Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

3.5. ДЕЗИНФЕКТОЛОГИЯ

Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств

Методические указания
МУ 3.5.2431—08

Издание официальное

Москва • 2010

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

3.5. ДЕЗИНФЕКТОЛОГИЯ

Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств

Методические указания
МУ 3.5.2431—08

ББК 51.9
И32

И32 **Изучение** и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—39 с.

ISBN 978—5—7508—0804—5

1. Разработаны ФГУН НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора (М. Г. Шандала, Л. Г. Пантелеева); ГУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН (Д. К. Львов, Н. Н. Носик, Д. Н. Носик, П. Г. Дерябин); ГУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН (М. И. Михайлов, Н. А. Замятина, К. К. Кюрегян, Р. М. Элбакян); Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Л. С. Бойко, О. В. Романченко).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 3 апреля 2008 г. № 1).

3. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г. Г. Онищенко 13 декабря 2008 г.

4. Введены взамен «Методических рекомендаций по определению вирулицидной активности препаратов» № 1119—73.

ББК 51.9

ISBN 978—5—7508—0804—5

© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

Содержание

1. Область применения 5
2. Нормативные ссылки 6
3. Общие положения 6
4. Тест-вирусы, модельные системы, критерии оценки и основные условия, которые необходимо соблюдать при исследованиях вирулицидной активности ДС и их субстанций, применение нейтрализатора 7
4.1. Тест-вирусы 7
4.2. Модельные системы для исследований ДС и субстанций 8
4.3. Критерии оценки вирулицидной активности ДС и субстанций 8
4.4. Основные условия, которые следует соблюдать при исследованиях вирулицидной активности ДС и субстанций 9
4.5. Применение нейтрализатора ДС и субстанции 9
5. Основные этапы и методы изучения вирулицидной активности ДС и субстанций 10
5.1. Суспензионный метод 11
5.2. Метод батистовых тест-объектов 12
6. Методы изучения и оценки эффективности ДС при обеззараживании различных объектов 12
6.1. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании изделий медицинского назначения (ИМН) 13
6.1.1. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании ИМН (кроме эндоскопов) из различных материалов 13
6.1.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании эндоскопов, включая дезинфекцию высокого уровня (ДВУ) 14
6.1.3. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании стоматологических оттисков 15
6.1.4. Особенности постановки экспериментов по изучению вирулицидной активности при обеззараживании ИМН в установках (моюще-дезинфицирующие машины и др.) 16
6.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании предметов ухода за больными и игрушек 16
6.2.1. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании предметов ухода за больными 16
6.2.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании игрушек 17
6.3. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании белья, спецодежды и других изделий из тканей 18

6.3.1. Определение эффективности ДС при обеззараживании белья без видимых загрязнений 18
6.3.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании белья, загрязненного кровью, фекалиями 19
6.4. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании посуды, в том числе лабораторной 19
6.4.1. Методика обеззараживания посуды без остатков пищи, а также без других видимых загрязнений 19
6.4.2. Методика обеззараживания посуды с остатками пищи, а также загрязненной лабораторной посуды 20
6.5. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании поверхностей 20
6.6. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании выделений (мочи, фекалий), крови, мокроты 22
6.7. Определение вирулицидной активности аэрозолей ДС при обеззараживании воздуха в помещениях 23
7. Определение вирулицидной активности кожных антисептиков 24
8. Определение вирулицидной активности антимикробных тканей 25
9. Определение вирулицидной активности лакокрасочных материалов 25
10. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании медицинских отходов 26
Перечень сокращений и условных обозначений 26
Список литературы 27
Приложение 1. Тест-вирусы и методы их культивирования 29
Приложение 2. Метод батистовых тест-объектов 33
Приложение 3. Статистическая обработка результатов 35
Приложение 4. Схема написания научного отчета о результатах изучения вирулицидной активности ДС 39

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Г. Г. Онищенко
13 декабря 2008 г.
Дата введения: с момента утверждения

3.5. ДЕЗИНФЕКТОЛОГИЯ

Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств

Методические указания МУ 3.5.2431—08

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания содержат описание методов изучения и оценки вирулицидной активности дезинфицирующих средств (ДС) и субстанций (активных компонентов целевого действия ДС). Указания гармонизированы с Европейским стандартом 14476 «Химические дезинфектанты и антисептики. Вируцидный количественный суспензионный тест для химических дезинфектантов и антисептиков, используемых в медицине. Тест-методы и требования (фаза 2/ступень 1)», 2005; «Протоколом тестирования эффективности дезинфектантов, используемых для инактивации вируса гепатита В уток и поддержания соответствующего уровня требований», США, EPA 2000 г.; «Комиссии по антивирусной дезинфекции Немецкого Объединения по борьбе с вирусными заболеваниями (DVV)», 2004.

1.2. Методические указания предназначены для специалистов лабораторий, аккредитованных на исследования и испытания ДС в целях их государственной регистрации и сертификации в России.

2. Нормативные ссылки

1. Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ.

2. «Положение о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании», утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 24.07.00 № 554.

3. СП 3.1.1275—03 «Профилактика инфекционных заболеваний при эндоскопических манипуляциях».

4. МУ 3.5.1937—04 «Очистка, дезинфекция и стерилизация эндоскопов и инструментов к ним».

5. МУ № 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» от 30.12.98.

6. СанПиН 2.1.7.728—99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений».

3. Общие положения

3.1. Вирусы обладают разной устойчивостью к действию физических и химических факторов, в т. ч. ДС и субстанций. Устойчивость вирусов к ДС определяется их структурой и химическим составом. Более устойчивы к действию ДС вирусы без липидсодержащей оболочки, например пикорнавирусы, парвовирусы. Вирусы с липидсодержащей оболочкой, например вирусы гриппа, герпеса, ВИЧ относительно легко инактивируются. Механизм действия ДС на вирусы различен и зависит от химического состава. Они могут избирательно повреждать нуклеиновую кислоту вируса, белки нуклеокапсида или липопротеины суперкапсидной оболочки. Возможно синхронное воздействие на эти структурные элементы, дезинтеграция вирусной частицы или блокировка рецепторов на ее поверхности за счет накопления амфотерных веществ дезинфектанта. Для оценки вирулицидной активности следует использовать несколько тест-вирусов с различной устойчивостью, что позволяет оценить активность ДС в отношении широкого спектра вирусов.

3.2. Результаты исследований вирулицидной активности ДС зависят также от характера используемого вируссодержащего материала, метода индикации вируса, метода определения вирулицидных свойств ДС, состава испытываемого ДС (действующие вещества – ДВ и другие компоненты).

3.3. При изучении вирулицидной активности ДС необходимо иметь его подробную характеристику с указанием рецептуры, физико-

химических свойств (включая растворимость и стабильность), подтвержденных результатами входного химического контроля.

3.4. ДС, принимаемые для исследований, должны отвечать следующим требованиям: обладать хорошей растворимостью в воде, сохранять свою активность в присутствии органических веществ (кровь и другие биологические субстраты), быть нетоксичными или мало токсичными для людей (и животных), не иметь неприятного запаха, не портить обеззараживаемых предметов.

3.5. Непременным условием при исследованиях вирулицидной активности ДС является использование нейтрализатора.

4. Тест-вирусы, модельные системы, критерии оценки и основные условия, которые необходимо соблюдать при исследованиях вирулицидной активности ДС и их субстанций, применение нейтрализатора

4.1. Тест-вирусы

4.1.1. При исследованиях вирулицидной активности ДС необходимо использовать как РНК-, так и ДНК-содержащие тест-вирусы. При этом следует учитывать наличие лабораторной модели; безопасность для лиц, работающих с вирусом.

4.1.2. Обязательным для всех ДС является испытание на двух тест-вирусах: вирусе полиомиелита I типа (вакцинном штамме Sabin (LSc-2ab) (далее – «полиовирус») и аденовирусе V типа (штамм Аденоид 75) (далее – «аденовирус»).

Средство, показавшее способность инактивировать полио- и аденовирус, включают в группу ДС с вирулицидной активностью. ДС с вирулицидной активностью могут быть использованы для дезинфекции при любой вирусной (включая особо опасные) инфекции, имеющей значение в инфекционной патологии человека.

4.1.3. Для ДС, применяемых при повышенной (до 60 °С) температуре растворов (например, для обеззараживания белья), в качестве тест-вируса используют бычий парвовирус (штамм Хаден).

4.1.4. В связи с эпидемиологической и социальной значимостью гепатита А для дезинфекции в инфекционных очагах проводят также исследования с вирусом гепатита А. Для изучения и оценки активности ДС в отношении вируса гепатита А используют вирус гепатита А человека (штамм HAS–15). ДС, инактивирующие вирус гепатита А, входят в группу средств с вирулицидной активностью.

4.1.5. Для изучения вирулицидной активности ДС в отношении вируса гепатита В применяют суррогатный вирус – вирус гепатита В уток (ВГВУ), в отношении вируса гепатита С – суррогатный вирус – вирус диареи крупного рогатого скота ВД-БС (штамм ВК-1В1-№ 28) или вирус гепатита С человека (штамм Д1).

4.1.6. Спектр тест-вирусов может быть расширен, в таком случае дают дополнительную информацию о результатах исследований на конкретном вирусе.

4.2. Модельные системы для исследований ДС и субстанций

4.2.1. Исследования *in vitro* в культуре клеток. В экспериментах используют культуры клеток, чувствительные к тест-вирусу (прилож. 1).

4.2.2. Исследования *in vivo*. В экспериментах используют чувствительных лабораторных животных (белые мыши), уток и др.

4.3. Критерии оценки вирулицидной активности ДС и субстанций

4.3.1. Вирулицидное ДС (субстанция) должно подавлять инфекционность **обязательных** для испытаний тест-вирусов – полиовируса и аденовируса на исследуемых объектах не менее, чем на 4 $\log_{10}$ $ТЦИД_{50}$ (т. е. степень инактивации должна быть не менее 99,99 %).

4.3.2. Критерием вирулицидной активности ДС (субстанций) для других тест-вирусов (включая вирусы – возбудители особо опасных инфекций) является отсутствие инфекционности, определяемое современными методами индикации.

4.3.3. Степень инактивации тест-вируса определяют в чувствительных модельных системах по подавлению инфекционной, цитопатической или бляшкообразующей активности вируса в культуре клеток, или по отсутствию маркеров инфицирования, или по специфической гибели лабораторных животных (белые мыши) и др. Для получения более точных результатов тест-вирус следует использовать с максимальным титром.

4.3.4. Показателем вирулицидной активности ДС (субстанций) является скорость инактивации, которая представляет собой соотношение концентрации тест-вируса, выраженное в десятичных логарифмах, до и после воздействия ДС за определенный промежуток времени (экспозиция). Степень снижения вирусной инфекционности вычисляется в десятичных логарифмах по разнице титров вируса до и после обработки ДС.

4.4. Основные условия, которые следует соблюдать при исследованиях вирулицидной активности ДС и субстанций

• Использовать нейтрализатор, подобранный к конкретному ДС (или дезинфицирующей субстанции, далее в этом разделе – ДС).

• При проведении сертификационных испытаний ДС хранить в соответствии с правилами сертификации.

• Растворы ДС готовить на стерильной водопроводной дехлорированной воде.

• Поддерживать температуру растворов исследуемых ДС в течение всего эксперимента в пределах (20 ± 2) °С (если по условиям эксперимента не рекомендована другая температура), независимо от температуры окружающей среды.

• Использовать рабочие растворы ДС, производимых в форме гранул, порошков, таблеток и др. только после полного их растворения.

• Кратность постановки экспериментов должна быть не менее трех (при условии получения одинаковых результатов).

• При отсутствии цитопатического эффекта пробы подвергают необходимой обработке с целью проведения второго, а при необходимости и третьего слепого пассажа для определения полноты ингибирования тест-вируса.

• Эксперименты должны сопровождаться всеми необходимыми контролями, в т. ч. контролем полноты нейтрализации дезинфектанта, жизнеспособности тест-вируса, контаминации тест-объекта тест-вирусом, культуры клеток или лабораторных животных (мыши), утки и др.

• Исследуемые ДС до, во время и после исследований (испытаний) должны храниться в соответствии с требованиями технических условий (ТУ). При отсутствии ТУ необходимо соблюдать общие требования: избегать попадания прямых солнечных лучей и влаги, воздействия высоких температур и замораживания.

• При исследованиях ДС следует строго соблюдать рекомендуемые меры индивидуальной защиты (перчатки, очки, респираторы и др.).

4.5. Применение нейтрализатора ДС и субстанции

Для нейтрализации ДС (субстанции) используют вещество – нейтрализатор (или комплекс из нескольких веществ), останавливающее действие ДС. Нейтрализатор либо добавляют непосредственно в питательную среду, либо промывают им тест-объекты после воздействия ДС

(субстанции, исследуемого вещества) для того, чтобы остановить его действие на тест-вирус через заданное время (экспозицию).

4.5.1. Для нейтрализации ДС в виде монопрепарата на основе окислителей (хлор-, йод-, кислородсодержащие средства) применяют 0,1—1,0 % растворы тиосульфата натрия:

- для катионных поверхностно-активных веществ – 0,1—1,0 % растворы лаурилсульфата натрия (сульфонол) или растворы сульфонола с 10 % обезжиренного молока;
- для альдегидов – 1,0 % раствор бисульфита натрия;
- для кислот – щелочи в эквивалентном количестве;
- для щелочей – кислоты в эквивалентном количестве;
- для спиртов – воду;
- для композиционных средств – «комплексный» нейтрализатор, например, содержащий Твин 80 (3 %), сапонин (0,3—3,0 %), гистидин (0,1 %), цистеин (0,1 %). Если в состав ДС входят окислители, в нейтрализатор дополнительно вводят тиосульфат натрия. Следует иметь в виду, что «комплексный» нейтрализатор обладает выраженным цитотоксическим действием на клеточные культуры.

4.5.2. Если не удается подобрать какой-либо из перечисленных нейтрализаторов, что проявляется в неспецифической дегенерации культуры клеток (или гибели мышей, уток), то используют 60—80 % сыворотки (без консерванта) крупного рогатого скота (СКРС), инактивированную при 56 °С в течение 30 мин. СКРС нейтрализует большой перечень ДВ и наиболее близка к «универсальному» нейтрализатору.

4.5.3. При невозможности нейтрализовать токсическое действие ДС следует применять дополнительные методы удаления ДС – диализ смеси вирус-дезинфектант, например, с использованием сефадекса LH-20, G-75, осаждения вируса методом высокоскоростного центрифугирования, фильтрацией через мембранные фильтры.

5. Основные этапы и методы изучения вирулицидной активности ДС и субстанций

Исследование вирулицидной активности ДС осуществляется в два этапа.

1. Первый этап исследований – определение наличия вирулицидной активности. Проводится *in vitro* суспензионным методом или методом батистовых тест-объектов.

2. Второй этап исследований – изучение вирулицидной активности ДС при обработке ими различных тест-объектов, воздуха, контаминированных тест-вирусом.

В качестве тест-объектов могут использоваться:

- различные изделия медицинского назначения;
- предметы ухода за больными и игрушки;
- белье, спецодежда и другие изделия из тканей;
- посуда, в т. ч. лабораторная;
- различные поверхности в помещениях (жесткой мебели, разных предметов, оборудования, в т. ч. санитарно-технического и др.);
- кровь;
- выделения (моча, фекалии, мокрота).

Объем исследований и перечень объектов обеззараживания зависит от назначения ДС, их состава, токсикологической характеристики, формы выпуска и др.

Проводятся также исследования вирулицидной активности кожных антисептиков, антимикробных тканей и лакокрасочных материалов.

5.1. Суспензионный метод

5.1.1. К вирусной суспензии (ВС), в качестве которой может быть использована культуральная жидкость после удаления клеточных остатков, или ВС органов или тканей, или сыворотка крови, добавляют испытуемое средство в соотношении 1 : 9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) различных концентраций.

Суспензионный тест проводят в двух вариантах: без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой. В последнем случае к вирусной суспензии добавляется инактивированная сыворотка КРС из расчета 40 % ее концентрации в смеси вирус – дезинфектант.

Полученную смесь (как с сывороткой, так и без нее) выдерживают при комнатной температуре (20 ± 2) °С в течение 15, 30, 60 мин, нейтрализуют (в соотношении 1 : 1, т. е. 1 объем смеси и 1 объем нейтрализатора), встряхивая в течение 5—10 мин, и используют для определения тест-вируса в чувствительной культуре клеток (или на мышах, или на утках).

5.1.2. Методика определения инфекционного вируса после воздействия ДС (субстанции): исследуемый материал (смесь вируса, ДС и нейтрализатора) вносят (или исследуемым материалом заражают мышей или уток) в лунки планшет (пробирки) с выращенным монослоем клеток или в суспензию клеток (в случае применения суспензионной культуры

клеток), через 30—60 мин удаляют смесь, заменяют ее культуральной средой. Культуру клеток инкубируют в термостате при температуре, необходимой для репродукции вируса в течение срока наблюдения.

О вирулицидной активности средства судят по наличию или отсутствию цитопатогенного действия, вызываемого вирусом, или по другим проявлениям, указывающим на репродукцию вируса.

Все эксперименты сопровождаются контролями культуры клеток, вируса, полноты нейтрализации.

Эффективным считают средство (субстанцию), обеспечивающее инактивацию вируса при времени воздействия не более 60 мин.

5.2. Метод батистовых тест-объектов

5.2.1. Исследования вирулицидной активности ДС (субстанций) этим методом проводят на тест-вирусах, фиксированных на батистовых тест-объектах. При использовании данного метода происходит некоторая потеря (1—2 log $ТЦИД_{50}$/мл) вирусных частиц во время погружения контаминированных тест-объектов в раствор ДС, нейтрализатор и при последующем отмывании от остатков ДС. Однако этот метод более приемлем для изучения ДС, продукты нейтрализации которых токсичны для культуры клеток и вызывают в них неспецифические дегенеративные изменения (прилож. 2). Методы культивирования вирусов приведены в прилож. 1.

5.2.2. Исследования вирулицидной активности субстанции завершаются первым этапом.

5.2.3. Исследования вирулицидной активности ДС, предназначенных для дезинфекции при **особо опасных** вирусных инфекциях завершаются первым этапом, если возбудитель по устойчивости к конкретному ДС не превышает полиовирус и аденовирус.

5.2.4. После получения данных о наличии у ДС вирулицидной активности исследования продолжаются на втором этапе – изучении эффективности при обеззараживании различных объектов.

Эффективным считают средство (субстанцию), обеспечивающее инактивацию вируса при времени воздействия не более 60 мин.

6. Методы изучения и оценки эффективности ДС при обеззараживании различных объектов

Исследования эффективности ДС при обеззараживании различных объектов (изделия медицинского назначения, включая эндоскопы, посуда, белье, поверхности, выделения и др.), имеющих эпидемиологическое

значение в распространении инфекционных заболеваний вирусной этиологии, проводят с целью разработки эффективных режимов дезинфекции. Полученные положительные результаты в опытах на тест-вирусах уточняют (при необходимости) на вирусах – возбудителях той инфекции, при которой они будут использованы, учитывая их специфику и механизм передачи инфекции. Объем исследований ДС зависит от их предполагаемого назначения и может включать все или некоторые из приведенных ниже объектов.

6.1. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании изделий медицинского назначения (ИМН)

6.1.1. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании ИМН (кроме эндоскопов) из различных материалов

В качестве тест-изделий используют стерильные инструменты и другие ИМН (в т. ч. однократного применения): имеющие замковые части (щипцы, ножницы, корнцанг), не имеющие, замковых частей (пинцеты, шпатели); стоматологические, в т. ч. вращающиеся, инструменты (боры, буравы корневые, зеркала, диски шлифовальные) из различных материалов (металлов, резин, стекла, пластмасс) или имитирующие их тест-объекты.

6.1.1.1. Контаминация изделий тест-вирусом. Простерилизованные или продезинфицированные (способом кипячения) тест-изделия контаминируют ВС с добавлением 40 % инактивированной (без консерванта) СКРС в качестве органической нагрузки (например, к 6 мл ВС добавляют 4 мл неразведенной сыворотки), перемешивают. Если средство обладает фиксирующими свойствами, то сыворотку в качестве белковой нагрузки добавляют в количестве 5 %.

6.1.1.2. Приготовленной смесью контаминируют изделия, полностью погружая в нее мелкие, а на крупные наносят пипеткой, следя за равномерным смачиванием всей поверхности. Каналы изделий заполняют с помощью шприца или другого приспособления, избегая образования пузырьков воздуха.

6.1.1.3. Разъемные изделия погружают в смесь и делают несколько рабочих движений. Инструменты, имеющие замковые части, погружают раскрытыми, предварительно сделав ими несколько рабочих движений для лучшего проникновения вируса в труднодоступные участки изделия в области замка. Избыток смеси удаляют промоканием с помощью сте-

рильной фильтровальной бумаги, марлевой салфетки, но не протирают (!) изделия. Тест-изделия подсушивают при температуре (20 ± 2) °С в течение 60—90 мин.

6.1.1.4. Определение активной концентрации средства и времени вирулицидного действия. Контаминированные вирусом изделия погружают в дезинфектант на время дезинфекционной выдержки (5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 мин) или при необходимости на более длительное время, например, 240 мин – для изделий однократного применения перед утилизацией.

По истечении времени дезинфекционной выдержки изделия извлекают из дезинфектанта. Каналы промывают нейтрализатором, с поверхностей берут смывы салфетками размером 5 × 5 см, смоченными нейтрализатором. Салфетки, мелкие изделия погружают в пробирки с бусами и нейтрализатором (объем – 5 мл), которые помещают в шуттель-аппарат на 10 мин.

Полученную смывную жидкость вносят в пробирки или лунки планшет с культурой клеток или вводят в организм лабораторного животного (или уток).

Оптимальное время обеззараживания – не более 60 мин, для изделий однократного применения – не более 240 мин.

6.1.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании эндоскопов, включая дезинфекцию высокого уровня (ДВУ)

В качестве исследуемых объектов используют гибкий (гастроскоп), жесткий (цистоскоп) эндоскопы или фрагменты гибкого эндоскопа (гастроскопа) – его каналов и наружной поверхности.

С помощью пипетки ВС контаминируют поверхность и каналы эндоскопа (или его фрагменты), затем их погружают в раствор ДС, заполняя им каналы изделия. Для имитации минимального органического загрязнения к ВС перед контаминацией тест-изделия добавляют 5 % инактивированной сыворотки. Через 5—60 мин тест-изделие извлекают из раствора и берут смыв с его поверхности стерильной марлевой салфеткой, смоченной нейтрализатором. Канал изделия промывают раствором нейтрализатора и оставляют на 10 мин. Салфетки помещают в пробирки с нейтрализатором и стеклянными бусами, отмывают в шуттель-аппарате в течение 10 мин. Промывную – из каналов и смывную – с салфеток жидкости вносят в культуру клеток (или заражают другой биологический объект), отмытую от ростовой среды, оставляют на кон-

такт на 30—60 мин для адсорбции вируса и добавляют поддерживающую среду. При необходимости для снятия цитотоксического действия ДС клетки промывают раствором Хенкса и заливают поддерживающей средой с сывороткой. Клетки инкубируют в термостате при необходимой для конкретного вируса температуре.

Оптимальное время обеззараживания – не более 60 мин.

При разработке режима ДВУ в качестве органической нагрузки используют 5 % инактивированной СКРС. ДС используют в концентрации, обеспечивающей стерилизацию, и исследует только время ДВУ.

Оптимальное время ДВУ – не более 30 мин.

6.1.3. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании стоматологических оттисков

6.1.3.1. В качестве тест-объектов используют оттиски из альгинатных, силиконовых или других материалов. Для изготовления оттисков слепочную массу, полученную в соответствии с рекомендациями изготовителя, помещают в пластмассовую или металлическую ложку и делают оттиск с пластмассовых зубных протезов с моделированной десной.

6.1.3.2. На оттиски наносят ВС, подсушивают в течение 2—3 мин, промывают стерильной водой и погружают полностью в раствор ДС. Контрольные контаминированные ВС оттиски погружают в стерильную водопроводную воду (вместо раствора ДС) на максимальное время, взятое в эксперименте.

6.1.3.3. Через 5—30 мин оттиски извлекают из раствора ДС (контрольные – из воды) и делают смывы марлевой салфеткой, смоченной в 5 мл нейтрализатора, приготовленного на поддерживающей среде.

6.1.3.4. Салфетки помещают в пробирки с нейтрализатором и стеклянными бусами, отмывают в шуттель-аппарате в течение 10 мин. Смывной жидкостью заражают культуру клеток (или другой биологический объект). Культуру клеток, отмытую от ростовой среды, оставляют на контакт на 30—60 мин для адсорбции вируса. Затем клетки промывают раствором Хенкса и заливают поддерживающей средой с сывороткой. Клетки инкубируют в термостате при оптимальной для конкретного вируса температуре.

Оптимальное время обеззараживания – не более 30 мин.

6.1.4. Особенности постановки экспериментов по изучению вирулицидной активности при обеззараживании ИМН в установках (моюще-дезинфицирующие машины и др.)

6.1.4.1. Одним из самых значимых условий постановки экспериментов по разработке (для отечественных) или экспертной оценке (для зарубежных) режимов обеззараживания ИМН в установках, например, ультразвуковых, моюще-дезинфицирующих машинах, является создание условий эксперимента, максимально приближенных к условиям практического применения (в соответствии с техническим паспортом и инструкцией по эксплуатации).

6.1.4.2. Принципиальными являются следующие характеристики: скорость движения (циркуляции) дезинфицирующего раствора; температура раствора, количество (объем) раствора, диаметр канала (каналов) по которым циркулирует раствор. Повышенная температура растворов ДС и принудительная циркуляция повышают их активность, в несколько раз сокращая время обеззараживания ИМН.

6.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании предметов ухода за больными и игрушек

6.2.1. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании предметов ухода за больными

6.2.1.1. Предметы ухода за больными можно поделить на 2 группы в зависимости от возможного загрязнения биосубстратами и степени контаминации вирусами:

- наконечники к клизмам соприкасаются при их использовании со слизистой оболочкой прямой кишки, поэтому требования к их обработке и критерии эффективности ДС такие же, как к ИМН. Органическая нагрузка в экспериментах должна составлять 40 % сыворотки, а способ обеззараживания – путем погружения в раствор ДС;
- подкладные клеенки могут быть загрязнены любыми выделениями, поэтому органическая нагрузка должна быть такая же, как и в экспериментах с ИМН – 40 %, а способ обеззараживания – погружение в раствор или однократное, при необходимости – двукратное протирание;
- пузыри для льда и грелки соприкасаются только с кожей, они, как правило, не загрязнены выделениями, однако могут быть контаминированы вирусами. При разработке режимов их обеззараживания органическая нагрузка на тест-объектах не обязательна, а способ обработки – одно- или двукратное протирание.

6.2.1.2. В качестве тест-объектов, имитирующих предметы ухода за больными, используют тест-поверхности размером 10 × 10 $см^2$, изготовленные из резиновых грелок, пузырей для льда, медицинской клеёнки, а также наконечники к клизмам и др., игрушки из разных материалов. Их контаминируют смесью ВС с 40 % инактивированной сыворотки. Наконечники к клизмам контаминируют вирусом по такой же методике, что и ИМН, имеющие каналы, затем подсушивают до полного высыхания при температуре (20 ± 2) °С.

6.2.1.3. Подготовленные тест-объекты протирают одно- или двукратно с интервалом 15 мин салфеткой, смоченной раствором ДС. Кроме того, тест-объекты, изготовленные из медицинской клеёнки, погружают в дезинфицирующий раствор.

6.2.1.4. Мелкие предметы (наконечники к клизмам и др.) погружают в раствор ДС, заполняя им полости и каналы, избегая образования пузырьков воздуха.

6.2.1.5. Через 30, 60, 90, 120 мин смывы берут марлевыми салфетками размером 5 × 5 см, смоченными в нейтрализаторе. Предметы ухода, имеющие каналы, промывают нейтрализатором (не более 5 мл), который собирают в стерильные пробирки и оставляют на 10 мин для нейтрализации. Марлевые салфетки погружают в широкогорлые пробирки с бусами (с 5 мл нейтрализатора, приготовленного на поддерживающей среде), которые отмывают в шуттель-аппарате в течение 10 мин. Далее – как в п. 6.1.1.4.

Оптимальное время обеззараживания предметов ухода за больными – не более 120 мин.

6.2.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании игрушек

При обеззараживании игрушек (мелких и средних) определение вирулицидной активности ДС при обработке проводят способами протирания, погружения в раствор ДС или орошения (для крупных игрушек).

6.2.2.1. С этой целью игрушки (без отверстий) контаминируют ВС из расчета 0,5 мл на 100 $см^2$, но так, чтобы вся их поверхность была ею покрыта. Мелкие игрушки погружают полностью в ВС. Затем их подсушивают при температуре 18—20 °С до полного высыхания.

6.2.2.2. Поверхность игрушек протирают салфеткой, смоченной раствором ДС (в контроле – стерильной водой), мелкие игрушки погружают в раствор ДС, препятствуя их всплытию; крупные игрушки оро-

шают раствором ДС. Норма расхода раствора ДС способом протирания 100—150 мл/м^2 при однократной обработке, способом орошения – 150 мл/м^2 при обработке распылителем типа «Квазар» и 300 мл/м^2 – при обработке распылителем типа «Автомакс» или гидропультом. При необходимости обработку способом протирания или орошения повторяют через 5—15 мин.

6.2.2.3. Через определенные интервалы времени (от 15 до 120 мин) с помощью марлевой салфетки (5 × 5 см), смоченной нейтрализатором, приготовленным на поддерживающей среде или физрастворе, с игрушек берут смывы. Салфетки погружают в пробирки со стеклянными бусами и нейтрализатором. Далее – как в п. 6.1.1.4.

Оптимальное время обеззараживания – не более 120 мин.

6.3. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании белья, спецодежды и других изделий из тканей

При определении вирулицидной активности ДС при обеззараживании белья учитывают соотношение раствора ДС и белья (при особо опасных инфекциях расход раствора составляет 5 л на 1 кг сухого белья, при прочих – 4 л раствора на 1 кг сухого белья), температуру раствора, степень и характер загрязнения белья.

6.3.1. Определение эффективности ДС при обеззараживании белья без видимых загрязнений

6.3.1.1. Исследования проводят с помощью батистовых тестов. Контаминированные вирусом тесты подсушивают при комнатной температуре, затем их закладывают (по 5 штук в каждый) в бязевые стерильные мешочки размером 5 × 8 см с пришитой к углу каждого из них прочной нитью длиной около 0,5 м. Мешочки закрывают в виде конверта.

6.3.1.2. Белье (старые бязевые халаты, полотенца и др.) погружают в емкость с раствором ДС, последовательно замачивая одну вещь за другой, следя за тем, чтобы между вещами не образовывалось воздушных прослоек, препятствующих процессу дезинфекции. Одновременно между слоями белья распределяют (сверху, в середине и внизу) мешочки с контаминированными вирусом тестами.

6.3.1.3. Через определенные промежутки времени (15, 30, 60 и более мин) мешочки с тестами извлекают одновременно из трех слоев.

6.3.1.4. Тесты вынимают из мешочка стерильным пинцетом, погружают в широкогорлые пробирки с нейтрализатором и бусами, далее – как в п. 6.1.1.4.

6.3.2. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании белья, загрязненного кровью, фекалиями

6.3.2.1. С целью изучения эффективности средства при обеззараживании белья, загрязненного **кровью** (имитация в виде 40 % сыворотки), медицинских отходов из тканей, марли, ваты (одноразовое хирургическое белье и акушерские комплекты, перевязочный материал, марлевые салфетки, ватные тампоны и др.) к 6 мл вируссодержащей жидкости прибавляют 4 мл инактивированной СКРС, смешивают и заливают тесты, подсушивают их и используют в опыте, как в п. 6.3.1.

Оптимальное время обеззараживания белья – не более 120 мин, медицинских отходов – не более 240 мин.

6.3.2.2. Для имитации загрязнения белья и медицинских отходов из тканей **фекалиями** в экспериментах с тест-вирусом используют фекальную эмульсию. Фекальную эмульсию готовят следующим образом: к 6 мл 10 % ВС добавляют 4 мл 40 % эмульсии фекалий. Для этого 8 г простерилизованных фекалий (1,5 атм в течение 30 мин) растирают в ступке с 20 мл стерильной воды. В качестве органической нагрузки можно использовать также 80 % инактивированной СКРС из расчета: 8 мл сыворотки и 2 мл ВС, тщательно перемешивают и этой смесью заливают тесты. Избыток жидкости через 15 мин удаляют с помощью пипетки, тесты подсушивают при комнатной температуре. Далее эксперимент проводят по схеме для незагрязненного белья (п. 6.3.1).

Оптимальное время обеззараживания белья и медицинских отходов, загрязненных фекалиями, – не более 240 мин.

6.4. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании посуды, в том числе лабораторной

6.4.1. Методика обеззараживания посуды без остатков пищи, а также без других видимых загрязнений

При обеззараживании посуды без остатков пищи, лабораторной посуды без видимых загрязнений в качестве тест-объектов используют тарелки, стаканы, эмалированные кружки; столовые приборы – ножи, вилки, ложки; лабораторной посуды – пипетки, в т. ч. микропипетки, наконечники к ним, предметные стекла, пробирки.

6.4.1.1. Чистую посуду контаминируют ВС, которую наносят пипеткой из расчета 0,5 мл на 100 $см^2$ и равномерно распределяют по поверхности стерильным стеклянным шпателем. Вилки, ложки и ножи

погружают в ВС на 10—15 мин (за исключением ручек), каналы пипеток контаминируют вирусом.

6.4.1.2. Посуду, столовые приборы подсушивают при комнатной температуре. После полного высыхания погружают в раствор ДС, полностью их покрывая (расход раствора составляет примерно 2 л на комплект посуды: чашка, блюдце, 2 тарелки, ложка, вилка, нож) раствором.

6.4.1.3. Через определенные интервалы времени (15, 30, 60, 90, 120 мин) посуду извлекают из раствора ДС. Для оценки эффективности обеззараживания стерильными марлевыми салфетками размером 5 × 5 см (вначале увлажненной нейтрализатором, затем сухой) тщательно протирают контаминированные вирусом части каждого предмета. Салфетки помещают в стерильную широкую пробирку с бусами и 5 мл стерильного нейтрализатора. Далее – как в п. 6.1.1.4.

Оптимальное время обеззараживания – не более 60 мин.

6.4.1.4. Контролем служит аналогичным способом контаминированная вирусом посуда, погруженная на максимальную экспозицию в стерильную или прокипяченную водопроводную воду.

6.4.2. Методика обеззараживания посуды с остатками пищи, а также загрязненной лабораторной посуды

Для изучения эффективности ДС при обеззараживании посуды с остатками пищи, загрязненной лабораторной посуды многократного использования и однократного применения (перед утилизацией) к ВС добавляют 80 % инактивированной СКРС из расчета: 20 % ВС и 80 % сыворотки, смесь наносят равномерно на посуду, подсушивают. Далее – как в п. 6.4.1.

Оптимальное время обеззараживания – не более 120 мин для посуды многократного использования и не более 240 мин – для посуды однократного применения (перед утилизацией).

6.5. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании поверхностей

Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании тест-поверхностей проводят двумя способами: способом протирания (одно- или двукратного) или способом орошения.

6.5.1. В экспериментах используют тест-поверхности размером 10 × 10 см, гладкие, шероховатые, впитывающие и невпитывающие ДС из различных материалов: деревянные, оштукатуренные, окрашенные масляной или клеевой и других красками, оклеенные обоями, а также из линолеума, пластика, стекла, кафеля, метлахской плитки, фаянса, искус-

ственной или натуральной кожи и др. Набор тест-поверхностей (далее – «поверхностей») определяется назначением средства.

6.5.2. Перед экспериментом поверхности подвергают механической очистке – моют водой с мылом и щеткой, за исключением поверхностей, оклеенных обоями и окрашенных клеевой краской. Последние протирают несколько раз стерильной салфеткой, увлажненной стерильной водопроводной водой. После подсыхания поверхности располагают горизонтально и пипеткой наносят ВС из расчета – 0,5 мл с добавлением 5 % инктивированной СКРС на площадь в 100 $см^2$, равномерно распределяют по поверхности стеклянным шпателем. Контаминированные вирусом поверхности подсушивают до полного высыхания при температуре (20 ± 2) °С и относительной влажности воздуха 50—60 %, затем обрабатывают раствором ДС.

6.5.3. При обеззараживании контаминированных ВС поверхностей некоторых видов – оштукатуренные, окрашенные клеевой и др. красками, оклеенные обоями, из стекла, фаянса, дерева, окрашенного масляной краской, из кафеля, их располагают вертикально и проводят обработку в этом положении (способ орошения). Остальные поверхности обрабатывают как в горизонтальном (способ однократного или двукратного протирания), так и в вертикальном положениях. Раствор ДС наносят на поверхность путем орошения из пульверизатора, точно следя за количеством израсходованной жидкости. Норма расхода – от 80 до 500 мл раствора на 1 $м^2$ обрабатываемой площади.

6.5.4. Для имитации органического загрязнения используют 40 % инактивированной сыворотки при разработке режимов обеззараживания раковин, ванн или при разработке режимов обеззараживания унитазов – 80 %. Возможно также использование вируссодержащей фекальной эмульсии, которую наносят на поверхности из кафеля или фаянса в экспериментах с вирусами, выделяющимися из организма с фекалиями.

6.5.5. Контроль эффективности обеззараживания осуществляют через 15, 30, 60 мин. Пробы отбирают путем тщательного протирания орошенных раствором ДС поверхностей слегка увлажненной нейтрализатором в физиологическом растворе или растворе Хенкса с антибиотиками стерильной марлевой салфеткой (5 × 5 см), а затем сухой. Салфетки помещают в широкогорлые пробирки с бусами с 5 мл нейтрализатора. Далее – как в п. 6.1.1.4.

Оптимальное время обеззараживания поверхностей – не более 60 мин.

6.5.6. В контроле вируса контаминированные ВС поверхности протирают или орошают стерильной или прокипяченной водопроводной водой при той же норме расхода воды, что и ДС в опыте. Забор проб и их обработку проводят аналогично опытным. Для определения плотности контаминации проводят титрование смывов с поверхностей.

6.5.7. При работе с вирусом гепатита А опыт моделируется с меньшим количеством белья, ДС и ВС.

6.6. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании выделений (мочи, фекалий), крови, мокроты

6.6.1. При определении вирулицидной активности ДС для обеззараживании **мочи** подбирают концентрацию ДС и время обработки.

6.6.1.1. Растворы ДС добавляют к продезинфицированной способом кипячения моче в равном или двойном объеме. Через 15, 30, 60 мин указанную смесь в количестве 1 мл переносят в пробирки с 5 мл нейтрализатора, перемешивают, оставляют на 10 мин для нейтрализации, затем заражают культуру клеток (или другой биологический объект). Культуру клеток, отмытую от ростовой среды, оставляют на контакт на 30—60 мин для адсорбции вируса. Затем клетки промывают раствором Хенкса и заливают поддерживающей средой с сывороткой. Клетки инкубируют в термостате при оптимальной для конкретного вируса температуре.

6.6.1.2. В контроле к моче добавляют не дезинфицирующий раствор, а стерильную воду. Результаты опытов учитывают в сравнении с контролем. Количество вируса в моче в контроле определяют титрованием.

Оптимальное время обеззараживания – не более 120 мин.

6.6.2. При разработке режимов обеззараживания **фекалий** учитывают соотношение ДС и обеззараживаемой массы фекалий, время обработки, консистенцию обеззараживаемых выделений, степень гомогенизации в процессе обеззараживания.

6.6.2.1. С этой целью 20 г простерилизованных фекалий растирают в ступке с добавлением 80 мл воды до получения гомогенной эмульсии. Эмульсию разливают по 9 мл в пробирки и добавляют по 1 мл вируссодержащей жидкости.

6.6.2.2. Приготовленную эмульсию фекалий заливают равным или двойным количеством раствора ДС и в дальнейшем берут пробы так же, как и при обеззараживании мочи. Взятые пробы центрифугируют при 2 500—3 000 об./мин в течение 20 мин, после чего надосадочной жидко-

стью заражают культуру клеток, внося её в пробирки/лунки с клетками, или в организм чувствительного животного, уток.

6.6.2.3. В контроле вместо раствора ДС используют стерильную воду. Результаты учитывают в сравнении с контролем.

Оптимальное время обеззараживания – 240 мин.

6.6.3. При разработке режимов обеззараживания **крови (без сгустков)** используют цитратную (или дефибринированную) кровь, контаминированную тест-вирусом (соотношение объема крови и вирусной суспензии 1 : 1). Можно также использовать эритроцитарную массу (бараньи эритроциты), которая готовится путем добавления к 3 мл отмытой эритроцитарной массы 97 мл 3,0 % раствора альбумина на фосфатном буфере. Аликвоты этой смеси контаминируют тест-вирусом. Подбирают оптимальное соотношение ДС и обеззараживаемой крови, концентрацию ДС, время обработки, нейтрализуют (1 : 1, т. е. 1 объем смеси крови и ДС и 1 объем нейтрализатора) выдерживают 5—10 мин (перемешивая или встряхивая) и используют для определения инфекционности тест-вируса. Для обеззараживания **крови со сгустками** эффективным является только термический метод обработки (в паровом стерилизаторе).

Оптимальное время обеззараживания – не более 240 мин.

6.6.4. При разработке режимов обеззараживания **мокроты** используют мокроту волонтеров, подбирают оптимальное соотношение ДС и обеззараживаемой мокроты, время обработки, концентрацию ДС, нейтрализатор.

Оптимальное время обеззараживания – не более 240 мин.

6.7. Определение вирулицидной активности аэрозолей ДС при обеззараживании воздуха в помещениях

6.7.1. Для определения вирулицидной активности аэрозолей ДС при обеззараживании воздуха в помещениях (инфекционные очаги, ЛПУ и др.) применяют аспирационный метод.

6.7.2. В качестве тест-вирусов используют полиовирус и/или аденовирус. ВС распыляют в камере в количестве, достаточном для получения в воздухе камеры концентрации вируса 1×10^5 $ТЦИД_{50}/м^3$. Аэрозоль создают с помощью распыливающей аппаратуры, которая обеспечивает образование в воздухе не менее 80 % частиц с дисперсностью 20 + 5 мкм, затем включают вентилятор для предотвращения оседания аэрозоля ДС.

6.7.3. В склянки Дрекселя вместо 50 мл стерильной водопроводной воды наливают 5 мл раствора Хенкса или поддерживающей питательной среды с нейтрализатором и антибиотиками.

6.7.4. Для контроля исходной контаминации воздуха вирусом перед началом эксперимента через склянки Дрекселя, соединенные последовательно одна с другой, а также в процессе эксперимента пропускают по 50 л воздуха (объем пробы для исследования). После отбора проб через каждые 5, 10 или 15 мин, в зависимости от предполагаемой эффективности ДС и с учетом чувствительности вируса к ДВ, жидкость из двух склянок Дрекселя соединяют, перемешивают и по 2 мл вносят в пробирки/лунки с культурой клеток (или в организм лабораторного животного, уток). Клетки оставляют на 1 час для контакта, затем сливают. После этого во все пробирки вносят поддерживающую среду в количестве 2 мл и помещают в термостат.

6.7.5. При определении эффективности аэрозоля ДС исследования проводят при трех показателях относительной влажности воздуха: 20—25 %, 50—55 % и 80—85 % и температуре воздуха (20 ± 2) °С. Во время эксперимента в камере должен постоянно работать вентилятор для перемешивания компонентов исследуемой системы – вируса, воздуха, аэрозоля ДС.

Об инактивации вируса судят по утрате им инфекционной активности.

6.7.6. Вирулицидная активность ДС в форме аэрозоля зависит от концентрации вируса в воздухе, расхода смеси аэрозоля на единицу объема, концентрации раствора ДС в аэрозольной смеси, экспозиции, относительной влажности воздуха и температуры в камере.

6.7.7. В контроле используют аэрозольные смеси, содержащие вместо раствора ДС стерильную воду, которые распыляют в камере в тех же количествах, при этом размер аэрозольных частиц должен быть одинаковым с размером частиц аэрозоля средства.

7. Определение вирулицидной активности кожных антисептиков

Для изучения вирулицидной активности кожных антисептиков используют суспензионный метод (п. 5.1.1) или метод батистовых тест-объектов (п. 5.1.2). С этой целью используют полиовирус, аденовирус, а также ВГВУ в количестве 10^5 $ТЦИД_{50}$/мл ($ИД_{50}$/мл), или вирус диареи крупного рогатого скота (ВД-БС). Время дезинфекционной выдержки не

должно превышать 4 мин. Эффективность – снижение титра вируса не менее, чем на 4 $\log_{10}$.

8. Определение вирулицидной активности антимикробных тканей

При определении вирулицидной активности антимикробных тканей выбор тест-вируса и тест-объекта зависит от назначения и сферы применения, например, марлевые повязки для защиты верхних дыхательных путей профессионального контингента (медицинские работники, продавцы в супермаркетах и др.) или изготовление спецодежды и пр.

8.1. С этой целью на тест-объекты (по два на каждое разведение) из исследуемой ткани размером 2 × 2 см капельно наносят по 0,05 мл ВС. Через 30 сек, 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60 мин тест-объекты переносят в широкогорлые пробирки с бусами и 5 мл нейтрализатора, отмывают в шуттель-аппарате в течение 10 мин. Смывной жидкостью заражают культуру клеток (или другой биологический объект). Культуру клеток, отмытую от ростовой среды, оставляют на контакт на 30—60 мин для адсорбции вируса. Затем клетки промывают раствором Хенкса и заливают поддерживающей средой с сывороткой. Клетки инкубируют в термостате при оптимальной для конкретного вируса температуре. В контроле используют тест-объекты из ткани того же артикула, но не содержащей противовирусные вещества.

Критерии вирулицидной активности – снижение титра вируса не менее чем на 4 $\log_{10}$.

9. Определение вирулицидной активности лакокрасочных материалов

9.1. При определении вирулицидной активности лакокрасочных материалов (антимикробные лаки, краски) ВС в дозе 10^5 $ТЦИД_{50/мл}$ наносят в количестве 0,5 мл на исследуемую тест-поверхность (размер 10 × 10 $см^2$). После необходимой экспозиции (от 30 мин до 24 ч) с поверхности берут смыв стерильной марлевой салфеткой, смоченной нейтрализатором. Салфетки погружают в широкогорлые пробирки с 5 мл нейтрализатора и бусами, отмывают в течение 10 мин в шуттель-аппарате. Далее – как в п. 6.1.1.4.

В качестве контроля используют тест-поверхности, окрашенные краской или покрытые лаком, не содержащие вирулицидных веществ.

9.2. Определение пролонгированного вирулицидного действия лакокрасочных материалов проводят на тест-поверхностях без дополни-

тельной и с дополнительной искусственной контаминацией испытуемым тест-вирусом.

Критерии вирулицидной активности лакокрасочного покрытия – снижение количества вируса не менее чем на 4 $\log_{10}$ через 24 ч после нанесения его на поверхность; наблюдение может продолжаться в течение 6 мес. и более.

10. Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании медицинских отходов

Методики определения вирулицидной активности ДС при обеззараживании медицинских отходов разного происхождения приведены в соответствующих разделах: изделий медицинского назначения однократного применения – в п. 6.1.1; отходов из тканей (медицинская защитная одежда и белье, перевязочный материал, марлевые салфетки, ватные тампоны и др.) – в п. 6.3.2; посуды, в т. ч. лабораторной однократного использования – в п. 6.4.2; крови и др. – в п. 6.6.

Перечень сокращений и условных обозначений

ВГА – вирус гепатита А
ВГВ – вирус гепатита В
ВГВУ – вирус гепатита В уток
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
ВС – вирусная суспензия
ДВ – действующее вещество
ДВУ – дезинфекция высокого уровня
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДС – дезинфицирующие средства
ИМН – изделия медицинского назначения
ИФА – иммуноферментный анализ
LD_{50} ($ЛД_{50}$) – летальная доза 50 %
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
СКРС – сыворотка крупного рогатого скота
$ТЦИД_{50}$ – тканевая инфекционная цитопатогенная доза 50 %
ЦПД – цитопатогенное действие

Список литературы

1. Disinfection, sterilization, and preservation. Seymour S. Block. Fifth Edition, by Lippincott Williams S Wilkins, Philadelphia, PA 19106 USA, 2001. 1481 c.

2. Handbuch der viruswirksamen Desinfektionen. F. v. Rheinbaben, M.H. Wolf. Springer-Verlad, Berlin, 2002. 509 c.

3. EN 14476. Chemical disinfectants and antiseptics – Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine – Test methods and requirements (phase 2/step 1) ICS 11.080.20, april 2005 + A1:2006.

4. Prufung und Deklaration der Wirksamkeit von Desinfections-mitteln gegen Viren. Stellungnahme des Arbeitskreises Viruzidie beim Robert Koch-Institut (RKI) sowie des Fachausschusses «Virusdesinfektion» der Deutschen Gesellschaft zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) und der Desinfektionsmittel-kommission der Deutschen Gesellschaft fur Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz. 2004. № 47. С. 62—66.

5. Методы испытаний дезинфицирующих средств для оценки их безопасности и эффективности. М., 1998. 72 с.

6. «Методические рекомендации по определению вирулицидной активности препаратов» от 06.09.73 № 1119—73. М., 1974. 16 с.

7. «Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств, подлежащих контролю при проведении обязательной сертификации» № 01-12/75—97, 1998.

8. Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита. ВОЗ, Женева. М., 1998. 114 с.

9. Замятина Н. А., Элбакян Р. М., Полещук В. Ф., Михайлов М. И. Комплексная оценка вирулицидной активности дезинфектантов на вирус гепатита А // Медицинская вирусология: Тр. Ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова. М., 2006. Т. XXIII. С. 137—141.

10. Тетерина Т. А., Кюрегян К. К., Исаева О. В., Попова О. Е., Князев В. П., Груздев К. Н., Михайлов М. И. Вирус гепатита В уток как суррогатная модель для изучения вируса гепатита В человека // Медицинская вирусология: Тр. Ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова. М., 2006 г. Т. XXIII. С. 152—160.

11. Protocol for testing the efficacy of disinfectants used to inactivate duck hepatitis B virus and to support corresponding label claims. Developed by MicroBioTest, Inc. and Submitted to the Environmental Protection Agency, 2000. P. 1—12.

12. Дерябин П. Г., Львов Д. К. Высокопродуктивный вариант вируса гепатита С. Выделение, характеристика, идентификация //Доклады Академии наук РФ. 1998. Т. 358. 5. С. 688—691.

13. Дерябин П. Г., Исаева Е. И., Гренкова Е. П., Сухно А. С. и др. Цитопатогенные варианты вируса гепатита С (ВГС), пригодные для разработки вакцины //Аллергия, астма и клиническая иммунология. 2001. Т. 1. С. 28—30.

Приложение 1
(рекомендуемое)

Тест-вирусы и методы их культивирования

1. Тест-вирусы

Тест-вирусы получают из национальных или международных коллекций вирусов:

1.1. Вирус полиомиелита I типа (вакцинный штамм Sabin (LSc-2ab), РНК-содержащий вирус, не имеющий оболочки, из семейства пикорнавирусов.

1.2. Аденовирус, тип V, штамм Аденоид 75 (ATCC VR-5),

ДНК-содержащий вирус, не имеющий оболочки, из семейства аденовирусов.

1.3. Бычий парвовирус, штамм Хадсн (ATCC VR-767).

1.4. Вирус гепатита А, штамм HAS–15, РНК-содержащий вирус, не имеющий оболочки, из семейства пикорнавирусов.

1.5. Вирус гепатита В уток (ВГВУ), штамм «УФА–04»,

ДНК-содержащий, из семейства гепаднавирусов.

1.6. Вирус гепатита С человека, штамм Д1.

1.7. Вирус бычьей диареи (ВД-БС), РНК-содержащий вирус диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота, из семейства пестивирусов, штамм ВК-1В1-№ 28.

2. Культивирование вирусов

2.1. Исходный вирус – это вирус, полученный из Референс-центров (из национальных или международных коллекций вирусов), размноженный в объемах, достаточных для длительной работы с данным пассажем, при минимальных количествах пассажей. Хранится в малых объемах при – 70 °С или в жидком азоте (Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита, ВОЗ, Женева, М., 1998).

2.2. Тест-вирусная суспензия – вирусная суспензия, полученная из исходного вируса и используемая для определения вирулицидных свойств дезинфектанта.

2.3. Исходный вирус размножают в чувствительных клетках (лабораторных животных, утках и др.), продуцирующих вирус в высоких титрах. Клеточный детрит удаляют цетрифугированием при низких оборотах (1 000 об./5 мин). Этот материал называют «тест-вирусной суспензией». Ее используют не разведенной.

Предполагается, что минимальный титр вирусной суспензии по крайней мере $10^{6,5}$ $ТЦИД_{50}$/мл. В любом случае он должен быть доста-

точно высоким, чтобы можно было получить снижение титра на 4,0 $\log_{10}$.

Полиовирус размножают в перевиваемой культуре клеток RD и HEp-2 или в других чувствительных клеточных культурах (4647, Vero и т. д.). Для получения ВС культуру клеток, инфицированную вирусом полиомиелита на стадии 100 % поражения монослоя, вызванного цитопатическим действием вируса, трехкратно замораживают и оттаивают. После удаления разрушенных клеток центрифугированием, полученную суспензию используют в экспериментах.

Аденовирус размножают в перевиваемой клеточной культуре HEp-2, 4647 и в других чувствительных клеточных культурах. Методика получения ВС аналогична вышеописанной, за исключением того, что перед процедурой разрушения клеток методом замораживания-оттаивания, проводят замену культуральной среды на не содержащую сыворотки и добавляют ее в меньшем объеме.

Вирус гепатита А размножают в перевиваемой культуре клеток 4647. Для получения ВС флаконы инкубируют при 37 °С в течение 21—28 дней с еженедельной сменой среды. По окончании инкубации из флаконов удаляют среду поддержания, монослой промывают раствором Хенкса, добавляют подогретый до 37 °С раствор Версена, монослой обмывают диспергентом, раствор Версена сливают и добавляют 0,1М фосфатно-солевой буфер, pH 7,6.

Зараженные клетки ресуспендируют в фосфатно-солевом буфере, суспензию клеток пятикратно замораживают (–70 °С) и оттаивают при комнатной температуре. Полученный клеточный лизат, содержащий 6,5—7,0 $\log_{10}$ ВГА гомогенизируют и осветляют центрифугированием (3 000 об./5 мин), затем используют в качестве тест-вируса.

Супернатант аттестовывают на содержание антигена вирусного гепатита А методом ИФА. Оптическая плотность ($ОП_{450}$) испытуемых образцов, обработанных ДС, должна соответствовать $ОП_{450}$ контрольных образцов, не содержащих ВГА.

Методика определения инфекционного титра основана на выявлении антигена ВГА при титровании методом конечного разведения. Готовят 10-кратные разведения анализируемого материала на среде Игла МЕМ × 2. Каждым разведением вируса, начиная с 10^3, заражают не менее 4 одинаковых емкостей с плотным монослоем культуры клеток 4647. После инкубации в течение 21—28 дней супернатант аттестуют на содержание вирусного антигена методом ИФА. Инфекционные титры вы-

числяют по методу Рида и Менча или по методу Спермана-Кербера (прилож. 3).

Вирус гепатита В уток. Метод моделирования инфекции ВГВУ *in vivo*. Источником вируса при моделировании инфекции является сыворотка крови домашней утки, инфицированной ВГВУ *in vivo* при экспериментальном заражении вирусом с известными инфекционными свойствами. Для тест-вируса ВГВУ, используемого в каждом опыте по оценке ДС, должен быть определен инфекционный титр.

Важным моментом при подготовке опыта по испытанию ДС с помощью моделирования ВГВУ-инфекции домашних уток является определение численности опытных групп. По причине довольно широкой распространенности естественной ВГВУ-инфекции и отсутствия скрининга на ВГВУ в хозяйствах – поставщиках эмбрионов и утят на территории Российской Федерации перед закладкой опыта необходимо предварительное тестирование на ДНК ВГВУ для отвода от участия в опыте уток с естественной инфекцией. Ввиду максимальной восприимчивости к инфицированию ВГВУ утят в возрасте 1—3 дней целесообразно работать с утятами именно этого возраста, однако предварительный скрининг может привести к задержке эксперимента и, как следствие, к снижению числа восприимчивых к инфицированию особей. Поэтому рекомендуется увеличение опытных групп до 10—15 голов каждая с учетом потенциального числа утят с естественной ВГВУ-инфекцией, взятие крови у всех утят непосредственно перед введением опытного материала, определение ДНК ВГВУ в течение ближайшего времени и выведение из опыта утят с выявленной естественной ВГВУ-инфекцией.

После определения числа опытных групп проводят непосредственно обработку вируса ДС. Обработка ДС должна проводиться непосредственно перед введением материала уткам, при необходимости обработанный ДС вирусный препарат может храниться не более суток при 4 °С без снижения потенциальных инфекционных свойств.

Обработка вируса ДС проводится по стандартной методике с использованием суспензионного метода или метода батистовых тест-объектов.

Затем проводят нейтрализацию ДС по стандартной методике. Трехдневных утят размещают по 10 голов в изолированных клетках по числу групп эксперимента. Затем у всех утят берут кровь и используют для последующего ПЦР-анализа. После взятия крови уткам внутрибрюшинно вводят материал, полученный в результате обработки ВГВУ ДС. Показано, что внутрибрюшиное инфицирование ВГВУ так же эффективно,

как и внутривенное, но при этом менее травматично для животных. Каждой утке вводят 200 мкл материала, в каждой опытной группе используют соответствующий материал, обработанный выбранной концентрацией ДС. В позитивной и негативной группах таким же образом вводят соответствующий контрольный материал.

После получения данных по выявлению естественной ВГВУ-инфекции среди задействованных в эксперименте уток, позитивных по ВГВУ особей удаляют. У всех участвующих в эксперименте уток проводят взятие крови через 3 недели после инфицирования. Взятие крови и отделение сыворотки крови проводят таким же образом, как и при предварительном тестировании на естественную ВГВУ-инфекцию. В отобранных образцах проводят определение ВГВУ-инфекции в ПЦР. Оценка результатов эксперимента проводится по системе «да/нет», т. е. появление даже одного случая ВГВУ-инфекции в опытной группе рассматривается как инфицирование ВГВУ и, как следствие, указывает на недостаточные вирулицидные свойства анализируемой концентрации ДС.

Вирус диареи крупного рогатого скота размножают в клетках КСТ – перевиваемой культуре клеток коронарных сосудов сердца плода коровы. Вирус имеется в музее ГУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я. Р. Коваленко».

Вирус гепатита С человека размножают в культуре клеток по методике, разработанной в ГУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН.

Приложение 2
(справочное)

Метод батистовых тест-объектов

1. Подготовка эксперимента. Вирусной суспензией контаминируют батистовые тест-объекты (далее «тесты»).

В качестве тестов используют кусочки батиста размером 1 × 0,5 см, предварительно простиранного (т. е. освобожденного от крахмала) и проглаженного. Тесты помещают в стерильную чашку Петри и заливают ВС из расчета 0,05—0,1 мл жидкости на один тест (без сыворотки или с добавлением 40 % СКРС). Тесты подсушивают при комнатной температуре не менее 60 мин. Контаминированные ВС тесты используют в опытах. Тесты не следует заготавливать впрок, их контаминируют ВС *ex tempore.*

При исследовании вирулицидной активности готовят 3—5 концентраций раствора ДС на стерильной дехлорированной водопроводной воде из расчета 1,0 мл раствора на каждый тест.

2. Постановка эксперимента. В исследуемые растворы погружают контаминированные ВС тесты по 5 штук на каждую экспозицию.

Момент смачивания тестов раствором ДС является началом опыта и с этого момента отсчитывают экспозицию. Через 5, 15, 30, 45, 60 мин стерильным охлажденным пинцетом или петлей извлекают по 5 тестов, помещают их в пробирку с бусами (из стекла, пластика) с 5 мл стерильного раствора нейтрализатора, помещают в шуттель-аппарат на 10 мин.

2.1. По истечении каждой экспозиции смывной жидкостью заражают культуру клеток (мышей, уток). Культуру клеток, отмытую от ростовой среды, оставляют на контакт на 30—60 мин для адсорбции вируса. Затем клетки промывают раствором Хенкса и заливают поддерживающей средой с сывороткой. Клетки инкубируют в термостате при оптимальной для конкретного вируса температуре.

2.2. Критерием вирулицидной активности ДС является снижение количества вируса не менее, чем на 4 $\log_{10}$ при времени дезинфекционной выдержки не более чем 60 мин.

3. Контроль культуры клеток. С этой целью оставляют незараженными пробирки с культурой клеток и наблюдают в течение максимального срока опыта. При работе с культурой клеток в контрольных пробирках также, как и в опытных, при необходимости меняют поддерживающую среду в зависимости от изменения pH.

4. Контроль вируса. С этой целью 5 штук тестов, контаминированных вирусом, помещают в пробирку с 5 мл раствора Хенкса, выдерживают максимальную экспозицию, используемую в эксперименте; переносят в пробирки с 5 мл нейтрализатора и бусами, встряхивают в шуттель-аппарате в течение 10 мин и заражают культуру клеток (или другой чувствительный биологический объект) соответствующей дозой (0,2 мл или менее) жидкости, отмытой с тестов. Для выяснения количества жизнеспособного вируса проводят титрование.

Неспецифический цитопатический эффект (ЦПЭ) может быть при неполной нейтрализации дезинфектанта или цитотоксическом эффекте смеси «дезинфектант + нейтрализатор». Исключить неспецифический цитотоксический эффект в некоторых случаях удается путем дополнительного отмыва монослоя раствором Хенкса после контакта клеток с внесенной пробой с нейтрализатором в течение 60 мин для адсорбции вируса на поверхности клеток. По истечении этого времени добавляют поддерживающую среду. Избежать неполной нейтрализации можно путем тщательной отработки условий нейтрализации или поиска другого нейтрализатора.

5. Контроль контаминации вирусом тестов. С этой целью 5 штук тестов, контаминированных вирусом, помещают в пробирку с бусами и 5 мл физиологического раствора, отмывают в шуттель-аппарате в течение 10 мин и соответствующей дозой (0,2 мл или менее, как в опыте) жидкости, отмытой с тестов, заражают культуру клеток (или другой биологический объект). Для определения степени контаминации тестов вирусом проводят титрование.

6. Контроль полноты нейтрализации ДС. С этой целью 5 штук тестов (без вируса) помещают на максимальную экспозицию, используемую в эксперименте, в 5 мл раствора максимальной концентрации ДС. После этого тесты переносят на 5 мин в 5 мл раствора нейтрализатора, отмывают с бусами в течение 10 мин и вносят (по 0,2 мл или менее) смыв, с тестов в культуру клеток (или другой биологический объект).

Приложение 3
(справочное)

Статистическая обработка результатов

Определение 50 % дозы по методу Рида и Менча и по методу Спермана-Кербера

Титрование вируса в пробирочных культурах и на животных предусматривает определение дозы, при которой действие вируса (цитопатогенный эффект или гибель животных) проявляется в 50 % тест-объектов (пробирочных культур или животных), так называемых ТЦИД$_{50}$ или LD$_{50}$. Поскольку в большинстве случаев по данным титрования сразу не удается определить 50 % дозу, возникает необходимость в статистической обработке результатов. Результаты могут считаться статистически достоверными при соблюдении следующих условий:

1. Количество тест-объектов, зараженных одним разведением вируса, должно быть не менее 4.

2. В титрование должны быть включены два разведения вируса ниже 50 % дозы и два разведения вируса выше этой дозы.

Среди различных методов подсчета ТЦИД$_{50}$ или LD$_{50}$ наибольшее распространение получили метод полных кумулятивов Рида и Менча и метод определения «центральной величины» Кербера.

1. Метод Рида и Менча

(Reed L. J., Muench H. A. A simple method of estimating 50 % endpoints. Am. J. Hyd., 1938, 27, 493—497. Упрощенный вариант по книге Ворошиловой М. К., Жевандеровой В. И., Балаяна М. С. Методы лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций. М.: Медицина, 1964. С. 127—129. Статистическая обработка результатов).

Метод основан на логической предпосылке, что тканевая культура или животное, погибшие при заражении их каким-либо разведением вируса, погибнут и при заражении любым более низким разведением.

Пример подсчета показан в табл. 1.

Таблица 1

Подсчет 50 % дозы (ТЦИД$_{50}$) по методу Рида и Менча

Разведение вируса	Количество тест-объектов	Исходные данные		Кумулятивные данные		Процент гибели
		погибло	выжило	погибло	выжило	
10^{-5}	4	4	0	7	0	100
10^{-6}	4	2	2	3	2	60
10^{-7}	4	1	3	1	5	17
10^{-8}	4	0	4	0	9	0

Из табл. 1 видно, что 50 % доза находится между разведениями вируса 10^{-6} и 10^{-7}.

Далее расчет величины *X*, которую необходимо прибавить к разведению непосредственно ниже 50 % дозы (в $\log_{10}$), проводится по следующей формуле:

$$X = \frac{A-50}{A-B}, \text{ где} \qquad (1)$$

A – процент гибели при разведении, непосредственно ниже искомой 50 % дозы (в данном случае 60 %);

B – процент гибели при разведении непосредственно выше искомой 50 % дозы (в данном случае 17 %).

Подставляя полученные значения в формулу 1, находим:

$$X = \frac{60-50}{60-17} = 0,23$$

откуда титр вируса (в обратных $\log_{10}$) равен 6 + 0,23 = 6,23; другими словами, одна ТЦИД$_{50}$ или LD_{50} соответствует разведению вируса $10^{-6,23}$.

Если в титрование были взяты разведения вируса с интервалом 0,5 $\log_{10}$, то величину *X* в формуле 1 следует умножить на 0,5.

Поскольку при титровании вируса в пробирочных культурах обычно получаются четкие результаты и культуры со 100 % дегенерацией отделены от культур с полным отсутствием дегенерации всего одним разведением вируса, удобно пользоваться при подсчете титров по Риду и Менчу упрощенной схемой:

Количество пробирочных культур, зараженных разведением 10^{-n}	Количество культур с ЦПЭ	Процент культур с ЦПЭ	Титр вируса в $\log_{10}$
4	1	25	(n–1), 66
4	2	50	n, 0
4	3	75	n, 33
4	4	100	n, 50

Для вычисления ТЦИД$_{50}$ (количества цитопатогенных доз) вируса в 1 мл исследуемой жидкости к показателю величины титра вируса в $\log_{10}$ прибавляют в зависимости от количества вируссодержащего материала, взятого для заражения одной культуры, соответствующие величины поправок:

Объем материала в миллилитрах, взятого для заражения одной культуры	Величина поправки в единицах логарифма
0,2	0,7
0,25	0,6
0,3	0,52
0,4	0,4
0,5	0,3
0,6	0,22
0,7	0,16
0,8	0,1

Например, если во всех пробирочных культурах, зараженных по 0,2 мл материалом в разведении 10^{-4}, наблюдается цитопатогенный эффект, а в культурах, инокулированных разведением 10^{-6}, цитопатогенного эффекта не наблюдается (при инокуляции же разведением 10^{-5} цитопатогенный эффект отмечен в одной из четырех пробирок), то титр вируса в $\log_{10}$ будет равен $10^{4,66}$. Содержание же его в 1 мл будет равно $10^{5,36}$ **ТЦИД$_{50}$**.

2. Определение ТЦИД$_{50}$ вируса по методу Спермана-Кербера

ТЦИД$_{50}$ представляет собой отрицательный десятичный логарифм наибольшей использованной концентрации вируса, умноженной на логарифм разведения, т. е. сумма % пораженных клеток в каждом разведении/100—0,5 × $\log_{10}$ разведения.

Таблица 1

Пример результата титрования

Разведения, $-\log_{10}$	Результаты по ЦПД*	Процент (%) культур с наличием ЦПД
–4	4, 4, 4, 4, 4, 4	100
–5	4, 4, 3, 4, 4, 4	100
–6	4, 4, 3, 3, 0, 0	66,7
–7	4, 2, 0, 0 , 0, 0	33,3
–8	0, 0, 0, 0, 0, 0	0
Сумма % с ЦПД		300

Примечание : * – от 1 до 4 – плюсовая система %-го выражения гибели клеточных культур (1+ = 25 %, 2+ = 50 %, 3+ = 75 % и 4+ = 100 %), 0 = отсутствие ЦПД.

Формула расчета ТЦИД$_{50}$ по этим данным:

$-4 - [\{(100 + 100 + 66,7 + 33,3 + 0)/100\} - 0,5] \times 1 = -4 - [^{300}/_{100} - 0,5] \times 1 =$
$= -4 - 2,5 = 6,5.$

Таким образом, ТЦИД$_{50}$ будет равно $10^{-6,5}$ или 6,5 $\log_{10}$ ТЦИД$_{50}$

3. Метод бляшек

Для расчета среднего значения количества бляшек используется следующая формула:

$$БОЕ/t = \frac{\sum c_1 + c_2 .... c_n}{n_1 + n_2 \times v_2 + ... n_n \times v_n) x d}, \text{ где}$$

t – объем, добавляемый в лунку при каждом шаге разведения;

c_1 – число БОЕ во всех лунках наименьшего разведения, при котором возможен учет (уже не сливные бляшки);

c_2 – число БОЕ во всех лунках следующего разведения;

c_n – число БОЕ во всех лунках последнего разведения;

n_1 – количество всех лунок наименьшего разведения с не сливными бляшками (соответствует C_1);

n_2 – число всех лунок второго разведения с не сливными бляшками (C_2);

v_2 – фактор разведения между n_1/n_2 (например, $n_1 = 10^{-3}$ и $n_2 = 10^{-4}$, то $v_2 = 0,1$);

n_n – количество всех лунок последнего разведения, при котором имеются бляшки (c_n);

v_n – фактор разведения между n_1 и n_n (например, $n_1 = 10^{-3}$ и $n_n = 10^{-6}$, то $v_n = 0,0001$);

d – шаг разведения c_1.

Вычисления проводятся с целыми числами, если последнее число меньше 5, то оно остается неизменным; если оно больше 5, то округляется до следующего целого числа.

Пример:

$$БОЕ/t \quad \frac{(52+48+49)+(25+27+31)+(5+6+7)}{[3+(3\times 0,1)+(3\times 0,01)]\times 10^{-3}} = \frac{250}{3,33\times 10^{-3}} =$$

$$= 75\,075,075 = \lg 4,875 = \lg 4,875 = \lg 4,9$$

Если объем, добавляемый при разведении, равен 0,2 мл, то БОЕ/мл = = $\log_{10}$ 5,6

Приложение 4
(рекомендуемое)

Схема написания научного отчета о результатах изучения вирулицидной активности ДС

В научном отчете по результатам исследования вирулицидной активности дезинфицирующего средства приводятся следующие сведения:

1. Наименование средства, субстанции, вещества.
2. Фирма (организация)-изготовитель.
3. Дата изготовления, номер партии, упаковка.
4. Состав средства, процентное содержание действующих веществ, внешний вид, консистенция, цвет, запах.
5. Результаты входного химического контроля из аккредитованной химической лаборатории (номер, дата, аккредитация), номер партии, дата изготовления образца, метод исследования.
6. Даты проведения испытаний, номера протоколов по рабочему журналу.
7. Методы испытаний (исследований) с указанием нормативно-методического документа.
8. Тест-вирус, исходный титр на конкретной биологической модели.
9. Перечень использованных тест-объектов, количество тест-вируса до и после воздействия раствора дезинфицирующего средства (или готового к применению).
10. Обобщенные данные в виде таблицы с результатами эффективных и неэффективных концентраций растворов и экспозиций.
11. Предлагаемые режимы дезинфекции для включения в инструкцию по применению средства и формулировка о вирулицидной активности в п. 1.2 инструкции.
12. Заключение.

Подписи конкретных исполнителей с указанием должности, ученой степени, звания – в конце отчета, с указанием даты подписания. Утверждающая подпись руководителя учреждения или испытательного лабораторного центра (испытательной лаборатории), где выполнено исследование – на первом листе отчета с указанием даты утверждения.

Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств

Методические указания
МУ 3.5.2431—08

Редакторы Л. С. Кучурова, Е. В. Николаева
Технический редактор Г. И. Климова

Подписано в печать 25.02.10

Формат 60x88/16 Печ. л. 2,5
Тираж 500 экз. Заказ 15

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru