

«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор НИИЭМИЗ МЗ РУз,  
АБДУШУКУРОВ А.А.  
« 26 \_\_\_\_\_ 2017 г.



## ПРОТОКОЛ испытаний

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

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 излучателем с длиной волны в 660 nm на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.
2. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» воздействием УФ-излучения на жизнеспособность бактерий, вызывающих заболевания у человека.
3. Оценить инактивирующую эффективность на тестовые штаммы бактерий «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии» воздействием монохроматическим излучателем с длиной волны в 660 nm + метиленовый синий в течение 90 минут 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 (Приложение 1,2,3).

Для лабораторного исследования использовали:

2 культуры грамотрицательных бактерий (1 штамм *Pseudomonus 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 7 вариантах с использованием одинакового набора культур микроорганизмов с вариациями воздействия. Результаты представлены в Приложениях 1,2,3.

Количественный учет проводили по всем вариантам:

#### **1. Схема испытаний эффективности Установки для инактивации вирусов с облучателем монохроматическим длиной волны 660 нм**

1. Контроль (культура клеток)
2. Культура клеток (без метиленовой сини) + 30 мин облучения 660 нм сверху и снизу
3. Культура клеток + метиленовый синий (без времени замачивания) + 30 мин облучения 660 нм сверху и снизу
4. Культура клеток + метиленовый синий + 30 мин замачивания без облучения
5. Культура клеток + метиленовый синий + 30 мин замачивания + 30 мин облучения 660 нм сверху и снизу
6. Культура клеток + метиленовый синий + 30 мин замачивания + 15 мин облучения 660 нм сверху и снизу
7. Культура клеток + метиленовый синий + 15 мин замачивания + 30 мин облучения 660 нм сверху и снизу

#### **2. Схема испытаний эффективности Установки для инактивации вирусов с ультрафиолетовым облучателем**

1. Контроль (культура клеток)

2. Культура клеток (без метиленовой сини) + 30 мин облучения ультрафиолетовым облучателем сверху и снизу
3. Культура клеток + метиленовый синий + 30 мин замачивания без облучения
4. Культура клеток + метиленовый синий + 30 мин замачивания + 30 мин облучения ультрафиолетовым облучателем сверху и снизу
5. Культура клеток + метиленовый синий + 30 мин замачивания + 15 мин облучения ультрафиолетовым облучателем сверху и снизу
6. Культура клеток + метиленовый синий + 15 мин замачивания + 30 мин облучения ультрафиолетовым облучателем сверху и снизу
7. Культура клеток + метиленовый синий (без времени замачивания) + 3 мин облучения ультрафиолетовым облучателем сверху и снизу

### **3. Схема испытаний эффективности Установки для инактивации вирусов с облучателем монохроматическим длиной волны 660 нм**

1. Контроль (культура клеток)
2. Культура клеток (без метиленовой сини) + 90 мин облучения 660 нм сверху
3. Культура клеток + метиленовый синий (без времени замачивания) + 90 мин облучения 660 нм сверху

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 высеивание 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 посеивания инкубировали в термостате при 37<sup>0</sup> 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 (колониеобразующие единицы на 1 мл).

Приложение 1b

Результаты изучения антибактериальной эффективности  
 «Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии»  
 Исследование №1 - монохроматический излучатель с длиной волны в 660 nm сверху и снизу

|   |  | Концентрация микроорганизмов, КОЕ\мл |                                      |  |   |   |   |  |
|---|--|--------------------------------------|--------------------------------------|--|---|---|---|--|
|   |  | 2.                                   | 3.                                   | 4.   | 5.  | 6.  | 7.  |  |
|   |  | 30 мин облучения                     | метиленовый синий + 30 мин облучения | метиленовый синий + 30 мин замачивания без облучения | метиленовый синий + 30 мин замачивания + 30 мин облучения | метиленовый синий + 30 мин замачивания + 15 мин облучения | метиленовый синий + 15 мин замачивания + 30 мин облучения |  |
|   | Микроорганизмы                           | % инактивации                        | % инактивации                        | % инактивации  | % инактивации   | % инактивации   | % инактивации   |  |
| 1 | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC        | 85,0%                                | 99,85%                               | 92,20%   | 99,98%  | 99,46%  | 99,99%  |  |
| 2 | <i>E.coli</i> ATCC                       | 84,0%                                | 98,40%                               | 90,0%  | 99,90%  | 99,25%  | 99,60%  |  |
| 3 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC       | 64,26%                               | 92,50%                               | 65,0%  | 99,75%  | 99,12%  | 99,45%  |  |
| 4 | <i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная) | 80,0%                                | 98,95%                               | 80,78%   | 99,97%  | 99,87%  | 99,92%  |  |
| 5 | <i>Bacillus cereus</i> 24 (спорная)      | 45,78%                               | 90,0%                                | 57,45%   | 99,87%  | 99,34%  | 99,57%  |  |
| 6 | <i>Candida albicans</i> 10               | 88,0                                 | 90,0%                                | 90,25  | 99,90%  | 99,25%  | 99,92%  |  |

Приложение 2b

Результаты изучения антибактериальной эффективности  
«Установки для инактивации вирусов на медицинском инструментарии»  
Исследование №2, УФ-излучение сверху и снизу

|  |                              | Концентрация микроорганизмов, КОЕ\мл  |   |   |   |   |                  |  |
|--|------------------------------|---|---|---|---|---|------------------|--|
|  | 2.<br>30<br>мин<br>облучения | 3.<br>метиленовый<br>синий<br>+<br>30<br>мин<br>замачивания<br>без<br>облучения | 4<br>метиленовый<br>синий<br>+<br>30<br>мин<br>замачивания<br>+<br>30<br>мин<br>облучения | 5<br>метиленовый<br>синий<br>+<br>30<br>мин<br>замачивания<br>+<br>15<br>мин<br>облучения | 6<br>метиленовый<br>синий<br>+<br>15<br>мин<br>замачивания<br>+<br>30<br>мин<br>облучения | 7<br>метиленовый<br>синий<br>+<br>3<br>мин<br>облучения |                  |  |
| Микроорганизмы                             | %<br>инактивации             | %<br>инактивации  | %<br>инактивации  | %<br>инактивации  | %<br>инактивации  | %<br>инактивации  | %<br>инактивации |  |
| 1 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC        | 82,30%                       | 92,47%  | 94,28%  | 92,66%  | 96,9%   | 77,98%  |                  |  |
| 2 <i>E.coli</i> ATCC                       | 83,0%                        | 90,10%  | 92,45%  | 91,15%  | 94,50%  | 77,0%   |                  |  |
| 3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC       | 76,20%                       | 65,22%  | 90,15%  | 79,34%  | 95,43%  | 71,9%   |                  |  |
| 4 <i>Bacillus cereus</i> 24 (вегетативная) | 79,20%                       | 80,68%  | 96,47%  | 89,47%  | 98,45%  | 72,87%  |                  |  |
| 5 <i>Bacillus cereus</i> 24 (споровая)     | 52,16%                       | 56,05%  | 91,69%  | 90,74%  | 94,57%  | 54,27%  |                  |  |
| 6 <i>Candida albicans</i> 10               | 90,20%                       | 89,95%  | 92,40%  | 91,25%  | 95,16%  | 88,9%   |                  |  |

## Приложение 3b

### Результаты изучения антибактериальной эффективности «Установки для инаktivации вирусов на медицинском инструментарии»

Исследование №3, воздействие монохроматического излучателя с длиной волны в 660 нм сверху 90 минут

| № п/п | Микроорганизмы                              | Культура клеток<br>(без метиленовой сини)<br>+ 90 мин облучения 660 нм сверху | Культура клеток<br>+ метиленовой сини<br>(без времени замачивания)<br>+ 90 мин облучения 660 нм сверху |
|-------|---|---|--|
|       |   | % инаktivации   | % инаktivации  |
| 1     | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC           | 96,0%   | 100%   |
| 2     | <i>E.coli</i> ATCC                          | 92,45%  | 99,99%   |
| 3     | <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC       | 64,0%   | 99,98%   |
| 4     | <i>Bacillus cereus</i> 24<br>(вегетативная) | 90,0%   | 100%   |
| 5     | <i>Bacillus cereus</i> 24 (споровая)        | 50,0%   | 99,96%   |
| 6     | <i>Candida albicans</i> 10                  | 90,45%  | 99,96%   |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено.

Необходимо подчеркнуть, что 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:

По протоколу «Исследование №1 монохроматический излучатель с длиной волны в 660 nm сверху и снизу» - 7. метиленовый синий + 15 мин замачивания + 30 мин облучения; 5. метиленовый синий + 30 мин замачивания + 30 мин облучения; 3. метиленовый синий + 30 мин облучения

По протоколу «Исследование №2, УФ-излучение сверху и снизу» - инаktivация микроорганизмов низкая и достигает величин максимально в пределах 96 %

По протоколу «Исследование №3, воздействие монохроматического излучателя с длиной волны в 660 nm сверху 90 минут» получен наиболее выраженный инактивирующий эффект до 99,96 - 100% в целом на все группы тестируемых микроорганизмов. Для грамположительных вегетативных форм бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC, *Bacillus cereus* 24 (вегетативная) получена в данной серии экспериментов 100% инаktivация.

Необходимо подчеркнуть, что полученные результаты относятся к конкретным музейным штаммам микроорганизмов в чистой культуре в конкретных экспериментальных исследованиях по заданным параметрам.

### Исполнители:

Старший научный сотрудник НИИЭМИЗ,  
к.м.н.



А.М.-Т. Бектимиров

Младший научный сотрудник НИИЭМИЗ



И.Ф.Ахмедов

Младший научный сотрудник НИИЭМИЗ



М.К. Ташпулатова