

ПРОТОКОЛ ИСПЫТАНИЯ
к договору №0158-20/ИДкИ от 15.07.2020 г.
**ОЦЕНКА БАКТЕРИЦИДОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ УСТАНОВКИ
«РЕЦИРКУЛЯТОР БАКТЕРИЦИДНЫЙ ОТКРЫТОГО ТИПА»**

1. Исходные данные

Рециркулятор бактерицидный закрытого/открытого типа «НТЛ-Advansys-15U»

Производитель: ООО «Эйч Ти Эль –Авансис»

Изготовлен по ТУ 28.25.14-001-89695785-2020

Производительность 70 м³/час

Длина волны 253,7 нм

Источник УФ излучения 2х Лампа бактерицидная TUV 15Вт PHILIPS.

Работа прибора в режиме облучателя с функцией дополнительного облучения и рециркуляции воздушного потока в помещении:

Рекомендуемое время работы рециркулятора на помещение площадью равной 20м² составляет 15-90 минут.

1.1 Дата начала испытания: 20.07.2020 г.

1.2 Нормативный документ на метод испытания: Р 3.5.1904-04 «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях»

2. Условия проведения испытания

Испытание проводили в лаборатории микробиологии, в помещении для проведения бактериологических исследований заразной зоны. Объем помещения составляет 145 м³. На момент проведения испытания вентиляция в помещении была отключена. Температура воздуха составляла 23,5-24,0 °С относительная влажность воздуха составляла 53-61%. Установку включали в режиме облучателя с функцией дополнительного облучения и рециркуляции воздушного потока в помещении.

2.1 Приготовление питательных сред:

Питательные среды готовили из сухих сред промышленного производства в соответствии с указаниями производителя.

Для исследования использовали ГМФ-агар (ООО «НИЦФ», Россия, серия 320520, годен до 05.2023) и 0,9% физиологический раствор приготовленный из NaCl (АО «База №1 Химреактивов», Россия, партия 4, годен до 02.03.2023) с добавлением воды очищенной (установка «АКВАЛАБ» УВОИ-«МФ»-1812, Россия).

Стерилизацию среды и физиологического раствора осуществляли в автоклаве (стерилизатор паровой СПВА-75-1-НН (АО «Транс-Сигнал», Россия)) при температуре 121°C, 15 мин.

2.2 Тест-микрорганализм: *Staphylococcus aureus* ATCC6538-P

2.3 Приготовление культуры тест-микрорганализма:

За два дня до исследования тестовую культуру *S. aureus* пересеивали со среды хранения на скошенный питательный агар. На следующий день из полученной агаровой культуры готовили суспензию тестового штамма в стерильном 0,9% физиологическом растворе с концентрацией равной примерно 10^8 КОЕ/мл. Приблизительную концентрацию суспензии определяли с помощью денситометра, мутность суспензии составляла 0,5 McF. Далее из исходной суспензии готовили ряд десятикратных разведений в стерильном 0,9% физиологическом растворе. Из 4-ого и 5-ого разведений делали высевы по 100 мкл прямым поверхностным посевом на чашки Петри с ГМФ-агаром. Чашки с посевами инкубировали в термостате при $37\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 часов. На следующий день производили подсчет количества выросших колоний на чашках Петри из разведений для определения посевной дозы. Таким образом, было установлено, что из 100 мкл 5-ого разведения вырастает 264 колонии. Для получения концентрации равной примерно 100 КОЕ было решено использовать 50 мкл из 5-ого разведения.

3. Методика испытания

В пластмассовые чашки Петри $d = 90$ мм установленные в ламинарных боксах со строгой горизонтальной поверхностью разливали расплавленную питательную среду ГМФ-агар по 20 мл.

Далее подготавливали суспензию *S. aureus*. Из суточной культуры, выросшей на чашке Петри, делали ряд десятикратных разведений. Из 5-го разведения отбирали по 50 мкл на чашку Петри.

После застывания среды чашки Петри инокулировали суспензией *S. aureus*, с помощью шпателя Дригальского каплю равномерно распределяли по всей поверхности среды до ее полного высыхания.

После этого чашки Петри устанавливали на столе напротив установки рециркулятора бактерицидного (Рисунок 1).



Рисунок 1 – облучение инокулированных чашек Петри

Расстояние от чашек Петри до лампы составляло 1 м, 1,5 м и 2 м. Расстояние измеряли с помощью рулетки измерительной с ценой деления 1 мм (модель УМЗМ, «Fisco» Англия, поверка № 0110482 от 07.07.2021 г). Ширина стола составляет 1,2 м, таким образом, расстояние между чашками составляло 5 см. Чашки располагались слева-направо от меньшего времени экспозиции к большему.

После того, как все чашки Петри были установлены на столе, крышки с них снимали и включали прибор в режиме облучателя с функцией дополнительного облучения и рециркуляции воздушного потока в помещении. Время экспозиции чашек Петри составляло 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 минут. После сигнала установленного таймера на данные промежутки времени, чашки Петри закрывали крышками и убирали инкубироваться в термостат вместе с контрольными чашками Петри при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ в течение 24-48 часов.

В качестве контроля использовали чашки Петри не инокулированные *S. aureus* для контроля стерильности питательной среды. А также чашки Петри инокулированные *S. aureus*, но не подвергающиеся облучению.

4. Учет результатов

В связи с хорошим ростом колоний на чашках Петри через 24 часа после инкубации чашек был произведен подсчет выросших колоний в соответствии с рисунком 2.

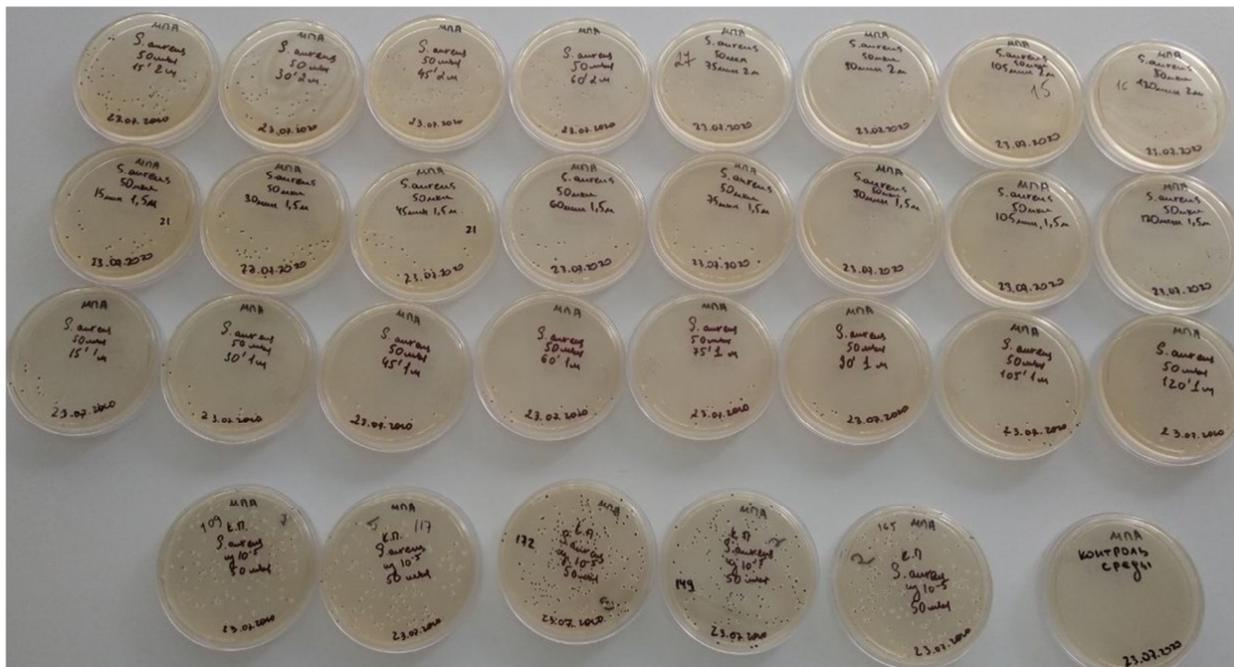


Рисунок 2 – подсчет количества выросших колоний на чашках Петри

Также чашки дополнительно оставляли инкубироваться еще на сутки, рост колоний полностью соответствовал результатам после 24 часов инкубации. Результаты количества выросших колоний представлены в таблице 1.

Таблица 1 – количество выросших колоний на чашках Петри

Расстояние от лампы, м	Время экспозиции, мин							
	15	30	45	60	75	90	105	120
1	17	14	10	9	7	6	8	10
1,5	21	27	21	14	13	11	13	11
2	38	35	31	18	27	17	15	16

Чашки Петри не инокулированные *S. aureus* подтвердили стерильность питательной среды. Чашки Петри инокулированные *S. aureus*, но не подвергающиеся облучению показали рост равный 142 колониям на чашку.

Для расчета бактерицидной эффективности производят определение микробной обсемененности агара, до и после облучения. Результативность облучения микроорганизмов или бактерицидная эффективность $J_{бк}$ оценивается в процентах как отношение числа погибших микроорганизмов ($N_{п}$) к их начальному числу до облучения ($N_{н}$) по формуле:

$$J_{бк} = (N_{п} / N_{н}) * 100\%$$

Таким образом, были получены следующие данные, представленные в таблице 2.

Таблица 2 – бактерицидная эффективность ($J_{бк}$), %

Расстояние от лампы, м	Время экспозиции, мин							
	15	30	45	60	75	90	105	120
1	88,0	90,1	93,0	93,7	95,1	95,8	94,4	93,0
1,5	85,2	81,0	85,2	90,1	90,8	92,3	90,8	92,3
2	73,2	75,4	78,2	87,3	81,0	88,0	89,4	88,7

Заключение:

В ходе данного исследования было установлено, что бактерицидная эффективность установки, работающей в режиме облучателя с функцией дополнительного облучения и рециркуляции воздушного потока в помещении составляет не менее 90% по *S. aureus* на расстоянии 1 м от облучателя при экспозиции равной 30 минут и более. На расстоянии 1,5 м от облучателя бактерицидная эффективность достигает не менее 90% при экспозиции равной 60 минут и более.

Дата окончания испытания: 28.07.2020 г.

Исполнители:

Микробиолог Никифорова Л.Р.

 28.07.2020

подпись, дата

Старший лаборант Салмова Ю.В.

 28.07.2020

подпись, дата

Руководитель лаборатории микробиологии
Боровкова К.Е.

 28.07.2020

подпись, дата