

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра
здравоохранения –
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь



Н.П. Жукова

августа 2017 г.

Регистрационный № 003-0617

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ПОМЕЩЕНИЙ

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр
гигиены».

АВТОРЫ: к.м.н. Клебанов Р.Д., д.б.н. Дудчик Н.В., д.м.н. Косяченко Г.Е.,
к.м.н. Итпаева-Людчик С.Л., к.м.н. Гиндюк А.В., к.б.н. Емельянова О.А.,
Грузин А.А., к.б.н. Коноплянко В.А., Нежвинская О.Е.

Минск, 2017

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель министра –
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь

_____ Н.П. Жукова
31.08.2017
Регистрационный № 003-0617

**МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ПОМЕЩЕНИЙ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: РУП «Научно-практический центр гигиены»

АВТОРЫ: канд. мед. наук Р.Д. Клебанов, д-р биол. наук Н.В. Дудчик, д-р мед. наук Г.Е. Косяченко, канд. мед. наук С.Л. Итпаева-Людчик, канд. мед. наук А.В. Гиндюк, канд. биол. наук О.А. Емельянова, А.А. Грузин, канд. биол. наук В.А. Коноплянко, О.Е. Нежвинская

Минск 2017

ГЛАВА 1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Инструкция по применению «Методы оценки эффективности и безопасности ультрафиолетового обеззараживания помещений в организациях здравоохранения» (далее — инструкция) устанавливает методы оценки эффективности и безопасности применения ультрафиолетовых (далее — УФ) облучателей для обеззараживания воздуха и открытых поверхностей в помещениях организаций.

2. Инструкция применяется для разработки мер по снижению бактериальной загрязненности воздуха и поверхностей, профилактики инфекционных заболеваний, унификации условий применения УФ-облучателей, минимизации риска ультрафиолетового облучения (далее — УФО).

3. Инструкция предназначена для специалистов организаций, занимающихся эксплуатацией бактерицидных облучателей (далее — БО), органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор.

4. Для целей инструкции используются следующие термины и их определения:

- антимикробная (бактерицидная) доза — отношение энергии бактерицидного излучения к объему помещения (объемная доза, Дж/м³) или площади облучаемой поверхности (поверхностная доза, Дж/м²);

- бактерицидная плотность (интенсивность излучения) — поверхностная плотность УФ-потока с $\lambda = 200\text{--}280$ нм (Вт/м²);

- режим УФ-облучения — длительность и последовательность сеансов облучения;

- эффективное облучение — процесс УФ обеззараживания, результатом которого является обеспечение микробиологической чистоты помещений.

ГЛАВА 2 ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ

1. Оценка эффективности и безопасности бактерицидного обеззараживания помещений проводится с учетом характеристик УФ-излучения (далее — УФИ), используемых БО и режимов облучения (приложение 1), эпидемической ситуации, данных бактериальной обсемененности, риска облучения.

2. Эффективность и безопасность УФО оценивается в помещениях, где обеззараживание осуществляется открытыми, закрытыми и комбинированными, в т. ч. экранированными БО.

3. Оценка УФ-обеззараживания проводится на основе микробиологического исследования воздуха и поверхностей до и после облучения (прямой метод) и интенсивности УФИ (косвенный метод).

4. Измерение интенсивности УФИ проводится при применении облучателей с открытыми бактерицидными лампами (далее — БЛ).

5. Показателем обеспечения эффективного УФО является интенсивность УФ-потока не ниже $0,3 \text{ Вт/м}^2$ на расстоянии 2 м от БЛ. Необходимое время облучения определяется с учетом интенсивности УФИ и бактерицидной дозы (далее — БД) по приложению 2. При показателе менее $0,3 \text{ Вт/м}^2$ рекомендуется увеличить время облучения с учетом значения БД в соответствии с приложением 2 или заменить БЛ.

6. Для расчета времени УФ-обеззараживания указанный показатель ($0,3 \text{ Вт/м}^2$) применяется при отсутствии данных измерений интенсивности УФ-потока. Эффективность облучения обеспечивается при условии соблюдения срока эксплуатации БЛ, приведенного в технической документации на БО, а также учета факторов, влияющих на качество обеззараживания (приложение 3).

7. При применении экранированных БО и рециркуляторов время облучения определяется на основе показателя производительности облучателя, указанного в технической документации на БО с оценкой качества обеззараживания прямым методом.

8. Время облучения и БД рассчитывается также по виду микроорганизмов с учетом результатов анализа эпидемиологической ситуации в организации.

9. Измерения интенсивности УФ-потока (косвенный метод оценки обеззараживания) рекомендуется проводить не реже чем один раз в три года, а также при неблагоприятной эпидемической ситуации. Оценка бактерицидной эффективности УФО проводится с учетом эпидемиологической ситуации, но не реже одного раза в полугодие.

10. Оценка безопасности УФО проводится на основе измерений интенсивности УФ-потока в 20 % аналогичных по применяемым БО площади и высоте помещений организации согласно плану-графику производственного контроля.

11. Гигиеническая оценка облучателей с экранированными лампами, включая впервые поступающие на рынок, в т. ч. для целей гигиенической регистрации, проводится в условиях реальной эксплуатации БО в помещениях организаций.

12. Для измерений УФ-потока применяют измерительные приборы, нижний предел измерений которых в диапазоне УФ-С должен быть не более $0,001 \text{ Вт/м}^2$ и верхний — не менее 10 Вт/м^2 . При измерениях интенсивности УФ-потока БО элиминируется влияние УФ-составляющей солнечного потока, а также люминесцентных источников света.

ГЛАВА 3

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ УФ ОБЛУЧЕНИЕМ ВОЗДУХА И ПОВЕРХНОСТЕЙ

1. Оценка эффективности бактерицидного облучения помещений организаций проводится аккредитованными микробиологическими лабораториями, имеющими полученное в установленном порядке разрешение на работу с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими объектами.

2. Критерием эффективности УФО в помещениях является соблюдение гигиенических нормативов по санитарно-микробиологическим показателям воздушной среды помещений разных классов чистоты.

3. Количественная оценка эффективности УФ-обеззараживания в модельном эксперименте проводится для целей государственной регистрации бактерицидного оборудования и оценивается по степени снижения микробной нагрузки.

4. Бактериологическое исследование воздуха проводится аспирационным методом с определением общего содержания микроорганизмов и *Staphylococcus aureus* в 1 м³ воздушной среды помещения. Метод основан на аспирации содержащихся в воздухе клеток и спор микроорганизмов на поверхность питательных сред, проращивании и подсчете колоний, сформированных на поверхности среды.

5. Оценку качества микробиологической контаминации воздуха помещений проводят в соответствии с гигиеническими нормативами по показателям общего числа микроорганизмов в 1 м³ воздуха (КОЕ/м³) и наличию бактерий вида *Staphylococcus aureus* в 1 м³ воздуха (КОЕ/м³). Метод выполнения исследований приведен в приложении 4. Оценка результатов осуществляется путем сравнения полученного результата с гигиеническими нормативами.

6. Бактериологическое исследование поверхностей проводится методом взятия проб с поверхностей различных объектов путем смыва. Метод выполнения микробиологических исследований поверхностей приведен в приложении 5. Оценка микробной контаминации поверхностей проводится по показателю — общее число микроорганизмов.

ГЛАВА 4

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ УФ-ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

1. Метод оценки эффективности УФ-обеззараживания в модельном эксперименте приведен в приложении 6.

2. Количественная оценка проводится по степени ингибирования роста тест-культур микроорганизмов в стандартных условиях:

- тест-культуры — санитарно-показательные микроорганизмы: грамположительная бактерия *Escherichia coli*, грамотрицательная бактерия *Staphylococcus aureus*, спорообразующая бактерия *Bacillus subtilis*;

- исходная микробная нагрузка — 3 Lg КОЕ/мл;

- УФ-экспозиция исходя из расчета:

Escherichia coli 30–66 Дж/м²;

Staphylococcus aureus 49–66 Дж/м²;

Bacillus subtilis 305–580 Дж/м².

3. Количественную оценку проводят в соответствии с критериями:

- 100 % ≥ I > 90 % — выраженное антимикробное действие;

- 89 % ≥ I > 50 % — среднее антимикробное действие;

- 49 % ≥ I > 30 % — незначительное антимикробное действие;

- $I \leq 30$ % — отсутствие антимикробного действия, где I — показатель ингибирования.

Характеристики БО и режимы облучения

Облучатели открытого типа предназначены для применения в отсутствие людей. Экранированный БО оборудован экраном (шторкой), направляющим УФ-поток в верхнюю (высота более 1,8 м от пола) зону помещения. Комбинированные БО имеют включаемые отдельно лампы для прямого и (или) отраженного облучения; к комбинированным облучателям относятся и щелевые БО, в которых одна лампа открытая, а вторая — закрытая, расположенная в металлическом корпусе с направленной зафиксированной решеткой. В облучателях закрытого типа (рециркуляторах) воздух обеззараживается при его прохождении через камеру, внутри которой установлены БЛ. Облучатели с коллимированным пучком (УФ-поток на выходе из облучателя не расширяется и не сужается) предназначены для коридорных и иных протяженных помещений организации (длина 5 м и более). По конструктивному исполнению различают настенные, потолочные, напольные и передвижные облучатели.

В помещениях организаций применяют непрерывный режим облучения (в течение всего рабочего дня или более) или повторно-кратковременный с чередованием сеансов облучения и пауз. Длительность сеанса облучения в зависимости от производительности БО составляет 1–2 ч для закрытых облучателей и 15–30 мин для открытых и комбинированных БО. При необходимости сокращения времени УФобеззараживания с сохранением данной эффективности облучения применяют дополнительно рециркуляторы и передвижные облучатели. Длительность облучения также определяют с учетом величин интенсивности УФ-потока и антимикробной дозы.

Экспериментальные значения антимикробной поверхностной (Дж/м²)
и объемной (Дж/м³) доз эффективности обеззараживания

Вид микроорганизма	Дж/м ² , при			Дж/м ³ , при		
	90,0 %	95,0 %	99,9 %	90,0 %	95,0 %	99,9 %
<i>Bacillus anthracis</i>	45	63	87	118	185	507
<i>Bacillus megatherium</i>	11	17	25	30	50	146
<i>Bacillus subtilis</i>	305	398	580	802	1166	3380
<i>Clostridium tetani</i>	120	163	220	316	478	1283
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	34	47	65	89	138	379
<i>Escherichia coli</i>	30	45	66	79	132	385
<i>Legionella pneumophila</i>	20	28	38	53	92	221
<i>Micrococcus candidas</i>	60	86	123	158	252	717
<i>Micrococcus pillonensis</i>	81	111	150	213	325	875
<i>Micrococcus sphaeroides</i>	100	124	154	263	363	898
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	54	74	100	142	217	583
<i>Neisseria catarrhalis</i>	44	61	85	116	179	496
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	35	48	66	92	141	385
<i>Salmonella enteritidis</i>	40	55	76	105	161	443
<i>Salmonella paratyphoid</i>	23	38	61	60	111	356
<i>Salmonella typhimurium</i>	80	111	152	210	325	886
<i>Salmonella typhosa</i>	22	37	60	58	108	356
<i>Shigella dysenteriae</i>	22	30	42	58	98	245
<i>Shigella flexneri</i>	17	24	34	45	70	198
<i>Spirillum rubsum</i>	44	52	62	115	152	361
<i>Staphylococcus aureus</i>	49	57	66	130	167	385
<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	21	35	55	57	103	320
<i>Streptococcus viridans</i>	20	28	38	53	82	222
<i>Vibrio cholerae</i>	35	48	65	92	141	378
<i>Aspergillus flavus</i>	540	697	990	1420	2042	5770
<i>Aspergillus niger</i>	1800	2307	3300	4734	6760	19240
<i>Penicillium digitatum</i>	480	625	880	1262	1768	5130

Эффективность УФО зависит от вида микроорганизма, пропорциональна энергии облучения и определяется БД. Одно и то же значение дозы достигается разным сочетанием интенсивности УФИ и времени облучения, но для сохранения заданного уровня эффективности допускается трехкратная вариация этих параметров. Так, для БД, равной 152 Дж/м² (обеспечит эффективность обеззараживания *S. typhimurium* — 99,9 %), оптимально соотношение значения интенсивности УФИ 0,6 Вт/м² и времени облучения — 253 с. Эта же бактерицидная эффективность при дозе 152 Дж/м² сохранится при облучении

в течение 506 с и интенсивности потока, равной $0,3 \text{ Вт/м}^2$, при этом кратность вариации параметров по сравнению с первоначальными — 2. При интенсивности УФ потока, равном $0,1 \text{ Вт/м}^2$ и времени облучения 1520 с (кратность вариации параметров 6), эффективность будет ниже необходимого уровня, хотя и соответствует дозе, равной 152 Дж/м^2 .

Для повышения эффективности обеззараживания, рационального применения облучателей рекомендуется перерасчет времени облучения с учетом фактически отработанного времени БО. Например, для облучателей со сроком эксплуатации 9000 ч при использовании БЛ свыше $1/3$ срока эксплуатации (около 3000 ч) время облучения следует увеличить в 1,2 раза; при эксплуатации 6000 ч — в 1,3 раза по сравнению со временем обеззараживания, предусмотренным режимом облучения. При снижении интенсивности УФ-потока ниже 55 % номинальной величины применение метода УФ-облучения не обеспечит необходимый уровень обеззараживания, и БЛ подлежит замене.

Факторы, влияющие на эффективность и безопасность
УФО при применении БО

1. Температура. УФО не проводится в помещениях с температурой воздуха ниже 10°C или выше 40°C; оптимальная +20°C, допустимая +18–30°C.

2. Относительная влажность. Бактерицидное действие УФ-потока снижается при влажности более 80 %; оптимальная величина — 60 %, допустимая — 30–75 %.

3. Напряжение в сети. Увеличение напряжения уменьшает срок службы БЛ, а при падении напряжения они работают неустойчиво, мерцают или гаснут.

4. Состояние БО. Загрязненность колбы, отражателя на 10–12 % снижает мощность бактерицидного потока. Одно включение уменьшает срок службы БЛ на 2 ч; рекомендованное число включений/выключений не более 4–5 раз за рабочую смену.

5. Пригодность БЛ. Оценка пригодности ламп проводится по данным учета времени работы БЛ, показаниям индикаторов УФИ, счетчиков наработки БЛ, результатам измерений УФ-потока. При облученности ниже 55 % указанной в технической документации интенсивности необходимо заменить БЛ или увеличить экспозицию.

6. Движение воздуха. Эффективность УФО воздушной среды повышают подвижность воздуха, равномерное смешивание и перемещение его потоков. В холодный период года циркуляция воздуха достигается конвекцией, а в теплый рекомендуется применение средств для принудительного воздухообмена.

Метод количественного определения и микробиологической оценки
эффективности УФ-облучения воздушной среды помещений

Отбор проб воздуха проводится в периоды наибольшей предполагаемой микробной нагрузки (перед окончанием работы персонала или при наиболее высокой посещаемости). При оценке эффективности УФ-рециркуляторов отбор проб проводится в течение их работы, но не менее чем 1 ч от начала работы. При отборе проб соблюдаются правила асептики.

Перед выполнением измерений должны быть осуществлены: подготовка пробоотборника (аспиратора), приготовление питательной среды, а также контактных чашек с питательной средой.

Подготовка аспиратора. Перед каждым отбором воздуха тщательно производят дезинфекцию внутренней поверхности аспирационной насадки прибора, а также дезинфекцию аспиратора.

Приготовление питательных сред и контактных чашек с питательной средой. Питательную среду расплавляют, охлаждают до 45–50°C, тщательно перемешивают. В асептических условиях разливают по 15–20 см³ в контактные стерильные чашки Петри, оставляя чашки на горизонтальной поверхности лабораторного стола до застывания питательной среды. Подготовленные контактные чашки с соответствующими средами могут храниться в холодильнике при температуре 5±3°C в течение 1 недели.

Таблица — Характеристики питательных сред

Показатель	Питательная среда	Температура и время инкубации
Общее число микроорганизмов в 1 м ³ воздуха	Мясопептонный агар	(30±1)°C, 72 ч
Наличие <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 м ³ воздуха	Желточно-солевой агар	(37±1)°C, 48 ч

Отбор проб воздуха и культивирование отобранных проб

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с использованием пробоотборников. При оценке общего числа микроорганизмов в воздухе рекомендуется отбирать в две параллельные чашки Петри по 0,2–1,0 м³ воздуха в зависимости от степени микробной контаминации и гигиенических нормативов класса чистоты помещения. При оценке наличия *Staphylococcus aureus* отбирают 1 м³ воздуха в одну чашку Петри. После отбора проб воздуха чашки Петри со средой помещают в термостат и культивируют при режимах, указанных в таблице.

Для оценки общего микробного числа после инкубирования подсчитывают все сформированные колонии. Подсчет колоний осуществляется на чашках

Петри, содержащих не более 250 колоний, с использованием при необходимости лупы с 5-кратным увеличением. Общее число микроорганизмов на исследуемый объем воздуха рассчитывается как среднее арифметическое число колоний на двух параллельных чашках Петри по формуле (1):

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (1)$$

где X_1 — результат первого параллельного измерения;
 X_2 — результат второго параллельного измерения.

Содержание микроорганизмов в 1 м^3 рассчитывают по формуле (2):

$$X = \frac{\bar{N} \times 1000}{V}, \quad (2)$$

где \bar{N} — количество колоний, выросших на чашке;

1000 — коэффициент пересчета на 1 м^3 воздуха;
 V — объем отобранной пробы воздуха, дм^3 .

Результат измерений округляют до двух значащих цифр. Для этого, если третья цифра меньше 5, предшествующую цифру не изменяют; если третья цифра больше или равна 5, предшествующую цифру увеличивают на единицу. Результат измерения выражают числом между 1,0 и 9,9, умноженным на 10 в соответствующей степени.

Для оценки наличия бактерий *Staphylococcus aureus* в 1 м^3 воздуха производят учет выросших на желточно-солевом агаре колоний. Типичными для *Staphylococcus aureus* являются круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара колонии с ровными краями диаметром 2–2,5 мм, окрашенные в желтый, золотистый, кремовый, палевый или белый цвет, окруженные прозрачной зоной и радужным венчиком, что указывает на наличие лецитиназной активности. Дальнейшей идентификации подвергаются как типичные, так и нетипичные колонии.

Культуры окрашивают по Граму, микроскопируют, пересевают на мясо-пептонный агар и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18–24 ч. При наличии в полях зрения грамположительных кокков, расположенных гроздьями, проводят тесты на ферментацию маннита либо мальтозы и на наличие плазмокоагулазы.

Определение способности сбрасывать маннит и мальтозу: выделенную чистую культуру уколом в столбик пересевают в пробирку со средой Гисса с маннитом или мальтозой и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. В случае роста стафилококков на среде Гисса с маннитом или мальтозой наблюдаются ферментация или окисление углевода, сопровождающиеся изменением цвета среды.

Определение способности к плазмакоагуляции: сухую кроличью цитратную плазму разводят согласно инструкции изготовителя изотоническим раствором хлорида натрия. В стерильную пробирку вносят 0,5 см³ раствора плазмы, а затем одну петлю суточной культуры. Одну пробирку с раствором плазмы оставляют незасеянной в качестве отрицательного контроля. Пробирки инкубируют при температуре (37±1)°С в течение 24 ч. При положительной реакции плазмакоагуляции в пробирке с исследуемой культурой наблюдается образование сгустка.

Если в результате исследований обнаружены колонии грамположительных кокков, ферментирующие маннит в аэробных и анаэробных условиях или мальтозу в анаэробных условиях, обладающие лецитиназной активностью и дающие положительную реакцию плазмакоагуляции, считают, что проба контаминирована *Staphylococcus aureus*. Результат выражают следующим образом: в 1 м³ воздуха обнаружены бактерии вида *Staphylococcus aureus*.

Метод микробиологической оценки эффективности УФО открытых поверхностей
в помещениях

Метод основан на взятии проб с поверхностей различных объектов путем смыва, посева смывной жидкости непосредственно на чашки Петри с питательной средой и подсчете колоний, сформированных на чашке с питательной средой.

Взятие смывов производится с помощью стерильных увлажненных ватных тампонов с соблюдением правил асептики.

Репрезентативной считается проба, снятая с поверхности 10×10 см (площадь 100 см^2). Для ограничения поверхности используют шаблон (трафарет) площадью 25 см^2 , изготовленный из металла, который накладывают последовательно на 4 участка. Трафареты перед отбором смывов должны быть простерилизованы.

Посев проводят глубинным методом, для чего $0,1$ – 1 мл смывной жидкости помещают в две параллельные чашки Петри, заливают расплавленным мясопептонным агаром с температурой 45°C (15 – 20 см^3), размешивают круговыми движениями. После застывания агара чашки переворачивают и помещают в термостат и инкубируют при температуре 30°C в течение 72 ч. После инкубирования подсчитывают все сформированные колонии на поверхности и в толще агара. Предварительный учет проводится через 48 ч, окончательный — через 72 ч.

При необходимости применяется лупа с 5 -кратным увеличением.

Плотность обсеменения на 100 см^2 рассчитывают по формуле (3):

$$X = \frac{\bar{N} \times V_2}{V_1}, \quad (3)$$

где \bar{N} — количество колоний на чашке;

V_1 — объем посеянной пробы ($0,1$ – $1,0$ мл);

V_2 — объем пробы раствора для помещения смыва (5 мл).

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух результатов параллельных измерений, рассчитанное по формуле (4):

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2} \quad (4)$$

где X_1 — результат первого параллельного измерения;

X_2 — результат второго параллельного измерения.

Результат измерений округляют до двух значащих цифр. Для этого, если третья цифра меньше 5, предшествующую цифру не изменяют; если третья цифра больше или равна 5, предшествующую цифру увеличивают на единицу.

Результат измерения выражают числом между 1,0 и 9,9, умноженным на 10 в соответствующей степени.

Метод количественной оценки эффективности
УФ-обеззараживания в модельном эксперименте

Используются следующие штаммы микроорганизмов:

Escherichia coli;

Staphylococcus aureus;

Bacillus subtilis.

Тест-штаммы должны проявлять типичные культурально-морфологические и биохимические свойства.

Подготовка тест-культур и приготовление рабочих суспензий.

Тест-штаммы бактерий хранят при температуре $5\pm 1^\circ\text{C}$ под слоем стерильного вазелинового масла на казеиново-соево-пептонном агаре или мясопептонном агаре. Для приготовления рабочих культур штаммы бактерий отсеивают на мясопептонный агар и инкубируют в термостате при $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18–24 ч. Смыв тест-культур делают физиологическим раствором, используя стандарты мутности на 5 ед. Содержание клеток тест-штамма в инокуляте доводят до 10^4 КОЕ/мл. При необходимости подтверждение содержания клеток в рабочей культуре проводят путем высева на селективные агаризованные среды.

Суспензия микроорганизмов пригодна для использования в течение 6 ч с момента приготовления.

Подготовку чашек с тест-культурами осуществляют путем помещения 0,1 мл суспензии микроорганизмов на поверхность мясопептонного агара в чашках Петри с последующим распределением их по поверхности агара. Подготовленные чашки с тест-культурами экспонируют УФО 10 мин при расстоянии от БО до тест-культуры 30 см, после экспозиции чашки инкубируют в режиме: $37\pm 1^\circ\text{C}$, 48–72 ч.

После инкубирования подсчитывают все сформированные колонии на поверхности агара. Предварительный учет проводится через 48 ч, окончательный — через 72 ч.

Оценка эффективности УФО в модельном эксперименте проводится по степени ингибирования роста тест-культур микроорганизмов и рассчитывается по формуле (5):

$$I = \frac{Lg0 - Lg10}{Lg0}, \quad (5)$$

где I — показатель ингибирования;

$Lg0$ — десятичный логарифм исходной микробной нагрузки;

$Lg10$ — десятичный логарифм микробной нагрузки через 10 мин экспозиции.

Количественную оценку эффективности УФО проводят в соответствии с критериями:

- $100\% \geq I > 90\%$ — выраженное антимикробное действие;
- $89\% \geq I > 50\%$ — среднее антимикробное действие;
- $49\% \geq I > 30\%$ — незначительное антимикробное действие;
- $I \leq 30\%$ — отсутствие антимикробного действия,

где I — показатель ингибирования.