszczeniu badanej próbki na agarze oraz sprawdzone pod kątem wzrostu bakterii. Zapewniono styczność pomiędzy próbka a agarem przez cały czas trwania inkubacji

Inkubacja zaszczerpionych badanych próbek

Inkubowano szalki petriego zawierające zaszczerpione badane próbki oraz nienaruszone próbki w temperaturze 37±1°C przez 24±1 godzin.

Ocena

Ocena była oparta na obecności lub nieobecności wzrostu bakterii w strefie styczności pomiędzy agarem a próbka oraz na ostatecznym pojawieniu się strefy zahamowania wzrostu wokół próbki.

Szerokość strefy zahamowania wzrostu, tj. obszary wolnego od bakterii w pobliżu krawędzi próbki, była obliczana za pomocą następującego wzoru.

Obliczanie antybakteryjnego działania

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

gdzie

H- strefa zahamowania wzrostu w mm

D - całkowita średnica próbki i strefy zahamowania wzrostu w mm

d - średnica próbki w mm

Po pomiarze strefy zahamowania wzrostu, próbka była usuwana z agaru. Strefa styczności pod próbką była obserwowana pod kątem rozwoju bakterii za pomocą mikroskopu o 20krotnym powiększeniu i dolnym podświetleniu.

Kryteria oceny

Strefa zahamowania wzrostu (mm) Średnia wartość	wzrost	opis	ocena
>1	brak	Strefa zahamowania wzrostu przekracza 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
1-0	brak	Strefa zahamowania wzrostu do 1mm, brak wzrostu	
0	brak	Brak strefy zahamowania wzrostu, brak wzrostu	
0	Niewielki	brak strefy zahamowania wzrostu, jedynie ograniczone kolonie, wzrost bliski całkowitemu zniesieniu	ograniczona efektywność
0	Umiarkowany	Brak strefy zahamowania wzrostu, w porównaniu z grupą kontrolną wzrost zmniejszony o połowę	niewystarczający efekt
0	duży	Brak strefy zahamowania wzrostu, w porównaniu z grupą kontrolną brak efektu zmniejszenia wzrostu lub jedynie nieznaczny efekt	

Raport z badań zawiera następujące informacje

- a) odniesienie do metody
- b) opis rodzaju badanych materiałów
- c) wstępne przygotowania badanych próbek (np. mycie, ekspozycja na światło, wietrzenie)
- d) rozmiar, liczba i przygotowanie próbek
- e) przechowywanie próbek przed badaniem \badane bakterie
- f) wyniki badań zgodnie ze schematem oceny
- g) data, podpis i n nazwa organizacji badającej

Miejsce badań

Badania przeprowadzone przez Accugen Laboratories, inc adres 50West , 75th Street, Willowbrook, IL 60527.

WYNIKI BADAŃ: d średnica próbki w mm d=25mm

nr serii	Badany organizm	D=całkowita średnica próbki i strefy zahamowania wzrostu w mm			średnia D	H strefa zahamowania wzrostu (mm) średnia	wzrost pod próbką	opis	ocena
1	Escherichia.coli ATCC # 15597	góraż	29	29	29,5	2,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	30	30					
2	Serratia marcescens ATCC # 13880	góraż	28	29	29,25	2,12	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	30	30					
3	Streptococcus agalactiae ATCC # 12386	góraż	35	36	35,5	5,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	36	35					
4	Salmonella enterica ATCC # 10708	góraż	25	26	25,75	0,38	brak	strefa ograniczenia wzrostu mniejsza niż 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	26	26					
5	Staphylococcus epidermidis ATCC # 12228	góraż	28	28	29	2	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	30	30					
6	Enterococcus faecalis ATCC # 29212	góraż	27	27	26,75	0,88	brak	strefa ograniczenia wzrostu mniejsza niż 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	27	26					
7	Clostridium perfringens ATCC # 13124	góraż	27	26	26,50	0,75	brak	strefa ograniczenia wzrostu mniejsza niż 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	27	26					
8	Proteus mirabilis ATCC # 7002	góraż	28	27	27	1,0	brak	strefa ograniczenia wzrostu do 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	26	27					
9	Proteus vulgaris ATCC # 13315	góraż	30	30	30	2,5	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	30	30					
10	Corynebacterium xerosis ATCC # 373	góraż	39	40	39,50	7,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	39	40					
11	Pseudomonas stutzeri ATCC # 11607	góraż	30	30	29,75	2,38	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	29	30					
12	Micrococcus luteus ATCC # 381	góraż	38	38	37,50	6,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	37	37					
13	Shigella flexneri ATCC # 12022	góraż	34	34	33,50	4,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	33	33					
14	Streptococcus pneumonia ATCC # 49619 Penicillin resistant	góraż	40	38	37,50	6,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	36	36					
15	Streptococcus salvarius ATCC # 13419	góraż	34	35	33,50	4,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	32	33					
16	Branhamella catarrhalis ATCC # 8176	góraż	47	46	47,50	11,25	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	49	48					
17	Streptococcus	góraż	40	40	40,75	7,88	brak	strefa ograniczenia wzrostu	dobry

Wszystkie dane analityczne i raporty są poufne i dostępne tylko dla klienta. Zezwolenie na publikację fragmentów, oświadczeń lub wniosków raportu możliwe po otrzymaniu pisemnej zgody Accugen, Laboratories, Inc.

	pyogenes ATCC # 19615	dół	41	42				przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	efekt
18	Bacteroides fragilis ATCC # 25285	góraż	28	28	28,50	1,75	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	29	29					
19	Mycobacterium smegmatis ATCC # 14468	góraż	25	25	25	0	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	25	25					
20	Lactobacillus acidophilus ATCC # 4356	góraż	31	32	31,75	3,38	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	32	32					
21	Clostridium tetani ATCC # 19406	góraż	29	29	29	2,00	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	29	29					
22	Vancomycin Resistant Enterococci ATCC # 51299	góraż	29	29	29	2	brak	strefa ograniczenia wzrostu przekraczająca 1mm, brak wzrostu pod próbką	dobry efekt
		dół	28	29					

Wnioski: Wymagania dobrego efektu właściwości antybakteryjnych zostały spełnione prze badane próbki, zarówno wobec badanych bakterii gram dodatnich jak i gram ujemnych, mykobakterii i bakterii opornych na antybiotyki

[popis]

T. Naqvi M.S. Microbiology, M (ASCP). Study Director