

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.21AJ72
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 импульсного УФ излучения
сплошного спектра, генерируемого установкой УИКб-01-«Альфа» в
отношении спор резистентного к антимикробным препаратам
клинического штамма *C.difficile*.

Наименование объекта исследования: установка УИКб-01-«Альфа»

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

Москва, 2016г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФБУН МНИИЭМ
им. Г.Н. Габричевского
Роспотребнадзора
Академик РАН, профессор
В.А. Алёшкин
«20» апреля 2016 г.



НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ
по результатам изучения эффективности импульсного УФ излучения
сплошного спектра, генерируемого установкой УИКБ-01-«Альфа», в
отношении спор резистентного к антимикробным препаратам
клинического штамма *C.difficile*.

Цель испытаний: изучение активности импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра, генерируемого импульсной установкой УИКБ-01-«Альфа», в отношении спор резистентного к антимикробным препаратам клинического штамма *C.difficile*.

Задачи НИР:

1. Исследование активности импульсного УФ излучения сплошного спектра в отношении спор клинического штамма *C.Difficile*
2. Определение режимов работы установки УИКБ-01-«Альфа» для обеззараживания помещений, потенциально контаминированных спорами клинических штаммов *Clostridium difficile*
3. Разработка практических (клинических) рекомендаций по обеззараживанию поверхностей, контаминированных спорами *Clostridium difficile*, в медицинских организациях.

Работы выполнены в соответствии с договором № 62 от 10.02.2015г.

Место и время проведения испытаний: ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, март-апрель 2016 года.

Материалы и методы

Оборудование:

- Установка импульсная ксеноновая УФ-бактерицидная для экстренной дезинфекции воздуха помещений 1 и 2 категории при отсутствии людей УИКБ-01-«Альфа» производство ООО «НПП «Мелитта», Россия (Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/06906 от 26.02.2010 г.; Сертификат соответствия ГОСТ Р № РОСС RU.ИМ04.В07590 по 08.03. 2013 г.); Облучение проводится при разном времени воздействия (2 мин, 4 мин, 8 мин, 16 минут) и расстоянии от источника излучения (2 и 4 метра).

- 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 объекта исследования: клинический штамм *Clostridium difficile* 503/16 изолированный от пациента с клинической картиной *Clostridium difficile* – ассоциированной инфекции.

Идентификация и оценка чувствительности (резистентности) к антибиотикам выполнялись с использованием тест-систем “API 20A”, “ATB ANA” («bioMérieux», Франция). Также для идентификации использовали определение белковых спектров с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Исследование чувствительности анаэробных бактерий 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 К1 (1 мкг/мл) (Becton Dickinson, США) и лизированной бараньей крови (итоговая концентрация — 5 %). Споры овальные субтерминальные, Ферментируют глюкозу, маннит, салицин, маннозу и меллицитозу, лактозы, сахарозы, мальтозы, не ферментируют ксилозу, арабинозу, глицерол, целлобиозу, раффинозу, сорбит, рамнозу, трегалозу; не продуцируют индол и уреазу, гидролизуют желатин и эскулин. Штамм резистентный к метронидазолу, цефепиму, клиндамицину. Чувствителен к ванкомицину.

Методология исследования:

- 1) получение биомассы *C. difficile*: культуру *C. difficile* засекали по 100мкл 1 McF на чашки Петри, использовали селективную питательную среду “Clostridium difficile Agar Base” (“HiMedia Labs”, Индия), посева 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;
- 2) 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);
- 3) после завершения спорообразования культуру осторожно смыли с поверхности плотной питательной среды во флаконы со стерильным изотоническим раствором хлорида натрия,
- 4) подвергли споровую культуру тепловому шоку, прогревая при температуре 75⁰С в течение 10 минут,
- 5) приготовили бактериальную взвесь плотностью 1 McF,
- 6) провели 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.
- 7) нанесли 100 мкл микробной взвеси на поверхность стерильной пластиковой чашки Петри, распределили по поверхности и подсушили.
- 8) чашки крепили вертикально к стене на двойной скотч по линии воздействия УФИ на расстоянии 2 или 4 метра.
- 9) опытные чашки подвергали воздействию лампы на воздухе, контрольные чашки в

течение того же времени не подвергались воздействию лампы, но находились в аэробных условиях.

Перед началом облучения с чашек Петри, контаминированных споровой культурой, снимали крышки. После завершения времени воздействия УФ излучением чашки немедленно помещались в анаэробную атмосферу, с их поверхности стерильными смывали изотоническим раствором содержаемое 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 часа. После инкубации подсчитывали количество колоний, выросших на каждой чашке Петри, и с помощью специальных формул рассчитывали количество клеток (спор) в 1мл плотностью 1 McF.

Эффективность УИКБ-01-«Альфа» 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.

Исследования проводили в трёх повторностях для каждого времени воздействия и расстояния от источника излучения. Для n=3 вычисляли среднее количество спор на контрольных чашках и число выживших спор на опытных чашках.

РЕЗУЛЬТАТА ИССЛЕДОВАНИЙ.

Результаты изучения эффективности импульсного ультрафиолетового излучения, генерируемого установкой УИКБ-01-«Альфа», в отношении споровой формы клинического штамма *C.difficile*, нанесенной на вертикально ориентированные пластиковые тест-поверхности, расположенные на расстоянии 2-х и 4-х метров от облучателя при разном времени воздействия, представлены в таблице 1.

Табл.1. Эффективность обеззараживания импульсным УФ излучением установки УИКБ-01-«Альфа» тест-поверхностей контаминированных спорowymi формами клинического штамма *C.difficile* при разном времени воздействия на расстоянии 2 и 4 метра от источника облучения.

	Время воздействия (мин)	Количество выживших спор (1мл, 1 McF)					
		2 метра			4 метра		
		КОЕ/мл	Эффективность		КОЕ/мл	Эффективность	
			%	Ig		%	Ig
СЭММТ	2	8,02E+03	93,84	1,21	-		
	4	2,01E+03	91,16	1,05	9,83E+04	91,06	1,05
	8	0,00E+00	100,00	4,31	3,87E+03	97,41	1,59
	16	0,00E+00	100,00	4,25	0,00E+00	100,00	4,08
КОМТ РОЛЬ	2	1,30E+05			-		
	4	2,28E+04			1,10E+06		

8	2,04E+04			1,50E+05		
16	1,79E+04			1,20E+04		

Примечание: $3,8 \times 10^8$ КОЕ/мл. 1МсF

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Результаты выполненных исследований показали, что импульсное ультрафиолетовое излучение сплошного спектра, генерируемое установкой УИКБ-01-«Альфа», обладает выраженным спороцидным действием. На расстоянии 2-х метров от источника излучения наблюдалось 100% эффективность в отношении спорных форм клинического штамма *C.difficile* после 8 минут воздействия. При увеличении расстояния от источника излучения до контаминированных поверхностей до 4-х метров время, необходимое для достижения 100% эффективности увеличивается до 16 минут.

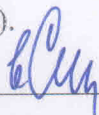
ВЫВОДЫ:

1. Экспериментально показана высокая активность импульсных ультрафиолетовых установок УИКБ-01-«Альфа» при обеззараживании вертикально ориентированных тест-поверхностей, контаминированных спорной формой клинического штамма *C.difficile*, который обладает высоким эпидемическим потенциалом.
2. Определен режим работы импульсных ультрафиолетовых установок УИКБ-01-«Альфа» обеспечивающий обеззараживание контаминированных спорами клинических штаммов *C.difficile* поверхностей с эффективностью более 99,99% ($\geq 4lg$) поверхностей и расположенных на расстояниях от 2 до 4 метров. Время облучения составляет 8 и 16 минут соответственно.
3. Полученные в исследованиях уровни эффективности импульсных ультрафиолетовых установок 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. Включать импульсные ультрафиолетовые установки УИКБ-01-«Альфа» в комплекс дезинфекционных мероприятий (профилактическая и очаговая дезинфекция поверхностей) в структурных подразделениях медицинских организаций с высокими рисками возникновения и распространения клостридиальных инфекций. Основание - высокая эффективность (более 99,99% за 16 минут и 8 минут воздействия на расстоянии 4 и 2 метра от источника излучения соответственно).

Зав. лабораторией, д.м.н., проф.



Селькова Е.П.

Исполнители:

Врач-микробиолог, н.с.



М.П. Гусарова

Лаборант –исследователь



Т.С. Боронина