

**Про затвердження методичних рекомендацій "Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів"**

Відповідно до вимог статті 40 Закону України "Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення" та з метою науково-методичного забезпечення діяльності державної санітарно-епідеміологічної служби з питань застосування дезінфікуючих засобів, зокрема в осередках вірусних інфекцій для їх профілактики, НАКАЗУЮ:

1. Затвердити методичні рекомендації "Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів" (додаються).
2. Департаменту організації санітарно-епідеміологічного нагляду МОЗ довести методичні рекомендації "Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів" до установ і закладів державної санітарно-епідеміологічної служби України, міністерств, інших центральних органів виконавчої влади в установленому порядку.
3. Визнати наказ МОЗ від 26.05.2006 N 333 "Про затвердження тимчасових методичних рекомендацій "Визначення віруліцидної активності дезінфекційних препаратів" таким, що втратив чинність.

Контроль за виконанням цього наказу залишаю за собою. Перший заступник Міністра, головний державний санітарний лікар України О.М. Біловол

**ЗАТВЕРДЖЕНО**

Наказ Міністерства  
охорони здоров'я України  
08.04.2009 N 231

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

**"Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів"**

**1. Загальні положення**

Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів є основною вимогою для їх успішного і коректного практичного застосування у відповідності до призначення.

В залежності від кінцевої мети їх застосування дезінфікуючі засоби можна розподілити на три категорії:

- засоби для заключної дезінфекції медичних інструментів, коли не можливо провести їх остаточну стерилізацію сухим жаром або автоклавуванням. У цьому випадку слід застосовувати тільки дезінфектанти з віруліцидною дією;
- засоби для дезінфекції шкіри рук, коли віруліцидна дія дезінфектанту повинна узгоджуватися з його нешкідливістю для людини при місцевому застосуванні. Так як у більшості випадків на першому місці перебуває захист від вірусів, що мають оболонку, не стійких до дії зовнішніх чинників, або таких, що передаються з кров'ю і біологічними рідинами, більш доцільним є застосування засобів з "обмеженою віруліцидною дією";
- засоби для дезінфекції поверхонь. У більшості випадків вони застосовуються тоді, коли збудник відомий. При цьому, з метою повсякденної дезінфекції, може бути вибраний найбільш прийнятний засіб з урахуванням спектру його дії.

На сьогодні, у зв'язку з надходженням в Україну численних дезінфікуючих засобів з різних країн світу, виникає необхідність у виданні Методичних рекомендацій, призначених для забезпечення стандартизованого підходу до їх тестування та дослідження на сучасному рівні їх віруліцидних властивостей, тобто впливу на віруси, що знаходяться поза клітинами, на об'єктах довкілля.

Методи дослідження віруліцидної активності дезінфікуючих засобів, у значній мірі, залежать від властивостей та області застосування досліджуваних препаратів. При

зnezараженні різних об'єктів (вироби медичного призначення, посуд, білизна, поверхні предметів, біоматеріал) розробляють найбільш ефективні режими дезінфекції в залежності від концентрації діючої речовини та часу обробки.

Методичні рекомендації по визначенню віруліцидної активності дезінфекційних і миючих засобів в Україні підготовлені вперше. В їх основу покладено методичні матеріали, що використовувалися з аналогічною метою в колишньому Радянському Союзі [1, 2] та методичні рекомендації, видані Міністерством охорони здоров'я республіки Беларусь [3]. У запропонованих нами методичних рекомендаціях враховано також власний набутий досвід та сучасні підходи до проведення таких досліджень провідними виробниками дезінфекційних засобів європейських країн.

Методичні рекомендації призначені для вірусологічних лабораторій, які проводять тестування віруліцидних властивостей дезінфекційних засобів, що використовуються для дезінфекції, обробки та миття предметів і поверхонь в осередках вірусних інфекцій, у лікувальних і дитячих закладах, у лабораторіях відповідного профілю, а також у закладах громадського харчування та в побуті.

2. Вибір тест-вірусів для визначення віруліцидної активності дезінфікуючих засобів  
Згідно з Європейським законодавством для характеристики дезінфікуючих засобів рекомендують застосовувати поняття "обмежено віруліцидний" та "віруліцидний", відповідно до їх активності по відношенню до складних і простих вірусів [8]. Це доцільно, оскільки "віруліцидної дії" досягти значно важче, ніж "обмежено віруліцидної", і це потрібно не у всіх випадках. Застосування таких широко вживаних визначень як "інактивуючий віруси", "діючий на", "активний по відношенню до", які зустрічаються при характеристиці дезінфектантів, сьогодні вважаються застарілими і не прийнятними. Дослідження віруліцидних властивостей дезінфікуючих засобів повинно проводитись у сертифікованих лабораторіях, які мають дозвіл на роботу з вірусами визначеної групи патогенності.

Визначення віруліцидної активності дезінфікуючих засобів здійснюється з обов'язковим використанням моделей простих і складних вірусів. Прості віруси (поліовіруси, віруси Коксаки А, В, ЕСНО, віруси гепатиту А, адено-, ротавіруси тощо) не мають суперкапсидної оболонки, тому вони надзвичайно стійкі до дії зовнішніх чинників фізичної та хімічної природи, у тому числі і до кислот, лугів, більшості детергентів, четвертинних амонієвих солей, дезінфекційних засобів.

Складні віруси (віруси грипу, парагрипу, кору, краснухи, герпесу, ВІЛ тощо) мають багату на ліпіди суперкапсидну оболонку, тому вони швидко інактивуються під впливом різноманітних фізико-хімічних факторів, органічних розчинників, дезінфікуючих засобів. При великій кількості відомих збудників вірусних інфекцій (див. додаток 1), а також у зв'язку з методичними обмеженнями (неможливість адаптації багатьох вірусів до умов культивування *in vitro* або їх велику небезпеку для дослідника) не доцільно проводити прямі випробування ефективності дезінфікуючих засобів при їх дії на віруси всіх родин. Так, дослідження віруліцидної дії дезінфектантів по відношенню до ВІЛ передбачає проведення випробувань при культивуванні інфекційне активного вірусу в клітинних системах. Однак у зв'язку з небезпекою ВІЛ (другий ступінь захисту) проведення прямих випробувань можливо тільки у лабораторіях з особливим режимом роботи. Незаперечним є те, що у світі не існує клітинної системи для культивування вірусу гепатиту В, і тому немає прямих методів випробування його інфекційної активності і відповідно валідованої системи для визначення віруліцидної дії дезінфектантів по відношенню до цього вірусу. Тому, аналогічно з дослідженням бактерицидності, для прийняття аргументованих рішень про ефективність віруліцидної активності дезінфікуючих засобів необхідно відбирати репрезентативні тест віруси з характерними властивостями.

Модельні віруси або тест-віруси повинні відповідати наступним вимогам:

бути адаптованими до культивування в культурі клітин в умовах вірусологічної лабораторії;

викликати характерну тканинну ЦПД у культурі клітин;  
мати високий інфекційний титр при культивуванні в чутливій культурі;  
бути відносно безпечними для персоналу лабораторії. Тому, як тест-віруси використовують:

Вірус грипу типу А - складний РНК-геномний вірус, представник родини ортоміксовірусів, відносно чутливий до дії зовнішніх чинників.

Поліовірус типу 1, вакцинний штам LSc2ab - РНК-геномний вірус, представник родини пікорнавірусів, високорезистентний вірус, інактивація якого гарантує аналогічний ефект по відношенню до збудників вірусних гепатитів, ротавірусних гастроентеритів, до вірусів ЕСНО, Коксакі та інших вірусних патогенів [9];

Аденовірус типу 2, - простий ДНК-геномний вірус, представник родини аденовірусів, стійкий до дії зовнішніх чинників;

Ротавірус мавп штам SA-11 - простий РНК-геномний вірус, представник родини реовірусів, роду Ротавірус, дуже стійкий до дії зовнішніх чинників.

### 3. Живильні середовища і сольові розчини

З метою стандартизації досліджень віруліцидної дії дезінфекційних засобів повинні використовуватись живильні середовища, сироватки, сольові розчини, які одержують від виробника (постачальника) з сертифікатом відповідності та вказаним терміном придатності. Використання не сертифікованих середовищ, сироваток і сольових розчинів, а також зазначених препаратів після закінчення терміну їх придатності при проведенні випробувань не дозволяється.

### 4. Культивування чутливих культур клітин

Чутливі до тест-вірусів перещеплювальні культури клітин (клітинні лінії) одержують із Банку клітинних культур або спеціалізованих лабораторій з відповідним паспортом, в якому вказані її основні характеристики і умови культивування. У лабораторії проводять поточне пасажування одержаних клітинних ліній стандартним методом. Клітинні лінії використовують для культивування тест-вірусів і проведення випробувань дезінфекційних засобів. Допускається використання клітинних культур, які пройшли до 15 пасажувань. Вважається, що після 15 пасажу підвищується ймовірність мутацій клітин, що впливає на їх чутливість до відповідних вірусів, та їх контамінації вірусами, мікроорганізмами, мікоплазмою, клітинами інших ліній.

При проведенні випробувань використовують такі клітинні лінії:

MDCK - перещеплювальна культура клітин нирки собаки, чутлива до тест-вірусу грипу типу А;

RD - перещеплювальна культура клітин рабдоміосаркоми людини, чутлива до тест-вірусу поліомієліту типу 1;

HEp-2 штам Cincinnati - перещеплювальна культура клітин аденокарциноми гортані людини, чутлива до поліовірусу типу 1, ротавірусу, аденовірусу типу 2;

Vero - перещеплювальна культура клітин нирки африканської зеленої мавпи, чутлива до поліовірусу типу 1, ротавірусу, аденовірусу типу 2.

### 5. Культивування та визначення інфекційного титру тест-вірусів

5.1. Культивування та визначення інфекційного титру вірусу грипу А поліовірусу типу 1, аденовірусу типу 2

Віруси грипу А, поліовірус типу 1, аденовірус типу 2 культивують у чутливих культурах клітин, зазначених у розділі 4. Ростове середовище та середовище підтримки готують згідно з даними, зазначених у паспорті до кожної культури клітин. Суспензію

4

клітин відповідної культури в посівній концентрації  $5 \times 10^6$  кл/мл, або такій, яку вимагає паспорт, культивують 36 град.С до утворення клітинного моношару, якість якого контролюють при мікроскопічному дослідженні. Після закінчення культивування ростове середовище

видаляють. Суспензію відповідного вірусу, який використовується для культивування, змішують з підтримуючим середовищем, що містить 2% сироватки крові ембріонів корів у співвідношенні 1:10 і вносять у культуральний флакон, інфікуючи чутливі клітини. На 2-7-у добу культивування відбувається максимальне накопичення вірусів, про що свідчить прояв їх ЦПД. Для підвищення виходу вірусів допускається проведення додаткових пасажувань.

Інфекційний титр вірусу у культуральній рідині визначають при титруванні стандартним методом та обчислюють за методом Кербера [4]. Для визначення віруліцидної дії дезінфекційних засобів використовують культуральну рідину з інфекційним титром вірусу грипу А, поліовірусу типу 1, аденовірусу типу 2 в ній не нижче за 7,0 Іг ЦПД /мл. Одержану культуральну рідину аліквотують і

50

зберігають при -20 град.С до моменту використання.

## 5.2. Культивування та визначення інфекційного титру ротавірусу SA-11

Суспензію клітин культури HEp-2 або Vero у посівній

4

концентрації 5 x 10 кл/мл у ростовому живильному середовищі на основі середовищ 199 і ДМЕМ у рівних співвідношеннях з додаванням 5% сироватки крові ембріонів корів та антибіотиків (100 Од/мл пеніциліну і 100 мгк/мл стрептоміцину) вміщують у культуральні флакони (матраци) і культивують при 37 град.С до утворення клітинного моношару, якість якого контролюють при мікроскопічному дослідженні. Після цього ростове середовище видаляють, а клітинні моношари двічі промивають розчином Хенкса з антибіотиками. Готують розчин трипсину для культури клітин з кінцевою концентрацією 20 мкг/мл у підтримуючому живильному середовищі без сироватки. До 3 частин одержаного розчину трипсину додають 1 частину культуральної рідини, що містить ротавірус SA-11. Одержану суміш наносять на відмиті клітинні моношари. Ротавірус культивують при 37 град.С впродовж 48-72 годин. ЦПД ротавірусу SA-11 відзначається появою осередків округлення і дегенерації клітин, які поступово відшаровуються від поверхні росту. Клітини, що залишилися прикріпленими мають зернисті включення в цитоплазмі та утворюють міжклітинні містки. Поступово і решта клітин дегенерують та руйнуються, переходячи у суспензію. Одержану культуральну рідину титрують, розливають на аліквоти і зберігають при -20 град.С до моменту використання.

Оцінка цитопатичної дії ротавірусу мікрометодом. Чутливі до ротавірусів культури клітин (HEp-2 або Vero) культивують у лунках культурального планшета. Після формування клітинних моношарів і контролю їх якості під інвертованим мікроскопом, ростове середовище з лунок видаляють. Клітинні моношари двічі промивають розчином Хенкса для видалення залишків ростового середовища, що містить сироватку. Після промивання розчин з лунок повністю видаляють.

У пробірках готують серійні 10-разові розведення

-1 -5

вірусомісної рідини від 10 до 10<sup>-5</sup>. З метою протеолітичної активації серійні розведення ротавірусу готують у підтримуючому середовищі без сироватки з додаванням трипсину в кінцевій концентрації 5-10 мкг/мл. Проби у відповідних розведеннях

переносять у лунки планшета з моношарами культури, вирощеними на покривних скельцях. На кожне розведення вірусомісної рідини використовують по 2 або 4 клітинні моношари. Ротавірус культивують при 37 град.С в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> впродовж 18-24 годин. Визначають

2

ЦПД ротавірусу та розраховують його інфекційний титр за методом Кербера. При проведенні випробувань використовують суспензію тест-вірусу з інфекційним титром не нижчим за 4,0 lg ТЦД /мл.

50

5.3. Метод титрування вірусів з використанням цитофлюориметричного критерію  
Як критерій для виявлення вірусів можна використовувати не ЦПД, а реєстрацію вірусоспецифічних включень в препаратах клітин, пофарбованих флюорохромом акрединовим оранжевим [7]. У них легко виявляються поодинокі інфіковані клітини з вірусоспецифічними включеннями серед великої кількості неінфікованих клітин. Слід зазначити, що для виявлення вірусів при звичайному обліку за їх ЦПД (на 2+) необхідно, щоб було уражено не менше половини клітин моношару.

Завдяки цитоморфологічному критерію оцінки можна віднайти віруси при значно менших їх концентраціях у матеріалі, що досліджується, ніж за допомогою обліку за ЦПД. Застосування цитоморфологічного критерію дозволяє визначати віруси за зовнішнім виглядом вірусоспецифічних включень. Ці особливості методу звільняють від необхідності проводити додаткові пасажування і значно скорочують тривалість досліджень.

Метод титрування вірусів з використанням цитофлюориметричного критерію виконують так. Культури чутливих до тест-вірусів клітин вирощують у культуральних планшетах на скляних або полістиролових покривних скельцях. Після закінчення культивування вірусомісну рідину із лунок планшета обережно видаляють, а клітини промивають розчином Хенкса. Готують серійні десятиразові розведення

-1 -4

тест-вірусів у підтримуючому середовищі від 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-4</sup> і наносять на відповідні клітинні моношари, використовуючи по 2 лунки на кожне розведення вірусу. Віруси культивують при 37 град.С в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> впродовж 18-24 годин (аденовіруси 48 годин).

2

Після закінчення культивування вірусомісну рідину із лунок планшета видаляють, а клітини промивають фізіологічним розчином. Покривні скельця з інфікованими клітинними моношарами, не виймаючи з лунок, висушують на повітрі. Клітини фіксують у 70% водному розчині етилового спирту впродовж 5 хвилин, у 96% етиловому спирті впродовж 5 хвилин, фарбують у 0,01% водному розчині акридинового оранжевого впродовж 10 хвилин при кімнатній температурі. Пофарбовані клітинні моношари двічі промивають у дистильованій воді і монтують на предметні скельця, герметизуючи їх парафіном або скотчем. Препарати досліджують під люмінесцентним мікроскопом, підраховуючи кількість інфікованих клітин на 1000 клітин.

Інфіковані ротавірусом SA-11 клітини мають трикутну або видовжену форму, яскраво зелене або жовте ядро з одним або кількома ядерцями, та забарвлену в інтенсивний червоний колір цитоплазму в перинуклеарній області, яка має вигляд яскравих галстуків. Не інфіковані клітини мають округлу форму з яскраво зеленим ядром та цитоплазмою, забарвленою у темно-жовтий або коричневий колір.

Інфіковані аденовірусом типу 2 клітини мають гранулярні внутрішньоядерні включення яскравого салатого або жовтуватого-зеленого кольору. Від оболонки ядра ці включення

відділені прозорою зеленуватою каймою. Ядерця у вигляді округлих червоних утворень диференціюються чітко і за розмірами значно менші за специфічні яскраві аденовірусні включення. Ядро клітини значно збільшене за розмірами, багатолопатевої форми, має вигляд віночка квітки.

У додатку 2 наведені приклади порівняльної оцінки виявлення інфікованих тест-вірусами клітин за ЦПД та за кількістю клітин з вірусоспецифічними включеннями після фарбування акридиновим оранжевим.

#### 6. Методи визначення віруліцидної активності дезінфікуючих засобів

Серед методів визначення віруліцидної активності дезінфекційних засобів найбільш поширеними є суспензійний метод та різні модифікації методу тест-об'єктів. Кожний з них має свої переваги та недоліки, які обумовлюють коректність їх застосування при проведенні випробувань.

Обов'язковою умовою випробувань є їх проведення в трьох повторях. У разі обліку результатів за ЦПД при отриманні негативних результатів в основному досліді здійснюють 2 додаткових пасажування дослідного матеріалу.

Суспензійний метод:

дозволяє забезпечити контакт досліджуваного дезінфекційного засобу з концентрованим вірусомісним матеріалом у рідкому середовищі;

надає можливість моделювання дезінфекції біологічних рідин (варіант з білковим навантаженням);

відносно безпечний при виконанні для персоналу лабораторії;

не застосовується при відсутності прийнятних способів припинення дії дезінфектанту після завершення експозиції з вірусомісною рідиною.

Метод тест-об'єктів:

застосовується при відсутності прийнятних способів припинення дії дезінфектанту або миючого засобу;

дозволяє краще змоделювати ситуацію з використанням реальних предметів;

дозволяє безпосередньо вивчати ефективність дезінфекції;

не дозволяє створення високого вірусного навантаження на тест-об'єктах.

#### 6.1. Приготування розчинів дезінфікуючих засобів та нейтралізаторів

При проведенні досліджень суспензійним методом досліджувані дезінфекційні засіб розчиняють у стерильній дистильованій воді, або змішують з відповідним об'ємом води так, щоб його кінцева концентрація в розчині була в 2 рази більшою, ніж рекомендовано в інструкції по застосуванню засобу. Це обумовлено тим, що при проведенні випробувань розчин досліджуваного препарату змішується з вірусомісною рідиною у рівних співвідношеннях, при цьому його концентрація зменшується в 2 рази, досягаючи рекомендованих для практичного застосування значень.

Для запобігання прояву цитотоксичної дії дезінфектанту на клітини культури, яка використовується для визначення залишкової інфекційної активності тест-вірусу за його цитопатичною дією, перед внесенням на моношар культури клітин дезінфекційний засіб повинен бути нейтралізований.

Для нейтралізації дезінфекційних засобів використовують такі речовини:

для галоїдовміщуючих препаратів, перекісних сполук як нейтралізатор використовують 0,5-1,0% розчин гіпосульфїту натрію;

для альдегідів - 0,5-1,0% розчин аміаку чи бісульфїту натрію;

для кислот - 0,5% розчин їдкої натрію чи калію, або 0,5% розчин бікарбонату натрію;

для лугів - 0,5-1,0% розчин оцтової кислоти;

для четвертинних амонієвих сполук, амфолїтів - 0,2% розчин сульфанолю в 10% розчині молока;

для препаратів з невідомим нейтралізатором, а також для препаратів, що добре розчиняються у воді (фенольного ряду), використовують дворазове промивання у воді. Розчини нейтралізаторів стерилізують і зберігають за відповідних умов.

## 6.2. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів суспензійним методом

Виконання дослідження. Змішують рівні об'єми вірусомісної рідини (з відповідним інфекційним титром тест-вірусу в ній) та досліджуваного дезінфекційного засобу, кінцева концентрація якого в розчині в 2 рази перевищує ту, що вказано в інструкції по застосуванню. Ефективність дезінфектанту досліджують без білкового навантаження та при його наявності, використовуючи певні концентрації дезінфектанту та відповідні експозиції. При випробуванні дезінфектантів, що призначені для обробки рук, час експозиції в даному тесті становить 1 хвилину або 30 секунд, якщо в інструкції виробником не передбачено інакше. Після завершення експозиції до суміші вірус - дезінфектант додають рівну кількість розчину нейтралізатору і витримують 5 хв., після чого готують послідовні десятиразові серійні розведення одержаних дослідних проб та контролю вірусу в підтримуючому живильному середовищі від -1 -4

10 до 10<sup>-4</sup>. Титр вірусу в них та залишкову інфекційність визначають як описано в розділі 5.

Контролі: кожен дослід супроводжують наступними контролями:

1. Контроль клітинної культури - залишають незараженими по 4 пробірки або 10 лунок з клітинним моношаром протягом всього терміну спостереження;
2. Контроль вірусу (замість дезінфектанту використовують стерильну дистильовану воду);
3. Контроль вірусу у суміші з білковим навантаженням;
4. Контроль токсичності суміші дезінфектанту з нейтралізатором;
5. Контроль повноти нейтралізації дезінфектанту.

Контроль дезінфікуючої дії (референс-дезінфектант): паралельно до основного дослідження виконують дослідження формальдегіду при рН 7,0 без сироватки. Концентрація останнього повинна бути 0,7 г/100 мл. Для виконання цього контролю одну частину вірусомісної рідини змішують з 4 частками розчину Хенксу і 5 частками 1,4% розчину формальдегіду

Результат. Результат випробування віруліцидної дії дезінфекційного засобу щодо відповідного тест-вірусу вважається позитивним, якщо досягається зменшення інфекційного титру тест-вірусу не менше ніж на 4,0 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл у порівнянні з контролем.

## 6.3. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів методом тест-об'єктів

6.3.1. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів на батистових тест-об'єктах  
Підготовка батистових тест-об'єктів. Тест-об'єкти - це шматочки батисту розміром (1 x 0,5 см), попередньо звільненого від крохмалю. Вірусомісну рідину для контамінації тест-об'єктів готують як вказано у розділі 5. Батистові тест-об'єкти кладуть у стерильну чашку Петрі і контамінують вірусомісною рідиною, додаючи її з розрахунку 0,05-0,1 мл рідини на кожний тест-об'єкт. Всі тест-об'єкти добре змочуються. Через 20 хвилин зайву рідину промокають стерильним фільтрувальним папером, а шматочки батисту підсушують у термостаті при 37 град.С або в ексикаторі з хлористим кальцієм протягом 30 хв. Готові тест-об'єкти повинні бути використані в день приготування, для запобігання зменшенню інфекційної активності вірусу під дією зовнішніх чинників. Кількість вірусу на тест-об'єктах повинна бути максимально можливою, що важливо для компенсування його втрати при наступній обробці тест-об'єктів.

Виконання дослідження. При визначенні віруліцидних властивостей препарату готують 3-5 концентрацій розчину на дистильованій воді з розрахунку 1,0 мл розчину на кожний тест-об'єкт (робочі розчини). У разі підтвердження випробувань готують робочі розчини дезінфекційного засобу в таких концентраціях: 1) кінцева концентрація дезінфектанту відповідає зазначеній в інструкції; 2) кінцева концентрація препарату в 2 рази перевищує

зазначену в інструкції; 3) кінцева концентрація препарату в 2 рази нижча за вказану в інструкції.

У робочі розчини занурюють підготовлені тест-об'єкти з розрахунку 5 штук на кожен експозицію. Легким погойдуванням ємності з розчином досягають повного змочування всіх тест-об'єктів. Момент повного змочування тест-об'єктів вважають початком досліду. Випробування проводять при кімнатній температурі (18-24 град.С). Після закінчення заданих експозицій стерильним охолодженим пінцетом чи петлею виймають по 5 тест-об'єктів і занурюють їх у пробірку з 5 мл стерильного розчину нейтралізатора на 5 хв. Після цього стерильною петлею тест-об'єкти переносять у відповідні пробірки зі скляними кульками та 5 мл стерильного фізіологічного розчину, які струшують протягом 10 хвилин. Одержаною рідиною з кожної пробірки інфікують по 4 клітинні моношари. Для цього у пробірки вносять по 0,8 мл підтримуючого середовища та 0,2 мл рідини, одержаної після відмивання тест-об'єктів. При використанні мікрометоду у лунки вносять 100 мкл підтримуючого середовища та 100 мкл рідини після відмивання тест-об'єктів. Інфіковані клітини інкубують при 37 град.С, при мікрометоді - у СО інкубаторі впродовж 5-7 діб.

2

Щоденно спостерігають за розвитком ЦПД тест-вірусу, або визначають наявність інфікованих клітин через 24 години після інфікування при фарбуванні клітинних моношарів акридиновим оранжевим як описано у розділі 5.

Якщо в клітинних культурах не спостерігається цитопатичного ефекту, спричиненого тест-вірусом, то додатково роблять 2 пасажі. При відсутності специфічної зміни в клітинних культурах тест-віруси вважають повністю інактивованими. При оцінці результатів за підрахунком кількості клітин після фарбування акридиновим оранжевим, тест-вірус вважають повністю інактивованим, за умов повної відсутності інфікованих клітин в досліджуваних препаратах.

Контролі:

1. Контроль клітинної культури - залишають не зараженими по 4 пробірки (лунки) з моношаром клітинних культур і спостерігають максимальний термін досліду. Через 24 години як у дослідних, так і в контрольних пробірках змінюють підтримуюче середовище. Впродовж спостереження підтримуюче середовище змінюють у залежності від зміни рН.
2. Контроль вірусного навантаження при контамінації тест-об'єктів - 5 штук заражених тест-об'єктів занурюють у пробірку зі скляними кульками та 5 мл стерильного фізіологічного розчину. Пробірки струшують впродовж 10 хвилин. Одержану рідину використовують для інфікування клітинних культур.
3. Контроль збереження життєздатності вірусу - 5 штук заражених тест-об'єктів занурюють у пробірку з розчином Хенкса, витримують максимальну експозицію, після чого переносять на 5 хв. у 5 мл нейтралізатора, а потім у 5 мл фізіологічного розчину, де струшують зі скляними кульками 10 хв. та інфікують відповідною дозою рідини, відмиті з тестів, 4 клітинні моношари. Для з'ясування кількості збереженого вірусу проводять титрування.
4. Контроль повноти нейтралізації дезінфектанту - 5 штук незаражених тест-об'єктів занурюють на максимальну експозицію в 5 мл розчину дезінфектанту максимальної концентрації, після чого переносять тест-об'єкти на 5 хв. у 5 мл розчину нейтралізатора, потім - у 5 мл фізіологічного розчину. Струшують зі скляними кульками протягом 10 хв. Вносять відповідну кількість рідини в 4 пробірки (лунки) з моношаром клітинних культур.



Висновок про повноту нейтралізації дезінфектанту роблять на підставі відсутності токсичної дії на культуру клітин протягом всього періоду спостереження.

5. Контроль дезінфікуючої дії (референс-дезінфектант): Паралельно основному дослідю виконують дослідження дезінфікуючої дії 0,7% розчину формальдегіду при рН 7,0 без сироватки. Для виконання цього контролю одну частину вірусомісної рідини змішують з 4 частками розчину Хенкса 5 частками 1,4% розчину формальдегіду.

Кожний дослід виконують тричі.

Результат. При виконанні сертифікаційних досліджень дезінфекційний засіб вважається таким, що відповідає вимогам, якщо він повністю інактивує інфекційну активність тест-вірусу при використанні його за умов, зазначених в інструкції.

При виконанні скринінгових досліджень (пошуку нових дезінфектантів) після встановлення наявності віруліцидних властивостей у дезінфікуючого засобу, вивчають залежність ефективності його дії від концентрації діючої речовини, часу впливу, температури, реакції середовища.

Вплив температури на активність дезінфікуючого засобу вивчають при знезараженні контамінованих батистових тест-об'єктів з використанням водяної бані.

При вивченні впливу рН середовища на активність препарату готують ряд розведень з різними значеннями рН шляхом підкислення 0,1 N розчином оцтової чи іншої кислоти, чи підлужуванням 0,1 N розчином лугу. Порядок проведення дослідів такий же, як з інфікованими тест-об'єктами (описано вище).

6.3.2. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні посуду

При знезараженні посуду як тест-об'єкти використовують тарілки, склянки, емальовані кружки, виделки, ложки.

Виконання дослідження. Чистий посуд (тарілки, склянки) контамінують вірусомісною рідиною, яку наносять піпеткою з розрахунку 0,5 мл на 100 кв.см поверхні і рівномірно розподіляють його стерильним скляним шпателем. Виделки і ложки занурюють у вірусомісну рідину на 1-2 хв. так, щоб ручки залишалися незараженими. Заражений посуд підсушують при кімнатній температурі. Після висихання посуд повністю занурюють у дезінфікуючий розчин. Витрата розчину складає, приблизно, 2 л на комплект посуду: чашка, блюдо, 2 тарілки, ложка, вилка, ніж. Через визначені проміжки часу посуд витягають з дезінфікуючого розчину і перевіряють ефективність знезараження. Для цього стерильними марлевими серветками розміром (3 x 3) см ретельно протирають заражену частину кожного предмету. Серветки нейтралізують у 5 мл нейтралізатора. Після чого вміщують їх у стерильну широку пробірку з розчином Хенкса та скляними кульками і відмивають струшуючи протягом 10 хв. Цією рідиною заражають по 4 пробірки (лунки) з моношаром клітинної культури.

Контролі. Контролем є аналогічно контамінований посуд, занурений на максимальну експозицію в стерильну або кип'ячену водопровідну воду. Після чого з посуду беруть пробу як і в досліді. Вірусне навантаження визначають титруванням.

Результат. При виконанні сертифікаційних досліджень дезінфекційний засіб вважається таким, що відповідає вимогам, якщо він повністю при зазначених концентраціях та експозиціях інактивує інфекційну активність тест-вірусу.

При одержанні позитивного результату знезараження чистого посуду переходять до знезараження посуду, забрудненого залишками їжі. Для цього манну кашу, зварену на молоці і заправлену вершковим маслом змішують з вірусомісною рідиною з розрахунку 9 г каші на 1 мл суспензії вірусу і наносять рівномірно на поверхню посуду. Методика знезараження посуду і відбір проб виконуються аналогічно тим, що описана для чистого посуду. Рідину після відмивання серветок центрифугують при 1500 g протягом 10 хв., після чого надосад використовують для тестування у культурі клітин.

Контролі. Контролем є аналогічно контамінований посуд, занурений на максимальну експозицію в стерильну або кип'ячену воду. Після чого з посуду беруть пробу як і в досліді. Для з'ясування вірусного навантаження проби титрують.

Результат. При виконанні сертифікаційних досліджень дезінфекційний засіб вважається таким, що відповідає вимогам, якщо він повністю інактивує інфекційну активність тест-вірусу при визначених концентраціях та експозиціях.

Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні виробів медичного призначення

При знезараженні виробів медичного призначення, виготовлених з різноманітного матеріалу (скла, металу, гуми і пластмаси), штучно контамінованих вірусами, проводять дії, аналогічні щодо знезараження посуду. Як білкове навантаження використовують сироватку великої рогатої худоби. При проведенні знезараження виробів необхідно звернути увагу на важкодоступні для дезінфекційних розчинів місця обробки, що може спричинити збільшення експозиції або концентрації дезінфекційного засобу. Дезінфекцію ендоскопів проводити згідно з методичними вказівками Методичні вказівки щодо очищення, дезінфекції та стерилізації ендоскопів, а також медичного інструментарію до них (м. Київ, 2004 р.).

6.3.3. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні білизни

При знезараженні білизни враховують норму витрати розчину на 1 кг сухої білизни (при особливо небезпечних інфекціях витрата розчину складає 5 л/кг, при інших - 1 л/кг), температуру розчину, ступінь і характер забруднення білизни, вплив дезінфікуючого розчину на міцність і фарбування білизни.

Контроль ефективності знезараження білизни дезінфікуючим розчином проводять за допомогою батистових тест-об'єктів.

Виконання дослідження. Заражені і підсушені тест-об'єкти кладуть у бязеві стерильні мішечки розміром (5 x 8) см по 5 штук у кожній. Мішечки закривають у вигляді конверту, до кута пришивають нитку довжиною близько 0,5 м.

Дезінфікуючий розчин готують перед дослідом на стерильній дистильованій водопровідній воді як зазначено в інструкції.

Білизну (старі бязеві халати і рушники) занурюють у бак або відро з дезінфекційним розчином послідовно, одну річ за іншою, стежачи за тим, щоб між речами не утворилося повітряних прошарків, що перешкоджають процесу дезінфекції. Одночасно між шарами білизни розміщують (зверху, у середині і знизу) мішечки з зараженими тест-об'єктами. Через визначені проміжки часу мішечки з тест-об'єктами виймають одночасно з трьох шарів. Тест-об'єкти достають з мішечка стерильним пінцетом, нейтралізують, промивають, і рідиною, відмитою з тест-об'єктів, інфікують по 4 клітинні моношари чутливої культури клітин у пробірках або лунках планшета.

Контролі. У контрольних дослідах білизну занурюють у стерильну або кип'ячену водопровідну воду. Мішечки з тест-об'єктами закладають так само, як у досліді.

Результат. Результат вважають позитивним при повній інактивації тест-вірусів на всіх досліджуваних тест-об'єктах.

При одержанні позитивного результату у досліді по знезараженню чистої білизни, контамінованої вірусом, переходять до дослідів по знезараженню забрудненої білизни.

При підготовці тест-об'єктів для дослідження віруліцидної активності дезінфекційних засобів по відношенню до вірусів з повітряно-крапельним механізмом передачі, до 6 мл вірусомісної рідини додають 4 мл інактивованої сироватки великої рогатої худоби. Цією сумішшю повністю змочують (контамінують) тест-об'єкти.

При підготовці тест-об'єктів для дослідження віруліцидної активності дезінфікуючих засобів по відношенню до поліс", аденога ротавірусів до 6 мл вірусомісної рідини додають 4 мл 40% суспензії фекалій (8 г, попередньо простерилізованих автоклавуванням при 1,5 атм протягом 30 хв., фекалій розтирають у ступці з 20 мл води). Отриманою суспензією заражають тест-об'єкти, підсушують і використовують у досліді.

Результат. Результат вважають позитивним при повній інактивації тест-вірусів на всіх досліджуваних тест-об'єктах.

6.3.5. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні поверхонь

Як тест-об'єкти використовують поверхні розміром (10 x 10) см із різноманітних матеріалів у залежності від призначення дезінфекційного засобу: дерев'яні, заштукатурені, пофарбовані масляною або клейовою фарбою, обклеєні шпалерою, а також поверхні з лінолеуму, кахлю, металу, гуми, пластику, скла тощо.

Досліджувані поверхні піддають механічному очищенню - миють водою з милом і щіткою, за винятком поверхонь, обклеєних шпалерами і пофарбованих клейовою фарбою. Останні протирають кілька разів стерильною серветкою, зволоженою стерильною водопровідною водою. Після підсихання поверхні стерилізують, розташовують горизонтально і піпеткою наносять вірусомісну рідину з розрахунку 0,5 мл на площу в 100 кв.см, рівномірно розподіляють по поверхні скляним шпателем. Поверхні підсушують при кімнатних умовах (температура 18-20 град.С і відносна вологість повітря 50-60%). Виконання досліджень. Розчин досліджуваного дезінфікуючого засобу наносять на поверхню шляхом зрошення з пульверизатора з і контролем витраченої рідини. Норма витрати становить 200-250 мл розчину на 1 кв.м площі поверхні, що обробляється. Контроль ефективності знезараження здійснюють через встановлені проміжки часу. Відбір проб проводять шляхом ретельного протирання зрошених поверхонь зволоженою стерильною марлевою серветкою (3 x 3 см), а потім сухою (серветки зволожують фізіологічним розчином або розчином Хенкса з антибіотиками). Марлеві серветки відмивають у 5 мл нейтралізатора або в стерильній водопровідній воді, протягом 10 хв. Потім переносять у стерильні пробірки зі скляними кульками та фізіологічним, струшують впродовж 10 хвилин. Одержаною рідиною заражають 4 клітинні моношари у пробірках або культуральних планшетах.

Контроль. У контрольних дослідах аналогічно заражені поверхні зрошують стерильною або кип'яченою водопровідною водою з того ж розрахунку (200-250 мл/кв.м поверхні), що і дослідні. Відбір проб та їхню обробку проводять аналогічно дослідним. Для з'ясування вірусного навантаження при контамінації об'єктів проводять титрування.

Результат. Результат вважають позитивним при повній інактивації тест-вірусів на всіх досліджуваних тест-об'єктах.

#### 6.3.6. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні сечі

При вивченні віруліцидної активності дезінфікуючих засобів у дослідах із сечею враховують співвідношення дезрозчину і сечі, концентрацію діючої речовини, час обробки, температуру.

Виконання досліджень. У декілька пробірок вносять по 9 мл прокип'яченої сечі та додають по 1 мл вірусомісної рідини. Розчини досліджуваного дезінфікуючого засобу готують у концентраціях, що забезпечують віруліцидний ефект при досліді на тест-об'єктах після 10-15 хв. впливу. Розчини дезінфікуючого засобу додають до сечі в рівному або подвійному, в порівнянні з нею, об'ємі. Після закінчення експозицій (наприклад, 15, 30, 60 хв.) піпеткою відбирають зазначену суміш у кількості 1 мл і переносять у пробірки з 5 мл нейтралізатора. Після ретельного змішування одержану рідину розбавляють в 10 разів підтримуючим середовищем та інфікують нею 4 клітинні моношари чутливої культури клітин у пробірках або лунках планшета.

Контролі. Контрольні проби готують аналогічно дослідним, додаючи до сечі замість дезінфікуючого розчину стерильну воду. Вірусне навантаження при контамінації сечі в контролі визначають титруванням.

Результат. Результат випробування вважають позитивним за умов повної інактивації тест-вірусу в сечі.

#### 6.3.7. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні фекальних мас

При розробці режимів знезараження фекальних мас враховують співвідношення дезінфікуючого засобу до знезаражуваної маси, час обробки, температуру, консистенцію знезаражуваних виділень, ступінь гомогенізації в процесі знезараження.

Виконання досліджень. Розтирають у ступці 20 г простерилізованих фекальних мас й додають до 80 мл води. Отриману 20% суспензію фекалій переносять по 9 мл у пробірки і

додають по 1 мл вірусомісної рідини. Дослідження проводять, використовуючи розчин дезінфектанту в концентрації, що повністю інактивує тест-вірус в сечі за 30 хвилин. Підготовлену контаміновану тест-вірусом суспензію фекалій заливають рівним або подвійним об'ємом дезінфікуючого розчину відповідної концентрації і струшують впродовж 10 хвилин. Проби центрифугують при 1500 g протягом 20 хв. Одержану надосадову рідину у дослідних і Контрольних пробах розбавляють в 10 разів підтримуючим середовищем і інфікують нею 4 клітинні моношари чутливої культури клітин у пробірках або лунках планшета.

Контроль. Контрольні проби готують аналогічно дослідним, додаючи до суспензії фекалій замість дезінфікуючого розчину стерильну воду. Вірусне навантаження при контамінації фекалій в контролі визначають титруванням.

Результат. Результат випробування вважають позитивним за умов повної інактивації тест-вірусу у фекаліях.

#### 6.3.8. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні води

Виконання досліджень. До стерильної води додають суспензію

6

тест-вірусу до його кінцевої концентрації 10 ТЦД /мл.

50

Дезінфекційний засіб розчиняють у дистильованій воді або змішують з нею у такому співвідношенні, щоб після додавання до досліджуваної контамінованої вірусом проби води, його кінцева концентрація відповідала досліджуваній (або вказаній в інструкції по застосуванню).

Віруліцидну дію дезінфектанту при знезараженні води вивчають з білковим та без білкового навантаження в 3 групах досліджень: без білку, з 0,2% сироваткового альбуміну та 10% сироватки великої рогатої худоби.

Концентрації дезінфектанту та експозиції обирають так, щоб результати дослідження показували віруліцидний ефект дезінфектанту в залежності від його концентрації та часу взаємодії.

Якщо використовується нейтралізація дії дезінфектанту, після завершення експозиції до суміші дезінфектанту та вірусомісної рідини додають рівну кількість розчину нейтралізатора.

Оцінити віруліцидну активність дезінфектанту, особливо якщо нейтралізація його дії не проводиться, можливо при титруванні залишкового інфекційного титру вірусу. Одразу після закінчення експозиції готують розведення досліджуваної проби (води з дезінфектантом) у кількості, необхідній для титрування залишкового

-1 -6

вірусу (від 10 до 10 ), якими інфікують клітинний моношар.

Визначити віруліцидний ефект дезінфекційного препарату за умови нейтралізації дезінфектанту можливо також за допомогою концентрування вірусних часток сірчаноокислим алюмінієм (або ентеросгелем, бентонітом тощо [6]).

Концентрування вірусу сірчаноокислим алюмінієм. До досліджуваної проби води об'ємом 1,0 л додають 2,0 мл 10% суспензії сірчаноокислого алюмінію (Al (SO) ).

2 4 3

Обробка осаду. Воду залишають при кімнатній температурі на 4 години або при +4 град.С на 18 годин для осідання пластівчастого осаду. Надосадову рідину видаляють. Осад центрифугують при 500 g протягом 10-15 хв.

Елюція вірусних часток. Надосадову рідину видаляють, осад ресуспендують у 3,0-5,0 мл розчину Хенкса, рН 7,4.

Повторна елюція вірусних часток. У день проведення досліджень на культурі клітин елюат повторно центрифугують при 500 g протягом 15 хв., надосадову рідину видаляють,

осад ресуспендують у 4,0 мл розчину Хенкса та деконтамінують етиловим ефіром або антибіотиками. Усе ретельно змішують та залишають у пробірках з ватними пробками при кімнатній температурі на 10-12 годин. Після цього відбирають надосадову рідину з дослідної та контрольних проб і зберігають її при +4 град.С. Одержану надосадову рідину у дослідних і контрольних пробах розбавляють в 10 разів підтримуючим середовищем і інфікують по 4 клітині моношари чутливої культури клітин у пробірках або лунках планшета. Проби інкубують при 37 град.С впродовж 7 днів, щоденно спостерігаючи за проявом ЦПД тест-вірусу. У разі відсутності ЦПД вірусу, проводять ще 2 сліпих пасажування.

Контролі:

1. Контроль інфекційної дози вірусу.
2. Контроль інфекційної дози вірусу з білковим навантаженням.
3. Контроль цитотоксичності суміші дезінфектанту та нейтралізатора.
4. Контроль повноти нейтралізації дезінфектанту.

Результат. При відсутності специфічних змін у культурі клітин тест-вірус вважають повністю інактивованим. Результат випробування вважають позитивним при повній інактивації дезінфекційним засобом тест-вірусу у воді за умов його застосування в концентрації, передбаченій інструкцією.

#### 6.3.9. Вивчення віруліцидної активності аерозольних препаратів

Виконання досліджень. Для одержання вірусного аерозолу використовують вірусомісну рідину, яку розпилюють у повітрі експериментальної камери. При продуктивності розпилювача 0,25 мл/хв., розпилення рідини проводять протягом 5 хв. При цьому в повітрі камери створюється концентрація вірусомісної рідини 1 мл/куб.м. Вірусне навантаження змінюють у залежності від розведення вірусомісної рідини. Для контамінації повітря при вивченні віруліцидної активності препаратів використовують

-1 -3

вірусомісну рідину в розведеннях від 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-3</sup>.

Для визначення вмісту вірусу в повітрі камери проводять відбір проб повітря за допомогою аспіратора будь-якої системи (наприклад, насосу). Проби повітря, що відбираються, зі швидкістю 2-5 л/хв., пропускають через прилад Дяконова або ін., у який наливають 5 мл стерильного розчину Хенкса з антибіотиками. Після чого цією рідиною заражають по 4 пробірки з моношаром клітинної культури. Кількість вірусів у пробах визначають титруванням. Після інфікування повітря в камеру розпилюють розчини препаратів за допомогою різної розпилюючої апаратури. Дослідження проводять за трьома показниками відносної вологості повітря: (20-25%, 50-55% і 80-85%) і температурі повітря в межах від 19 до 22 град.С.

Контролі. Як контроль використовують аерозольні суміші, що не містять активної речовини препарату, що розпилюють у камеру в тих же кількостях. При цьому розмір аерозольних часток повинний бути однаковим з розміром часток аерозолу препарату. Контрольні аерозольні суміші, що не містять активної речовини, не впливають на вірус, незалежно від концентрації останнього в повітрі.

Результат. Результат випробування аерозольного дезінфекційного засобу вважають позитивним при повній інактивації ним тест-вірусу у повітрі камери за умов його застосування в концентрації, передбаченій інструкцією.

Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів при знезараженні рук

Ефективність санітарно-гігієнічної дезінфекції рук оцінюється при знезараженні рук, штучно контамінованих тест-вірусами.

Виконання досліджень. Завись тест-вірусу у відповідній концентрації у кількості 0,1 мл необхідно нанести на подушечку великого пальця і рознести по подушечках інших пальців тієї ж руки. Після підсихання зависі на пальцях, обидві руки занурюють на

необхідну експозицію у 2 л розчину дослідного препарату, виконуючи рухи, аналогічні миттю. Потім руки промокають стерильним фільтрувальним папером та роблять змиви марлевими серветками (кожну руку окремою серветкою), які нейтралізують у відповідному нейтралізаторі (якщо нейтралізатор невідомий - використовують стерильну воду) та поміщають у пробірки з 5 мл розчину Хенкса та кульками і відмивають, струшуючи протягом 10 хв. Цією рідиною заражають по 4 пробірки з моношаром клітинної культури.

Контроль. Контролем є змиви, які отримані з аналогічно контамінованих рук, що піддавалися миттю в 2 л стерильної водопровідної води.

Результат. Результат випробування вважають позитивним при повній інактивації дезінфекційним засобом тест-вірусу на руках за умов його застосування в концентрації, передбаченій інструкцією.

#### 7. Критерії оцінки

Основним показником ефективності дезінфікуючих засобів в заданих концентраціях і тривалості експозиції при оціночних (сертифікаційних) дослідженнях є повна відсутність ознак репродукції вірусу за умов дотримання необхідного титру (4-7 lg ТЦД /мл), або зниження інфекційного титру тест-вірусу

50

(ів) не менше ніж на 4 lg ТЦД /мл в порівнянні з контролем [5]. У

50

скринінгових дослідженнях (пошук нових дезінфектантів) мінімальною величиною зниження інфекційного титру тест-вірусу за час експозиції, яка свідчить про наявність віруліцидної дії, вважають 2 lg ТЦД /мл.

50

Загальну віруліцидну ефективність розраховують як різницю між титром вірусу в присутності дезінфектанту і його титром в присутності розчинника:

$$E = T_k - T_d, \quad \text{де}$$

E - загальна віруліцидна ефективність;

T<sub>k</sub> - титр вірусу в контролі;

T<sub>d</sub> - титр вірусу в суміші вірус/дезінфектант. В.о. директора Департаменту організації санітарно-епідеміологічного нагляду Л.М.Мухарська

#### Додаток 1

до п. 2 Методичних рекомендацій "Визначення віруліцидної дії

дезінфікуючих засобів"

ВІРУСИ-ЗБУДНИКИ

інфекційних захворювань людини, які враховуються при проведенні дезінфекційних заходів

Назва вірусу	Будова вірусу	Механізм передачі			Примітка	Наявність засобів спеціфічної профілактики
		Простий	Складний	Контактно-повітряно-крупельний		
Аденовіруси	+	+	+	+		
Астровіруси	+	+				

Каліцивіруси									
- Норовірус	+			+	+				
- Саповірус	+			+					
- Віруси гепатиту E	+			+					
Коронавіруси (включаючи асоційовані з SARS)			+	+	+				
Флавівіруси									
- Віруси гепатиту C			+	+	*		+	При	
								статевому	
								контакті	
Вірус жовтої лихоманки			+					При	
								укусах	
								комах	
Гепаднавіруси									
Вірус гепатиту B			+		+	*		+	При
								статевому	
								контакті	
Віруси герпесу									
Герпес сімплекс віруси (1-2)			+		+			+	
Вірус вітряної віспи - оперізуючого лишая			+		+				+
Цитомегаловірус			+		+			+	
Вірус Епштейна-Бара			+		+			+	
Герпесвірус людини 6, 7, 8 типів			+		+				
Ортоміксовіруси									
Вірус грипу (A + B)			+		+		+		+
Паповавірус									
Папіломавірус	+		+						

Поліомавірус		+		+															
Параміксовіруси																			
Вірус кору				+		+		+										+	
Вірус епідемічного паротиту																			
Вірус парагрипу				+		+		+											
Респіраторно-синцитіальний вірус				+		+													
Пікорнавіруси																			
Вірус гепатиту А		+				+													
Поліовірус		+				+		+											
Коксакі вірус		+				+		+											
ЕСНО-віруси		+				+		+											
Риновірус		+				+		+											
Реовіруси																			
Ротавірус		+				+													
Ретровіруси																			
Вірус імунодефіциту людини						+		+						+		При			
																статевих			
																контактах			
Вірус Т-клітинного лейкозу людини						+		+						+		При			
																статевих			
																контактах			
Рабдовіруси																			
Вірус сказу						+										При		+	
																укусах			
																тварин			
Тогавіруси																			
Вірус червоної висипки						+		+		+									



до п. 5.3 Методичних  
 рекомендацій "Визначення  
 віруліцидної дії  
 дезінфікуючих засобів"

**ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА**

результатів інфікування клітин тест-вірусами за ЦПД і за кількістю клітин з  
 вірусоспецифічними включеннями після фарбування акридиновим оранжевим

Розведення суспензій тест-вірусів	Результат обліку	
	За ЦПД	За кількістю клітин з вірусоспецифічними включеннями
Ротавірус мавп, штам SA-11		
-1		
10	4+, 4+	864, 958
-2		
10	3+, 2+	430, 356
-3		
10	+, -	45, 57
-4		
10	-, -	4, 9
Контроль клітин	-, -	0, 0
Поліовірус типу 1, вакцинний штам Себіна		
-1		
10	4+, 4+	987, 895
-2		
10	3+, 3+	540, 493
-3		
10	2+, +	50, 54
-4		
10	-, -	2, 4
Контроль клітин	-, -	0, 0
Аденовірус типу 2		
-1		
10	3+, 4+	974, 920
-2		

10	+, 2+	457, 583	
-----			
-3			
10	+, -	44, 26	
-----			
-4			
10	-, -	3, 4	
-----			
Контроль клітин	-, -	0, 0	
-----			
Вірус грипу А			
-----			
-1	4+, 3+	867, 924	
-----			
-2	2+, +	230, 298	
-----			
-3	-, -	7, 2	
-----			
-4	-, -	0, 0	
-----			
Контроль клітин	-, -	0, 0	
-----			