

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
Федеральное бюджетное учреждение науки
«МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ.
Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО»

ИЛЦ включен в реестр органов сертификации и аккредитации
испытательных лабораторий (центров) Росаккредитации
Аттестат аккредитации № RA.RU.21АЖ72
от 09.02.2016г.

Адрес: 125212, г. Москва, улица Адмирала Макарова, дом 10
Тел.: +7 (495) 452-18-16, факс: +7 (495) 452-18-30

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ


по результатам изучения эффективности обеззараживания
поверхностей, контаминированных спорами клинического штамма
S. difficile, с применением Установки импульсной ультрафиолетовой
переносной для обеззараживания воздуха и поверхностей помещений
«Альфа-09»

*Наименование объекта исследования: Установка импульсная ультрафиолетовая
переносная для обеззараживания воздуха и поверхностей помещений "АЛЬФА-09"*

Производитель: ООО «Научно-Производственное Предприятие «МЕЛИТТА», Россия

Москва, 2018г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Врио директора ФБУН МНИИЭМ
им. Г.Н. Габричевского
Роспотребнадзора, д.б.н.


С.Ю. Комбарова
«17» декабря 2018 г.

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

по результатам изучения эффективности обеззараживания поверхностей,
контаминированных спорами клинического штамма
S. difficile, с применением Установки импульсной ультрафиолетовой переносной
для обеззараживания воздуха и поверхностей помещений «Альфа-09»

Цель испытаний: изучение активности импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра, генерируемого импульсной установкой «Альфа- 09», в отношении спор клинического штамма *C.difficile*.

Задача НИР: Определение эффективности обеззараживания открытых поверхностей, контаминированных спорами *Clostridium difficile*, импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра, генерируемым импульсной установкой «Альфа- 09».

Работы выполнены в соответствии с договором № 114 от 18.06.2018г.

Место и время проведения испытаний: ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, сентябрь-декабрь 2018 года.

Материалы и методы

Оборудование:

- Опытный образец Установки импульсной ультрафиолетовой переносной для обеззараживания воздуха и поверхностей помещений "Альфа-09" (далее установка «Альфа-09»).
- Анаэробная рабочая станция Bactron (Sheldon Manufacturing Inc., США)

Тест-поверхности: стерильные пластиковые чашки Петри одноразового использования.

Питательные среды:

- “Anaerobic Agar” (“Becton Dickinson”, США) с 7% (об/об) цельной бараньей крови
- “Clostridium difficile Agar Base” (“HiMedia Labs”, Индия)

Характеристика клинического штамма клостридий: клинический штамм *Clostridium difficile* 503/16 изолирован в ГНЦК от пациента с клинической картиной *Clostridium difficile* – ассоциированной инфекции. Споры овальные субтерминальные. Вегетативная форма ферментирует глюкозу, маннит, салицин, маннозу и мелцитозу, лактозы, сахарозы, мальтозы, не ферментирует ксилозу, арабинозу, глицерол, целлобиозу, раффинозу, сорбит, рамнозу, трегалозу; не продуцирует индол и уреазу, гидролизует желатин и эскулина. Штамм резистентный к метронидазолу, цефепиму, клиндамицину. Чувствителен к ванкомицину.

Идентификация и оценка чувствительности (резистентности) клинического штамма *Clostridium difficile* 503/16 к антибиотикам выполнена в Государственном Научном Центре Колопроктологии (зав. лабораторией, к.м.н. Сухина М.А.) с использованием тест-систем “API 20A”, “ATB ANA”(«bioMerieux», Франция). Также для идентификации

использовали определение белковых спектров с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Исследование чувствительности клинического штамма проводилось в соответствии с рекомендациями NCCLS/CLSI с определением МПК методом разведений в агаре (Бруцелла агар, Becton Dickinson, США) с добавлением гемина (5 мкг/мл), витамина K1 (1 мкг/мл) (Becton Dickinson, США) и лизированной бараньей крови (итоговая концентрация — 5 %).

Исследования эффективности импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра, генерируемого установкой «Альфа-09», проводили в соответствии с представленной ниже схемой эксперимента:

- 1) подготавливали вертикальную поверхность для крепления на них чашек Петри;
- 2) чашки Петри крепили на одной высоте с лампой установки «Альфа-09»;
- 3) установку располагали на расстоянии 2 м к подготовленной вертикальной поверхности;
- 4) включали установку в сеть;
- 5) в соответствии с руководством по эксплуатации нажимали кнопку включения и устанавливали требуемое время;
- 6) включали установку в режим генерации вспышек.

Методология исследования:

- получение биомассы *C. difficile*: культуру *C. difficile* засеивали по 100 мкл 1 McF на чашки Петри, использовали Селективный агар для *Clostridium difficile* (Oxoid), посевы инкубировали в анаэробной атмосфере (азот — 80%, водород — 5%, углекислый газ — 10%) при температуре 37⁰С в течение 48 часов, затем ещё 48-72 часа при 22⁰С;
- на 4-е и 6-е сутки инкубации при 22⁰С в анаэробной атмосфере культуру тестировали на интенсивность спорообразования. Она составила 96% в поле зрения от общего числа клеток (достаточное количество - не менее 90% спор в поле зрения от общего числа клеток);
- после завершения спорообразования культуру осторожно смывали с поверхности плотной питательной среды во флаконы со стерильным изотоническим раствором хлорида натрия,
- подвергали спорую культуру тепловому шоку, прогревая при температуре 90⁰С в течение 30 минут,
- готовили бактериальную взвесь плотностью 1 McF,
- проводили контроль количества спорных клеток в 1 McF при исследовании 10 полей зрения мазков, окрашенных по Ауэски (%) - получили 95% спорных клеток в поле зрения от общего количества клеток.
- наносили 100 мкл микробной взвеси на поверхность стерильной пластиковой чашки Петри, распределяли по поверхности и подсушивали.
- чашки крепили вертикально к стене на двойной скотч по линии воздействия УФИ на расстоянии 2 или 4 метра.
- облучали опытные чашки подвергали воздействию лампы на воздухе.

Перед началом облучения с чашек Петри, контаминированных спорной культурой, снимали крышки. После завершения времени воздействия УФ излучением

чашки немедленно помещались в анаэробную атмосферу, с их поверхности стерильными смывали изотоническим раствором содержимое в 1000 мкл. Далее титровали полученную взвесь до разведения -1, -2, -3 и засеивали по 100мкл из каждого разведения на питательную среду в чашки Петри диаметром 90мм. Посевы инкубировали в условиях бескислородной среды при температуре 37⁰С 24-48 часов. После инкубации подсчитывали количество колоний, выросших на каждой чашке Петри, и с помощью специальных формул рассчитывали количество клеток (спор) в 1мл плотностью 1 McF.

Исследования проводили в трёх повторностях для каждого временного режима, удаленности от облучателя и вида микроорганизмов (всего 24 точки).

Эффективность установки «Альфа-09» в отношении спор *C. difficile* (%) вычисляли по формуле: (среднее количество спор на контрольных чашках — среднее количество спор на опытных чашках): среднее количество спор на контрольных чашках x 100.

Для средств химической дезинфекции при обработке поверхностей помещений и объектов больничной среды принят критерий эффективности режимов применения 99,99% (4lg). Для изучаемого метода критерии эффективности профилактической и очаговой дезинфекций поверхностей не разработаны, но они не могут быть меньше указанного уровня.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Результаты изучения эффективности импульсного ультрафиолетового излучения, генерируемого установкой «Альфа-09», в отношении споровой формы клинического штамма *C.difficile*, нанесенной на вертикально ориентированные пластиковые тест-поверхности, расположенные на расстоянии 2-х метров от лампы установки при разном времени воздействия, представлены в таблице 1.

Таблица 2. Эффективность установки «Альфа-09» в отношении споровой формы клинического штамма *C.difficile* при разном времени воздействия на расстоянии 2 метра от источника облучения.

Время воздействия (мин)	Количество выживших спор, КОЕ/мл	Эффективность		
		%	lg	
Контроль, 0 мин	1.17·10 ⁹			
ОПЫТ	4 мин	1.05·10 ⁸	91,02	1,04
	8 мин	1.06·10 ⁷	99,09	2,04
	16 мин	2.27·10 ³	99,999	5,71
	30 мин	5	99,999999	8,37

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Результаты выполненных исследований показали, что импульсное ультрафиолетовое

излучение сплошного спектра, генерируемое установкой «Альфа-09», обладает выраженным спороцидным действием.

На расстоянии 2-х метров от установки «Альфа-09» споровые формы клинического штамма *C.difficile* были уничтожены импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра на 99.999% (5,7 lg) за 16 минут и на 99,999999% (8,37 lg) за 30 минут воздействия, что может быть сравнимо с эффективными режимами применения химических средств на основе надуксусной кислоты для достижения подобной целевой эффективности.

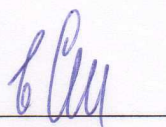
ВЫВОДЫ:

1. Экспериментально показана высокая эффективность импульсной ультрафиолетовой установки «Альфа-09», генерирующей ультрафиолетовое излучение сплошного спектра, при обеззараживании тест-поверхностей, контаминированных споровой формой клинического штамма *C.difficile*, который обладает высоким эпидемическим потенциалом.
2. Установлено, что эффективность обеззараживания поверхностей, контаминированных споровыми формами клинического штамма *C.difficile* и расположенных на расстоянии 2 метра от установки «Альфа-06», составляет более 99,99% за 16 минут работы установки.
3. Полученные в исследованиях уровни эффективности импульсной ультрафиолетовой установки «Альфа-09» соответствуют критериям эффективности, принятым для дезинфицирующих средств, применяемых в режиме дезинфекции поверхностей помещений и объектов больничной среды (99,99%) (Руководство Р 4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», М. 2011 г.)

Практические рекомендации для медицинских организаций.

1. Рекомендуется применять импульсную ультрафиолетовую установку «Альфа-09» при проведении комплекса дезинфекционных мероприятий для обеззараживания поверхностей от споровых форм клинических штаммов *C.Difficile* в структурных подразделениях медицинских организаций с высокими рисками возникновения и распространения клостридиальных инфекций. Основание – высокая эффективность (более 99,99% за 16 минут воздействия на расстоянии 2 метра от источника излучения).

Зав. лабораторией, д.м.н., проф.



Е.П. Селькова

Исполнители:

Врач-микробиолог, н.с.



М.П. Гусарова

Врач-микробиолог, н.с.

Н.В. Гудова

Старший лаборант

Т.С. Боронина