

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор НИИЭМИЗ МЗ РМЗ,
АБДУШУКУРОВ А.А.

« 15 » 2017 г.

ПРОТОКОЛ испытаний

Противобактериальной эффективности

«Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии»,
разработанной в ООО «New Medical Technologies»
Исследование №1,2,3,4,5.

Проведены испытания антибактериальной инактивирующей эффективности «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» (далее Установка), разработанной и созданной ООО «New Medical Technologies». Исследования при испытаниях Установка проводились в лаборатории Коллекции микроорганизмов при НИИЭМИЗ.

Цель проведения исследований:

1. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение сверху и снизу) 60 мин и 0,01% метиленовым синим на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.
2. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение сверху и снизу) 30 мин 0,00002 % и 0,005% метиленовым синим на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.
3. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение сверху и снизу) с 0,005% и 0,00002 % метиленовым синим на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.
4. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение только сверху) с 0,01 %, 0,005% и 0,00002 % метиленовым

синим на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.

5. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» с ультрафиолетовым облучателем (УФО) (облучение сверху и снизу) с 0,005% и 0,00002 % метиленовым синим на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.

В соответствии с поставленной задачей было отобрано 6 штаммов микроорганизмов из фонда Национальной коллекции микроорганизмов инфекций человека НИИЭМИЗ МЗ РУз.

Перечень культур бактерий с номерами штаммов и регистрационными номерами прилагаются (Приложения 1-5).

Для лабораторного исследования использовали:

2 культуры грамотрицательных бактерий (1 штамм *Pseudomonas aeruginosa*, 1 штамм *E. coli*);

2 культуры грамположительных бактерий (*Bacillus cereus* в вегетативной форме, *Staphylococcus aureus*);

1 культура споровой формы *Bacillus cereus*

1 культура дрожжеподобных грибов рода *Candida albicans*

Все культуры микроорганизмов идентифицированы в соответствии с общепринятыми рекомендациями и Определителем бактерий Берджи 8-9 издания 1984, 1997 гг.

Для исследования применяли суточную агаровую культуру бактерий, из которых перед опытом готовили суспензию бактерий на стерильном физиологическом растворе с концентрацией 0,5 по Мак Фарланду (10^8 микробных клеток на 1 мл).

Постановка опыта.

Исследования проведены в различных вариантах с использованием одинакового набора культур микроорганизмов с вариациями воздействия. Результаты представлены в Приложениях 1-5.

Количественный учет проводили по всем вариантам испытаний установки

Приготовленную взвесь исследуемых штаммов микроорганизмов вносили по 1,0 мл в лунки планшета для культур клеток. К опытным лункам добавляли по 1,0 мл 0,02% водного раствора метиленовой сини. Конечные концентрации в лунках составили: 0,01% метиленовой сини. В контрольных исследованиях, если по протоколу не использовался раствор метиленовой сини, добавляли стерильный изотонический раствор хлорида натрия (0,9% раствор NaCl-физ.раствор).

Готовили ряд десятикратных разведений тест-микроорганизмов в стерильном физиологическом растворе.

После соответствующего воздействия проводили высев на чашки Петри с пластинчатым агаром Мюллера Хинтона по 0,1 мл и в пробирки с 9,0 мл нейтрального бульона по 1,0 мл. Все посевы инкубировали в термостате при 37⁰ С 24 часа. Также были поставлены контроли ростовых качеств бактерий взятых в эксперимент.

Через 24 часа инкубации производили количественный учет полученных результатов. Перерасчет проводился с учетом посевной дозы и разведения. Результат количества микроорганизмов представлялся в КОЕ\мл (колониобразующие единицы на 1 мл).

Приложение 1

Результаты изучения антибактериальной эффективности
 «Установки для инаktivации вирусов на медицинском инструментарии»
 Исследование №1 - с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение сверху и снизу)
 60 мин и 0,01% метиленовым синим.

	Микроорганизмы	Контроль (Культура клеток)	Концентрация микроорганизмов, КОЕ\мл				0,01 метиленовый синий замачивания) + 660 нм сверху и снизу + УФО 60 минут	%
			660 нм сверху и снизу 60 мин	660 нм сверху и снизу + УФО 60 минут	0,01 метиленовый синий замачивания) + 660 нм сверху и снизу 60 мин	0,01 метиленовый синий замачивания) + 660 нм сверху и снизу + УФО 60 минут		
	Исх.конц.		% инаktivации	% инаktivации	% инаktivации	% инаktivации	% инаktivации	
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	8x10 ⁷	99,85%	99,90%	99,98%	99,97%	99,97%	
2	<i>E.coli</i> ATCC	10 ⁸	98,40%	99,0%	99,90%	99,25%	99,12%	
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	10 ⁷	92,50%	93,0%	99,15%	99,91%	98,84%	
4	<i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная)	2,5x10 ⁸	98,95%	99,00%	99,87%	99,91%	98,84%	
5	<i>Bacillus cereus</i> 24 (споровая)	2x10 ⁸	90,0%	90,45%	98,47%	98,84%	97,25%	
6	<i>Candida albicans</i> 10	10 ⁸	90,0%	90,25	95,90%	97,25%	97,25%	

Приложение 2

Результаты изучения антибактериальной эффективности

«Установки для инаktivации вирусов на медицинском инструментарии»

Исследование №2 - с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение сверху и снизу) 30 мин
0,00002 % и 0,005% метиленовым синим.

		Концентрация микроорганизмов, КОЕ/мл									
	Контроль (Культур а клеток)	660 нм сверху и снизу 30 мин	660 нм сверху и снизу УФО 30 мин	0,005 % метиленовы й синий (без замачивани я) + 660 нм сверху и снизу 30 мин	0,005 % метиленовы й синий +30 мин замачивани я + 660 нм сверху и снизу 30 мин	0,005 % метиленовы й синий +30 минут замачивани я + 660 нм сверху и снизу УФО 30 мин	0,00002 % метиленовы й синий (без замачивани я) + 660 нм сверху и снизу 30 мин	0,00002 % метиленовы й синий +30 мин замачивани я + 660 нм сверху и снизу 30 мин	0,00002 % метиленовы й синий +30 мин замачивани я + 660 нм сверху и снизу УФО 30 мин	0,00002 % метиленовы й синий +30 мин замачивани я + 660 нм сверху и снизу УФО 30 мин	
Микроорганиз мы	Исх.кон ц.	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	% инактиваци ии	
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	96,25%	96,85%	98,56%	96,9%	96,34%	96,12%	97,10%	96,22%	96,22%	
2	<i>E. coli</i> ATCC	92,40%	92,87%	94,90%	94,50%	94,23%	92,56%	93,60%	93,56%	93,56%	
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	93,24%	93,90%	95,88%	95,43%	95,77%	93,00%	93,78%	94,78%	94,78%	
4	<i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная)	95,34%	95,78%	97,89%	98,45%	98,67%	95,25%	97,29%	97,56%	97,56%	
5	<i>Bacillus cereus</i> 24 (споровая)	90,45%	90,90%	93,67%	92,57%	92,89%	90,78%	91,38%	92,10%	92,10%	
6	<i>Candida albicans</i> 10	90,23%	90,56%	92,60%	94,16%	94,83%	90,54%	90,90%	92,16%	92,16%	

Приложение 3

Результаты изучения антибактериальной эффективности

«Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии»

Исследование №3 - с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение сверху и снизу) 60 мин с 0,005% и 0,00002 % метиленовым синим.

		Концентрация микроорганизмов, КОЕ\мл					
	Контроль (Культура клеток)	0,005 % метиленовый синий (без замачивания) + времени (без замачивания) + облучение 660 нм сверху и снизу 60 мин.	0,005 % метиленовый синий (без замачивания) + облучение 660 нм сверху и снизу + (одновременно) УФО 60 мин.	0,00002 % метиленовый синий +60 мин облучения 660 нм сверху и снизу	0,00002 % метиленовый синий (без времени замачивания) + облучение 660 нм сверху и снизу + (одновременно) УФО 60 мин.		
Микроорганизмы	Исх.конц.	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	
1 <i>Staphylococcus aureus</i> АТСС	8x10 ⁷	99,24%	99,12%	99,20%	99,64%		
2 <i>E.coli</i> АТСС	7x10 ⁷	99,12%	99,10%	99,18%	99,35%		
3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> АТСС	7x10 ⁶	99,00%	99,16%	99,19%	99,32%		
4 <i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная)	5x10 ⁷	99,14%	99,42%	99,60%	99,67%		
5 <i>Bacillus cereus</i> 24 (споровая)	6x10 ⁶	98,00%	98,39%	98,27%	98,15%		
6 <i>Candida albicans</i> 10	10 ⁷	94,78%	94,98%	94,77%	96,25%		

Приложение 4

Результаты изучения антибактериальной эффективности для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» Исследование №4 - с монохроматическим облучателем длиной волны 660 нм (облучение только сверху) с 0,01 %, 0,005% и 0,00002 % метиленовым синим.

		Концентрация микроорганизмов, КОЕ\мл									
	Контроль (Культура клеток)	60 мин облучения 660 нм	660 нм + УФО 60 мин.	0,01 % МС (без замачивания) +60 мин 660 нм	0,01 % МС (без замачивания) + УФО 60 мин	0,01 % МС (без замачивания) +660 нм + УФО 60 мин.	0,005 % МС + (без замачивания) 60 мин 660 нм	0,005 % МС (без замачивания) +660 нм + УФО 60 мин	0,00002 % МС (без замачивания) + 660 нм у + УФО 60 мин.	0,00002 % МС +60 мин облучения 660 нм.	0,00002 % МС (без замачивания) + 660 нм у + УФО 60 мин.
Микроорганизмы	Исх.ко нц.	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации
1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8x10 ⁷	99,64%	99,81%	99,95%	96,9%	99,95%	99,56%	99,72%	99,22%	98,99%	
2 <i>E.coli</i> ATCC	10 ⁸	98,66%	99,24%	99,94%	94,50%	99,34%	99,16%	99,23%	99,10%	99,12%	
3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,5x10 ⁸	92,39%	93,33%	99,19%	95,43%	99,45%	99,30%	99,22%	99,00%	99,00%	
4 <i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная)	10 ⁸	98,88%	98,87%	99,91%	98,45%	99,99%	99,24%	99,50%	99,20%	99,34%	
5 <i>Bacillus cereus</i> 24 (спорная)	10 ⁷	90,34%	90,235%	98,52%	94,57%	98,56%	98,80%	98,44%	98,14%	98,67%	
6 <i>Candida albicans</i> 10	8x10 ⁷	90,27%	90,67%	95,94%	95,16%	97,17%	94,59%	94,95%	94,89%	96,70%	

Результаты изучения антибактериальной эффективности

«Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии»

Исследование №5 - с ультрафиолетовым облучателем (УФО) (облучение сверху и снизу) с 0,005% и 0,00002 % метиленовым синим.

		Концентрация микроорганизмов, КОЕ\мл					
	Контроль (Культура клеток)	0,005 % метиленовый синий (без времени замачивания) облучение УФО снизу и сверху 60 мин	0,00002 % метиленовый синий (без времени замачивания) облучение УФО снизу и сверху 60мин	0,005 % метиленовый синий (без времени замачивания) облучение УФО снизу и сверху 30 мин	0,00002 % метиленовый синий (30 мин замачивания) облучение УФО снизу и сверху 30 мин		
	Микроорганизмы	Исх.конц.	% инактивации	% инактивации	% инактивации	% инактивации	
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	5×10^7	94,75%	92,20%	93,25%	92,76%	
2	<i>E.coli</i> ATCC	10^8	91,70%	90,0%	90,80%	90,54%	
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	2×10^8	88,90%	65,0%	75,88%	70,60%	
4	<i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная)	2×10^7	96,75%	80,78%	88,98%	84,26%	
5	<i>Bacillus cereus</i> 24 (споровая)	10^8	89,0%	57,45%	79,45%	59,98%	
6	<i>Candida albicans</i> 10	10^7	90,0%	90,25%	92,25%	91,77%	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено.

Полученные результаты относятся к конкретным музейным штаммам микроорганизмов в чистой культуре в конкретных экспериментальных исследованиях по заданным параметрам.

Наибольшая инактивирующая активность отмечена в технологии воздействия:

1. 0,01 % метиленовый синий (без замачивания) + 660 нм сверху и снизу 60 мин
2. 0,01 % метиленовый синий (без замачивания) + 660 нм сверху и снизу + УФО 60 минут

По протоколу «УФ-излучение» - инаktivация микроорганизмов низкая.

По протоколу «воздействие монохроматического излучателя с длиной волны в 660 nm 60 минут» получен наиболее выраженный инактивирующий эффект в целом на все группы тестируемых микроорганизмов.

Для грамположительных вегетативных форм бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC, *Bacillus cereus* 24 (вегетативная) получена наивысшая степень инаktivации.

Грамотрицательные микроорганизмы, споровая форма, дрожжеподобные грибы рода кандиды проявили низкую инаktivацию по сравнению с грамположительными бактериями.

Исполнители:

Старший научный сотрудник НИИЭМИЗ,
к.м.н.

А.М.-Т. Бектимиров

Младший научный сотрудник НИИЭМИЗ

И.Ф.Ахмедов

Лаборант

Д.Тухтабекова

Лаборант

Н.Б.Пулатова