

Исследование бактерицидной эффективности обеззараживания воздуха и открытых поверхностей импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра

Н. В. Шестопалов, д.м.н., проф., директор¹

В. Г. Акимкин, д.м.н., проф., акад. РАН, зам. директора по научной работе¹

Л. С. Федорова, д.м.н., проф., зав. лабораторией проблем дезинфекции¹

А. Ю. Скопин, к.м.н., вед. научный сотрудник лаборатории проблем дезинфекции¹

Я. А. Гольдштейн, ген. директор²

А. А. Голубцов, д.м.н., нач. отдела маркетинга²

С. Г. Киреев, нач. научно-исследовательской лаборатории²

Н. А. Поликарпов, к.б.н., консультант²

С. Г. Шашковский, к.т.н., зам. ген. директора, гл. конструктор²

¹ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора, г. Москва

²ООО «Научно-Производственное Предприятие «Мелитта», г. Москва

Research of germicidal efficiency of air and open surfaces disinfection by pulsed ultraviolet light of continuous spectrum

N. V. Shestopalov, V. G. Akimkin, L. S. Fyodorova, A. Yu. Skopin, Y. A. Goldstein, A. A. Golubtsov, S. G. Kireev, N. A. Polikarpov, S. G. Shashkovsky
Scientific and Research Institute for Disinfectology, Scientific and Industrial Enterprise 'Melitta', Ltd.; Moscow, Russia

Резюме

Представлены результаты экспериментальных исследований бактерицидной эффективности обеззараживания воздуха и открытых поверхностей импульсным УФ-излучением сплошного спектра в отношении тест-микроорганизма золотистого стафилококка. Определены бактерицидные дозы для обеззараживания объектов с эффективностью от 90,0 до 99,99%. Показано слабое влияние материала поверхностей (пластик, металл и кафель) и органических загрязнителей на эффективность обеззараживания.

Ключевые слова: ультрафиолетовое излучение, эффективность обеззараживания, бактерицидная доза, импульс, сплошной спектр.

Summary

The study presents experimental data on germicidal efficiency of air and open surfaces disinfection by pulsed UV light of continuous spectrum with respect to *Staphylococcus aureus*. Bactericidal doses for objects disinfection with 90.0–99.99% efficiency are determined. Weak influence of surface material (plastic, metal and tile) and organic load on disinfection efficiency is demonstrated.

Key words: ultraviolet light, decontamination efficiency, bactericidal dose, pulse, continuous spectrum.

Введение

Рост числа заболеваний, вызванных инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП), заставляет медицинскую общественность уделять пристальное внимание мерам по контролю за их возникновением, распространением и ликвидацией в медицинских организациях. Согласно данным американского Центра по контролю и предотвращению распространения заболеваний (CDC), опубликованным в 2014 году и известным как «Исследование распространенности HAI», сообщалось, что в 2011 году в 183 отобранных госпиталях США, оказывающих скорую неотложную помощь, были зарегистрированы 722 тысячи случаев HAI (Healthcare Associated Infections). Кроме того, около 75 тысяч пациентов с HAI умерли во время госпитализации [1].

Одной из основных причин этого является недостаточная эффективность традиционных методов дезинфекции, которые, как правило, являются трудоемкими, низкоэкологичными и значительно зависят от негативного влияния человеческого фактора. По данным [2], только 50% поверхностей обрабатываются согласно существующим требованиям и нормам.

Такая тенденция актуализирует создание новых технологий обеззараживания помещений, обеспечивающих высокие степени биоцидной эффективности при одновременном снижении токсичности, длительности и трудоемкости дезинфекционных мероприятий. В первую очередь активно развиваются дезинфекционные технологии, максимально исключая участие в обработке помещения человека — аэрозольные и ультрафиолетовые.

Инновационным методом, развивающимся в последние два десятилетия, является импульсная УФ-технология, основанная на облучении воздуха и поверхностей помещений высокоинтенсивным УФ-излучением сплошного спектра и активно развивающаяся в США, России и Европе. Во всех обеззараживающих устройствах, работающих на этой технологии, в качестве источника УФ-излучения применяются импульсные ксеноновые лампы [3]. Высокая интенсивность (в сотни раз превышающая самые мощные бактерицидные установки с ртутными лампами низкого давления) и сплошной спектр УФ-излучения (от 200 до 400 нм) оказывают многоканальное деструктивное действие на все основные структуры клетки (ДНК, РНК, мембраны, белки и др.) [4–8],

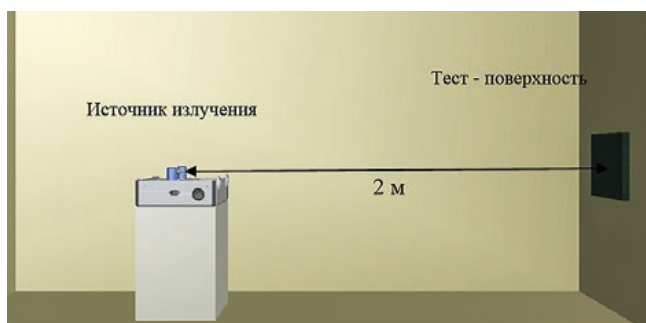


Рисунок 1. Схема обеззараживания тест-поверхностей, загрязненных *S. aureus*, импульсной установкой «Альфа-05».

что неизбежно приводит к изменению бактерицидных доз, полученных для монохроматического излучения ртутных ламп низкого давления.

Многочисленные микробиологические и эпидемиологические исследования демонстрируют высокую биоцидную эффективность импульсного УФ-излучения сплошного спектра ксеноновых ламп [9–12]. Как правило, значение эффективности обеззараживания приводится в отношении различных микроорганизмов в зависимости от времени облучения тест-объектов, расположенных на различных расстояниях. При этом световой поток применяемых в испытываемых установках или исследовательских стендах импульсных ламп приводится в различных спектральных интервалах и при различных режимах их работы. Учитывая, что наиболее сильный бактерицидный эффект наблюдается в области спектра от 200 до 300 нм, то и дозы следует указывать в данном спектральном интервале независимо от спектрально-яркостных характеристик импульсных ламп.

Определение конкретных величин бактерицидных доз для импульсного УФ-излучения широкого спектра для разных видов микроорганизмов позволит: а) обоснованно разрабатывать режимы облучения для импульсных УФ-установок различных моделей и производителей, б) обеспечивать заданную эффективность обеззараживания помещений, в) минимизировать время обработки помещения, а в итоге организовывать и проводить дезинфекционные мероприятия на основе принципов доказательной медицины.

Работа посвящена определению бактерицидных доз импульсного УФ-излучения сплошного спектра, обеспечивающих эффективность от 90,00 до 99,99 % и выше обеззараживания открытых поверхностей и воздуха, загрязненных бактериями *S. aureus*.

Материалы и методы

Исследование эффективности обеззараживания воздуха и открытых поверхностей проводили по методикам, изложенным в руководстве Р 4.2.2643–10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» на экспериментальной базе НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора.

В качестве тест-микроорганизма был использован мутный штамм золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*, шт. 906) из коллекции НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора, которым искусственно загрязняли воздух помещения и тест-поверхности.

При исследовании эффективности обеззараживания

воздуха генератором аэрозоля создавалась микробная взвесь, равномерно распределенная по объему помещения при помощи вентилятора. Предварительно серией экспериментов была подтверждена стабильность поддержания контаминации воздушной взвеси в течение всего эксперимента. Исходная контаминация воздушного объема составила $1,46\text{--}4,8 \times 10^5$ КОЕ/м³. Отбор проб воздушной среды проводился путем прокачивания воздуха с помощью аспиратора через склянки Дрекслера со стерильной водопроводной водой, которую впоследствии мерно наносили на чашки Петри и заливали 10 мл расплавленного и остуженного до 45 °С мясо-пептонного агара. В качестве контроля выступали аналогичные измерения, полученные без облучения воздушного объема импульсными потоками УФ-излучения. Установка располагалась по центру боксированного помещения объемом ≈ 30 м³ (длина 3,1 м, ширина 2,4 м, высота 4,0 м) и включалась в режим излучения от 1,5 минуты до 5 минут 6 секунд.

При исследовании эффективности обеззараживания поверхностей тест-микроорганизм наносился на следующие типы материала: пластик (чашки Петри однократного применения диаметром 85 мм), металл (металлические пластины размером 50 × 50 мм, изготовленные из нержавеющей стали), кафель (пластины размером 50 × 50 мм, изготовленные из кафельной плитки).

Влияние на эффективность обеззараживания органических загрязнений на облучаемых поверхностях исследовалось путем дополнительного нанесения на предварительно загрязненной пластиковую поверхность 40-процентной инактивированной сыворотки, имитирующей ее загрязнение.

Все исследуемые тест-объекты облучались импульсным УФ-излучением с расстояния 2 м. Установка располагалась таким образом, чтобы исключить влияние отражающей поверхности на величину бактерицидного потока на облучаемой поверхности (рис. 1).

Тест-поверхности загрязнялись суспензией с исходным уровнем контаминации до $2,0 \times 10^7$ КОЕ/см². На поверхность образцов микропипеткой наносили по 0,25 мл данной суспензии, которую равномерно распределяли при помощи шпателя и подсушивали в термостате. Среднее количество микроорганизмов на контрольных (необлученных) образцах из пластика составляло $1,0 \times 10^6$ КОЕ/см², металла — $3,7 \times 10^5$ КОЕ/см², кафеля — $2,77 \times 10^4$ КОЕ/см². Полученные тест-образцы подвергали УФ-облучению с экспозициями от 1 до 32 минут. После опыта в облученные и контрольные образцы из пластика (одноразовые чашки Петри) наносили 10 мл стерильной воды, при помощи шпателя производили смыв микробных клеток с поверхностей и их равномерное распределение в смывной жидкости. Затем в чашки Петри заливали 10 мл расплавленного и остуженного до 45 °С мясо-пептонного агара. Исследованию подвергались две группы контрольных поверхностей. Смыв микроорганизмов с одной группы контрольных поверхностей производился до начала эксперимента (без подсушивания суспензии), с другой — после окончания эксперимента (через три часа). Общее количество микроорганизмов в смывах с контрольных поверхностей учитывалось как среднее до и после эксперимента. Все эксперименты проводились в трех повторностях.

Результаты учитывали после инкубации при температуре 37 ± 1 °С в течение 24–48 часов.

В качестве источника импульсного УФ-излучения сплошного спектра использовалась серийно выпускаемая «Установка импульсная ультрафиолетовая с дистанционным пультом управления и автоматической установкой времени работы для обеззараживания воздуха помещений 1–5-й категорий объемом до 75 м³ в отсутствие людей „Альфа-05“» (далее «Альфа-05»), предназначенная для обеззараживания воздуха в помещениях различного назначения в профилактических целях, а также при чрезвычайных ситуациях эпидемического характера. Установка «Альфа-05» генерировала световые вспышки с частотой 3,3 Гц. Средняя электрическая мощность импульсной ксеноновой лампы составляла 200 Вт.

Для измерения радиационных характеристик установка располагалась на расстоянии 2,5 м от приемников излучения таким образом, чтобы угол падения излучения на фоточувствительную площадку составлял 90 градусов. Излучаемые характеристики ксеноновой лампы регистрировались с помощью калиброванного фотоэлектрического приемника излучения UV Sensor TOCON-probe и спектрометра AvaSpec-ULS 2048-USB 2. Датчик UV Sensor TOCON-probe состоит из ультрафиолетового фотодиода со светофильтрами, чувствительного в бактерицидной области спектра 230–280 нм и обладающего временным разрешением 10–20 нс, а также встроенного усилителя с интегрирующей RC-цепочкой. Постоянная интегрирования соответствовала требованиям превышения над длительностью импульса и составляла ≈30 мс. Энергия излучения вычислялась путем интегрирования сигнала, регистрируемого спектрометром, с учетом относительной спектральной и абсолютной вольтовой чувствительности фотоприемника UV Sensor TOCON-probe. Полученное спектрально-энергетическое распределение установки «Альфа-05» приведено на рис. 2.

Энергия излучения в бактерицидном диапазоне 200–300 нм в одном импульсе составила 2,5 Дж.

Результаты исследований

Результаты исследования эффективности обеззараживания воздуха, загрязненного *S. aureus*, импульсной УФ-установкой «Альфа-05» приведены в табл. 1.

Объемные бактерицидные дозы для обеззараживания воздуха с эффективностью 90% составляют 14 Дж/м³, а для эффективности 99,9% — 47,5 Дж/м³. Стопроцентный эффект достигается уже при экспозициях 5 минут 6 секунд.

С учетом 30-процентного запаса, требуемого для компенсации влияния различных факторов (формы помещения, влияние габаритов помещения, снижение бактерицидного потока лампы в процессе эксплуатации), производительность установки «Альфа-05» при эффективности 99,9% составляет 500 м³ в час, при эффективности 99% — 750 м³ в час.

Пересчет полученных данных с учетом распределения интенсивности излучения в пространстве [13] и численное интегрирование эффективности обеззараживания по объему по формуле Симпсона дает эквивалентные поверхностные дозы в бактерицидном диапазоне $D_{90} \approx 6,5$ Дж/м² для экспозиции 1 минута 31 секунда и $D_{90} \approx 7,4$ Дж/м² для 3 минут 3 секунд.

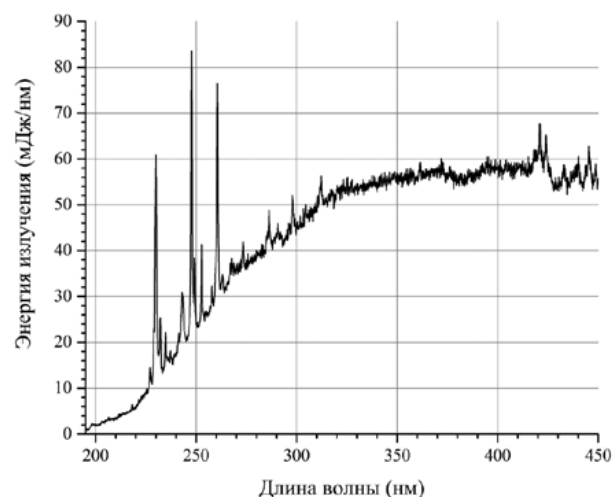


Рисунок 2. Спектр излучения импульсной ксеноновой лампы установки «Альфа-05».

Таблица 1
Эффективность обеззараживания воздуха, загрязненного *S. aureus*, импульсной УФ-установкой «Альфа-05»

Объем экспериментального бокса, м ³	Время облучения	Контроль, КОЕ/м ³	Опыт, КОЕ/м ³	Эффективность	
				%	Ig
30	5 мин. 6 с	$4,8 \times 10^5$	0	100	5,6
	3 мин. 3 с	$1,46 \times 10^5$	80	99,95	3,2
	1 мин. 31 с	$1,63 \times 10^5$	$2,4 \times 10^3$	98,5	1,8

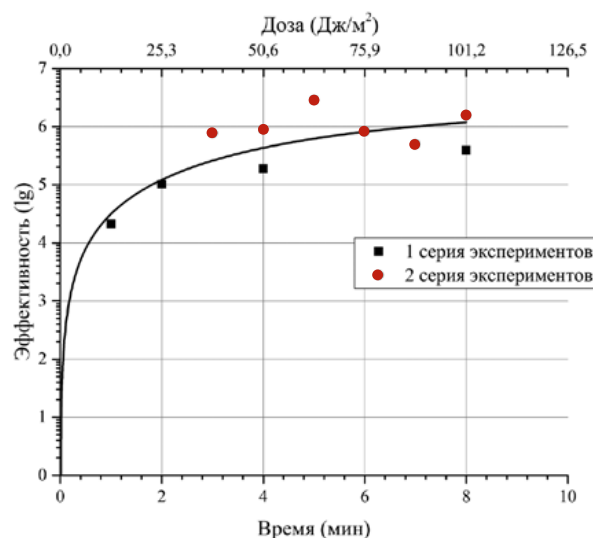


Рисунок 3. Эффективность обеззараживания пластиковых тест-объектов при различных экспозициях их облучения импульсным УФ-излучением ксеноновой лампы установки «Альфа-05».

Исследования эффективности обеззараживания пластмассовых тест-объектов импульсным УФ-излучением сплошного спектра проводились с использованием чашек Петри однократного применения в двух сериях (рис. 3).

На рис. 3 представлена кривая выживаемости, построенная по двум сериям экспериментов. Кривая выживаемости имеет характерный двухкомпонентный вид. Эффективность обеззараживания 99,99% достигается даже за 1 минуту облучения с расстояния 2 м. В условиях линейно-логарифмического приближения доза D_{90} , рассчитанная

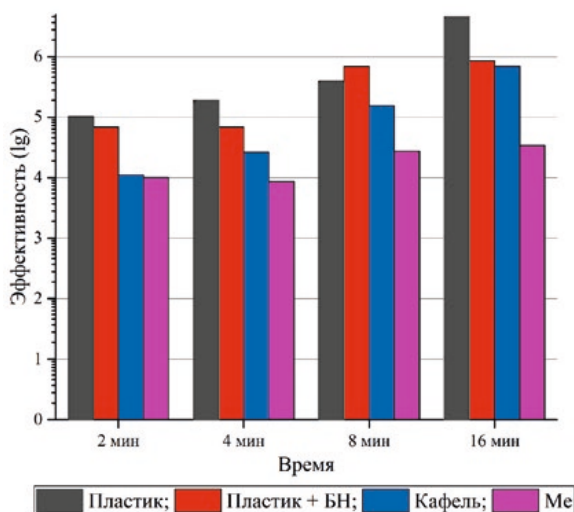


Рисунок 4. Влияние типа материала поверхности и органической нагрузки на эффективность обеззараживания импульсной установкой «Альфа-05».

по точке с экспозицией 1 минута, составила ≈ 3 Дж/м², а при экспозициях облучения 2 минуты (эффективность 99,999%) — ≈ 5 Дж/м².

На рис. 4 представлены результаты исследования влияния материала поверхности и наличия органических загрязнений на эффективность обеззараживания.

В результате исследований получено, что при облучении тест-объектов с экспозицией 2 минуты на всех рассмотренных типах поверхностях достигается эффективность обеззараживания не менее 99,99%, установленная в качестве критерия эффективности для дезинфицирующих средств. Наибольшая эффективность показана на пластиковых и кафельных тест-образцах, наименьшая — на металлических. Наличие биологического загрязнения на пластиковой поверхности не оказывает существенного влияния на достигаемую эффективность. Разница в эффективности обеззараживания пластиковых поверхностей в присутствии органической нагрузки и без нее не превышает 10% при всех экспозициях (2–8 минут).

Бактерицидная доза D_{90} для пластиковой поверхности с биологической нагрузкой составила $\approx 5,3$ Дж/м², для кафеля $\approx 6,3$ Дж/м², для металла $\approx 6,4$ Дж/м².

Обсуждение результатов

Экспериментальные микробиологические исследования показали высокую бактерицидную эффективность импульсной УФ-установки «Альфа-05» в отношении санитарно-показательного микроорганизма *S. aureus* как при обеззараживании воздуха, так и при дезинфекции открытых поверхностей, изготовленных из различных материалов, с биологическим загрязнением и без.

Эффективность 99,99% при обеззараживании всех видов рассматриваемых поверхностей (пластик, кафель, металл) достигается за 2 минуты облучения с расстояния 2 м. Биологическое загрязнение пластиковой поверхности снижает эффективность обеззараживания не более чем на 0,5 lg, оставляя само значение выше 99,99%, что соответствует критериям эффективности обеззараживания поверхности в соответствии с руководством Р 4.2.2643–10.

Слабое влияние органической нагрузки на облучаемых тест-объектах на эффективность обеззараживания связано, по-видимому, с характером воздействия на тест-объекты — облучение высокоинтенсивными потоками УФ-излучения сплошного спектра.

Полученные результаты демонстрируют возможность эффективного обеззараживания помещений различного назначения. Режим работы импульсной УФ-установки не потребует корректировки времени облучения помещений, стены и предметы которых выполнены из различных материалов, а отсутствие существенного влияния на эффективность обеззараживания при наличии органических загрязнений значительно повышает качество обработки.

Определена производительность установки при эффективности обеззараживания 99,9%, которая составляет 500 м³ в час с учетом 30-процентного запаса на влияние различных факторов.

Полученные пороговые дозы D_{90} для всех исследованных видов поверхностей с биологическим загрязнением не превышают значения 6,4 Дж/м², что коррелирует со значениями, полученными при исследовании эффективности обеззараживания воздуха. Значения экспериментальных доз позволяют грамотно разработать режимы и регламент обработки помещений, обеспечивающих высокие эффективности обеззараживания. Сравнение бактерицидных доз импульсного УФ-излучения (6,4 Дж/м²) с аналогичными дозами для ртутных ламп низкого давления (30–50 Дж/м²) [13, 14] подтверждает различие в механизмах действия УФ-излучения на различные жизненно важные структуры клетки, что необходимо учитывать при эксплуатации УФ-устройств с высокоинтенсивными источниками УФ-излучения сплошного спектра в медицинских организациях.

Список литературы

- Shelley S. Magill et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care-Associated Infections. N. Engl. J. Med. 2014; 370: 1198–1208.
- Carling P. C., Parry M. M., Rupp M. E., Po J. L., Dick B., Von Behren S. Improving cleaning of the environment surrounding patients in 36 acute care hospitals // Infection Control and Hospital Epidemiology. November 2008. Vol. 29. No. 11. Pp. 1035–1041.
- Импульсные источники света / Под ред. И. С. Маршак. — М.: Энергия, 1978. — 472 с.
- Владимиров Ю. А. Физико-химические основы фотобиологических процессов. — М.: Дрофа, 2006. — 285 с.
- Рубин А. Б. Биофизика: В 2 т. Т. 2. Биофизика клеточных процессов. — М.: Изд-во МГУ, 2004. — 469 с.
- Chan-Ick Cheigh, Mi-Hyun Park, Myong-Soo Chung, Jung-Kue Shin, Young-Seo Park. Comparison of intense pulsed light- and ultraviolet (UVC)-induced cell damage in *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 // Food Control. — 2012. — v. 25, № 2. — P. 654–659.
- Kazuko T., Junko S., Takashi S., Sakae F., Seiichi I., Keizo A., Makoto I. Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation // Int. J. Food Microbiol. — 2003. — v. 85. — P. 151–158.
- Caroline Levy, Xavier Aubert, Bernard Lacour, Frédéric Carlin. Relevant factors affecting microbial surface decontamination by pulsed light // Int. J. Food Microbiol. — 2012. — v. 152. — P. 168–174.
- Камруков А. С., Козлов Н. П., Шашковский С. Г., Яловик М. С. Высокоинтенсивные плазменно-оптические технологии для решения актуальных экологических и медико-биологических задач // Безопасность в техносфере. — 2009. — 3. — С. 31–38.
- Zuzana Bohrerova, Hilla Shemer, Robert Lantis, Christopher A. Impellitteri, Karl G. Linden. Comparative disinfection efficiency of pulsed and continuous-wave UV irradiation technologies // Water Reseach. — 2008. — v. 42. — P. 2975–2982.
- Joanne Levin, Linda S. Riley, Christine Parrish, Daniel English, Sehoon Ahn. The effect of portable pulsed xenon ultraviolet light after terminal cleaning on hospital-associated *Clostridium difficile* infection in a community hospital // Am. J. Infect. Control. — 2013. — v. 41. — P. 746–748.
- Janet P. Haas, Jonathan Menz, Stephen Dusza, Marisa A. Montecalvo. Implementation and impact of ultraviolet environmental disinfection in an acute care setting // Am. J. Infect. Control. — 2014. — v. 42. — P. 586–590.
- Kowalski. Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook. UVGI for Air and Surface Disinfection. New York: Springer, 2009.
- Васерман А. А., Шандала М. Г., Юзбашев В. Г. Ультрафиолетовое излучение в профилактике инфекционных заболеваний. М.: Медицина, 2003. — 208 с.

