

**NACIONALINĖS VISUOMENĖS SVEIKATOS PRIEŽIŪROS LABORATORIJOS
MIKROBIOLOGINIŲ TYRIMŲ SKYRIUS**

Žolyno g. 36, LT-10210 Vilnius, tel. (8~5) 234 40 03, faksas (8~5) 210 54 05, El.paštas: priimamasis.zolyno@nvspl.lt

Puslapis 1 - 3

MIKROBIOLOGINIO TYRIMO PROTOKOLAS Nr. MA 2751 (MA 7471)/2020

20 20 m. birželio 29 d.

Užsakovas, adresas: **UAB "Livestra", Kaunas, Užnerio g. 52B**

[E]

Sutartis (pažymėkite X) ☒ nėra ☐ yra data 20 _____ Nr. _____

Telefonas: **867407243** El.paštas: **a.voitechovicius@gmail.com** Paėmimo akto-užsakymo Nr.: **V 4073**

Mėginių pristatymo data, laikas, mėginio temperatūra (jei reikia) **2020-05-19, 10.30 val.**

Užsakovo pateikta informacija:

Pristatyti mėginiai : **Nemaisto produktai, 1 mėgin.**

Mėginių atrinkimo vieta **Kaunas, Užnerio g. 52B**
ir dokumento žymuo _____

Mėginius atrinko: **Andžejus Voitechovičius** (objekto pavadinimas ir adresas) _____

Mėginių atrinkimo data, laikas, (įstaiga, skyrius, pareigos, vardas ir pavardė) _____
temperatūra, dokumento Nr.: **2020-05-19, 8.00 val., atrinkimo dok. nr.: MA 2751**

Mėginius pristatė **Andžejus Voitechovičius** (įstaiga, vardas ir pavardė) _____

Tyrimas pradėtas: **2020-05-27**

Tyrimų rezultatai:

Mėginio registravimo Nr.	Mėginio pavadinimas ir identifikavimas	Tyrimas atliktas pagal metodą	Ieškomi mikroorganizmai	Tyrimų rezultatai	±U
1	2	3	4	5	
MA 7471	15% gintaro eterinis aliejus 85% graikinio riešuto aliejus	LST EN ISO 11930:2019 (N)	Neutralizavimo Log veiksmingumo nustatymas su Candida albicans ATCC 10231	Neutralizavimas veiksmingas	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	Neutralizavimo Log veiksmingumo nustatymas su Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Neutralizavimas veiksmingas	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	Neutralizavimo Log veiksmingumo nustatymas su Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Neutralizavimas veiksmingas	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	Neutralizavimo Log veiksmingumo nustatymas su Staphylococcus aureus ATCC 6538	Neutralizavimas veiksmingas	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	Neutralizavimo Log veiksmingumo nustatymas su Escherichia coli ATCC 8739	Neutralizavimas veiksmingas	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	Candida albicans ATCC 10231 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 7 d.	R=5,4	

Mėginio registravimo Nr.	Mėginio pavadinimas ir identifikavimas	Tyrimas atliktas pagal metodą	Ieškomi mikroorganizmai	Tyrimų rezultatai	±U
1	2	3	4	5	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 14 d.	R=5,4	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 28 d.	R=5,4	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 14 d.	R=4,6	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 28 d.	R=4,6	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 7 d.	R=6,8	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 14 d.	R=6,8	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 28 d.	R=6,8	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 7 d.	R=6,7	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 14 d.	R=6,7	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 28 d.	R=6,7	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 7 d.	R=7,0	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 14 d.	R=7,0	
		LST EN ISO 11930:2019 (N)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 skaičiaus logaritminis sumažėjimas per 28 d.	R=7,0	

Papildomi duomenys, pastabos: *nenurodyta*

Mėginio registravimo Nr.	Mėginio pavadinimas ir identifikavimas	Tyrimas atliktas pagal metodą	Ieškomi mikroorganizmai	Tyrimų rezultatai	±U
1	2	3	4	5	

Tyrimų atlikimo data: **2020-06-29**

Tyrimus atliko: **medicinos mikrobiologė Jordana Šaleikienė**

(pareigos, vardas ir pavardė)

Tvirtinu: **Mikrobiologinių tyrimų skyriaus vedėjo pavaduotoja Vitalija Prašmutienė**

(pareigos, vardas ir pavardė, parašas)

Paiškinimai:	1. U - pateikta išplėstoji neapibrėžtis apskaičiuota standartinę neapibrėžtį padauginus iš aprėpties daugiklio k=2, kuri esant normaliam skirstiniui, atitinka 95% pasiklovimo lygį.
	2. Tyrimų rezultatai susiję tik su konkrečiais ištirtais mėginiais.
	3. N - neakredituotas metodas.
	4. Tyrimo protokolas ar jo dalys (priedai), negali būti dauginami be skyriaus ir (arba) poskyrio vedėjo sutikimo.
	5. Tyrimo protokolo perdavimo būdas [E]-el.paštu

Tiriamasis produktas: 15% gintaro eterinis aliejus 85% graikinio riešuto aliejus

Nuoroda: LST EN ISO 11930:2019 Kosmetikos gaminiai. Mikrobiologija. Kosmetikos gaminio antimikrobinės apsaugos įvertinimas.

Bandymui naudotos kultūros: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Metodas: giluminio sėjimo.

Terpė: Triptono sojos agaras (TSA)-bakterijoms, Saburo dekstrozės agaras (SABA)-mielėms, Bulvių dekstrozės agaras (BDA) – pelėsiams.

Bakterijų ir *Candida albicans* pradinės suspensijos skiediklis: 0,85% NaCl.

Pelėsių *Aspergillus brasiliensis* pradinės suspensijos skiediklis: polisorbato 80 tirpalas.

Tyrimo temperatūra: (22,5 ± 2,5)°C.

Inkubavimas: bakterijų ir mielių (32,5 ± 2,5)°C nuo 48 iki 72 val.; pelėsių (22,5 ± 2,5)°C nuo 3 iki 5 parų.

Kultūros paruošimas:

S. aureus, *E. coli* ir *P. aeruginosa* inkubuojamos (32,5 ± 2,5) °C 18 - 24 val. ant TSA(Triptono sojos agaras), *A. brasiliensis* (22,5 ± 2,5) °C 1 savaitė ant BDA (Bulvių dekstrozės agaras) ir *C. albicans* (32,5 ± 2,5) °C 18 - 24 val. ant SABA (Saburo agaras).

Suspensijos ruošimas: naudojamas tirpalas iš NaCl. Bakterijų kultūros skiedžiamos šiuo tirpalu iki 10⁸ ksv/ml koncentracijos, mielių ir pelėsių iki 10⁷ ksv/ml.

Mikroorganizmų koncentracija mėginyje: bakterijų 10⁵-10⁶ ksv/ml, mielių ir pelėsių 10⁴-10⁵ ksv/ml.

Neutralizavimo veiksmingumo įrodymas:

Mikroorganizmai	Validavimas N _{vf} log	Kontrolė N _{vn} log	Inokulianto kontrolė N _v log
	Vertinimas: N _{vf} ≥ 0,5 N _{vn}		Vertinimas: N _v ir N _{vn} turi būti artimi
<i>Candida albicans</i>	2,1	2,1	2,2
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,5	1,5	1,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,6	2,7	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,5	2,7	2,5
<i>Escherichia coli</i>	2,5	2,6	2,6

Mikroorganizmų suspensijos kontrolė:

Mikroorganizmai	N ksv/ml	N ₀ ksv/ml (N ₀ =N/100)
<i>Candida albicans</i>	2,4x10 ⁷	2,4x10 ⁵
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	4,3x10 ⁶	4,3x10 ⁴
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,7x10 ⁸	6,7x10 ⁶
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,0x10 ⁸	5,0x10 ⁶
<i>Escherichia coli</i>	9,9x10 ⁸	9,9x10 ⁶

Rezultatų vertinimas pagal A kriterijus R = N₀ – N_x (per T_x laiką)

Mikroorganizmai	N ₀ log (N ₀ =N/100)	Redukcija R = N ₀ – N _x (T laikų) log			Redukcija efektyvi/ neefektyvi
		T 7 ≥ 1	T 14 ≥ 1 ir NI	T 28 ≥ 1 ir NI	
<i>Candida albicans</i>	5,4	5,4 – 0 = 5,4	5,4 – 0 = 5,4	5,4 – 0 = 5,4	Efektyvu
			T 14 ≥ 0	T 28 ≥ 1 ir NI	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	4,6	neatliekama	4,6 – 0 = 4,6	4,6 – 0 = 4,6	Efektyvu
		T 7 ≥ 3	T 14 ≥ 3 ir NI	T 28 ≥ 3 ir NI	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,8	6,8 – 0 = 6,8	6,8 – 0 = 6,8	6,8 – 0 = 6,8	Efektyvu
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,7	6,8 – 0 = 6,7	6,8 – 0 = 6,7	6,8 – 0 = 6,7	Efektyvu
<i>Escherichia coli</i>	7,0	7,0 – 0 = 7,0	7,0 – 0 = 7,0	7,0 – 0 = 7,0	Efektyvu

Paaškinimai:

N_{vt} – neutralizavimo medžiagos ir kosmetinio mišinio kolonijų skaičius

N_{vm} – neutralizavimo medžiagos ir skiediklio mišinio kolonijų skaičius

N_v – inokulianto kontrolė

N_0 – mikroorganizmų skaičius inokuliotas nuliniame laike t_0

N_x – mikroorganizmų skaičius kiekvieno seimo metu t_x

NI – nėra skaičiaus padidėjimo nuo ankstesnio sąlyčio trukmės

N- kolonijas sudarančių vienetų skaičius 1 ml tiriamosios suspensijos. $N = C/(V \times d)$, kur

C- kolonijų, suskaičiuotų dviejose lėkštelėse, vidurkis,

V- inokulianto turis ml,

d- praskiedimo faktorius.

R- sumažėjimo vertė. $R = \log N_0 - \log N_x$

Išvada:

Kosmetikos produktas: 15% gintaro eterinis aliejus 85% graikinio riešuto aliejus pasižymi
antimikrobinio poveikio.

Tyrimas pradėtas: 2020-05-27

Tyrimas baigtas: 2020-06-29

Atsakingo asmens pareigos, v. pavardė, parašas

Medicinos mikrobiologė
Jana Šaleikienė

