

СИСТЕМА АККРЕДИТАЦИИ ИСПЫТАТЕЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ЦЕНТРОВ
ГОСУДАРСТВЕННОЙ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВИРУСОЛОГИИ
ИМ. Д.И.ИВАНОВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Аттестат аккредитации № ГСЭН.RU.ЦОА.315
№ Государственной регистрации РОСС.RU.0001.513126

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16

тел./факс (499) 190-28-43

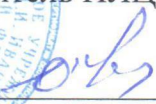
УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУ «НИИ вирусологии
им. Д.И.Ивановского»

Минздрава России

Руководитель ИЛЦ, академик РАН



 Львов Д.К.
20 декабря 2013 г.

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ И ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ
по результатам исследований
«Изучение вирулицидной активности импульсного ультрафиолетового
излучения сплошного спектра».

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР
ФГБУ "НИИ вирусологии
им. Д.И. Ивановского"
Минздравсоцразвития России

Москва
2013

1. Цель исследований. Изучение вирулицидной активности импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра для разработки режимов работы импульсных ультрафиолетовых установок серии «Альфа» для обеззараживания поверхностей помещений медицинских организаций.

2. Задачи исследования:

1. Изучение эффективности инаktivации вирусов на поверхностях под действием импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра.
2. Определение поверхностных (вирулицидных) доз импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра для инаktivации вирусов с эффективностью 99,99%.
3. Разработка режимов работы импульсных ультрафиолетовых установок для обеззараживания вирусов на открытых поверхностях помещений в медицинских организациях.

3. Место и время проведения исследования.

Экспериментальные исследования проводились на базе НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского с 17.06.2013 г. по 20.12.2013 г. на оборудовании, предоставленном ООО НПП «Мелитта».

4. Название методики исследования, дата утверждения.

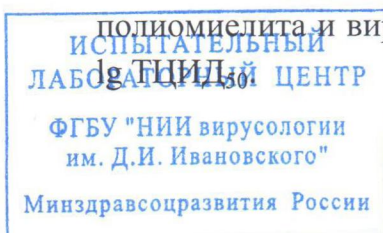
Изучение и оценка вирулицидной активности импульсного УФ излучения сплошного спектра проводилась в соответствии с Методическими указаниями МУ 3.5.2431-08. «Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств» МУ 3.5.2431-08, Москва, 2010 г.

5. Материалы.

В качестве объектов облучения использовались тест-вирусы – вирус полиомиелита, аденовирус, вирус гепатита С, вирус гриппа человека (тип А), нанесенные на поверхность чашек Петри (поверхностные тест-объекты). Набор тест-вирусов позволил исследовать их резистентность в зависимости от компонента генетического материала (тип нуклеиновой кислоты): геномная РНК (вирус полиомиелита, вирус гепатита С, вирус гриппа) или геномная ДНК (аденовирус), или типа белковой оболочки: с оболочкой (вирус гепатита С, вирус гриппа А) или без оболочки (вирус полиомиелита, аденовирус).

В исследованиях использовались следующие вирусы и биологические материалы:

А) Вирус полиомиелита, вакцинный штамм, тип 1, получен из ГУ НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН. Титр вируса 6,5



Б) Аденовирус, тип 5, получен из Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского» Минздрава России. Титр вируса $6,0 \lg \text{ТЦИД}_{50}$.

В) Вирус гепатита С (ВГС). В качестве вирусосодержащего материала использовали культуральную жидкость, собранную из ВГС инфицированных культур клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ) на стадии развития цитопатических явлений. Титр вируса $7,5 \lg \text{ТЦИД}_{50}$.

Г) Вирус гриппа А. В качестве источника вируса использовали штамм вируса гриппа человека А/Н1N1/Moscow/2009 из коллекции штаммов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского» Минздрава России. Титр вируса $6,5 \lg \text{ТЦИД}_{50}$

Клетки. Для работы с вирусом полиомиелита использовали перевиваемую культуру клеток почки зеленых мартышек Vero. Для работы с аденовирусом использовали перевиваемую линию клеток человека HeLa. Для работы с ВИЧ использовали лимфобластоидные клетки человека МТ-4. Для работы с вирусом гепатита С использовали культуру клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ). Для работы с вирусом гриппа А человека использовали клетки почки собаки (MDCK).



Рис.1

Выбор данных вирусов определялся:

1. Списком вирусов, принятым в качестве набора тест-вирусов при изучении и оценке вирулицидной активности дезинфицирующих средств (МУ 3.5.2431-08, Москва, 2010 г.).
2. Экспериментальными и клиническими данными о выживаемости вирусов на поверхностях.

6. Оборудование.

Источником импульсного УФ излучения сплошного спектра является ксеноновая лампа установки «УИКБ – 01-Альфа» (Рисунок 1).

Установка генерирует световые вспышки в широком спектральном диапазоне (от 200 до 700 нм) с частотой 2,5 Гц. За один импульс на облучаемой поверхности бактерицидная доза (в спектральной области 235 – 285 нм) составляет $0,43 \text{ Дж/м}^2$. Ультрафиолетовый поток в области от 200 до 400 нм составляет $5,7 \text{ Вт/м}^2$ с импульсной мощностью более 2 МВт/м^2 .

7. Методика проведения исследований.

1 этап. Тест-объекты (чашки Петри), контаминированные вирусами (нанесение вирусной суспензии на поверхность чашки Петри (5,0см)), размещались на расстоянии 2-х метров от импульсной ультрафиолетовой ксеноновой лампы. Время облучения в опытах составляло от 0,5 до 16 минут. Облучаемая пластиковая поверхность чашек Петри располагалась перпендикулярно световому потоку лампы, т.е. вертикально.

2 этап. После сеансов облучения проводили инфицирование чувствительных культур клеток обработанным вирусом, инкубацию и учет результатов. Репродукцию вируса в клетках оценивали по вирусиндуцированному цитопатическому эффекту в нескольких экспериментах.

8. Результаты исследования.

Результаты экспериментов представлены в таблицах 1-4.

Таблица 1 - Эффективность инактивации вируса *полиомиелита* импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра.

Время облучения, минуты	Титр вируса полиомиелита, lgТЦИД ₅₀			Степень инактивации, lg ТЦИД ₅₀
	№ 1	№ 2	m±	
0,0	6,5	6,5	6,5	-
0,5	4,5	5,0	4,8	1,7
1,0	4,7	4,5	4,6	1,9
2,0	4,5	3,5	4,0	2,5
5,0	1,6	1,5	1,6	4,9
10,0	0,0	0,0	0,0	6,5

Таблица 2 - Эффективность инактивации *аденовируса* импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра.

Время облучения, минуты	Титр аденовируса, lgТЦИД ₅₀					Степень инактивации, lg ТЦИД ₅₀
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	m±	
0,0	4,0	3,6	4,5	4,5	3,8/4,5	-
1,0	2,9	2,7			2,8	1,0
2,0			2,0	2,0	2,0	2,5
4,0			2,0	2,0	2,0	2,5
8,0			1,0	1,0	1,0	3,5
16,0			0,0	0,0	0,0	4,5

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР
ФГБУ "НИИ вирусологии
им. Д.И. Ивановского"
Минздравсоцразвития России

Таблица 3 - Эффективность инактивации вируса *гриппа* импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра

Время облучения, минуты	Титр вируса гриппа, lgТЦИД ₅₀					Степень инактивации , lg ТЦИД ₅₀
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	m±	
0,0	5,0	5,2	7,5	7,2	5,1/7,35	-
1,0	2,5	2,0			2,3	2,8
2,0			5,5	5,0	5,25	2,1
4,0			2,0	2,2	2,1	5,25
8,0			0,4	0,5	0,45	6,9
10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,35

Таблица 4 - Эффективность инактивации вируса *гепатита С* импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра

Время облучения, минуты	Титр вируса гепатита С, lgТЦИД ₅₀			Степень инактивации , lg ТЦИД ₅₀
	№ 1	№ 2	m±	
0,0	5,5	5,5	5,5	-
1,0	4,2	4,6	4,4	1,1
10,0	1,0	0	0,5	5,0

Облучение полиовируса и вируса гриппа в течение 10 минут и аденовируса в течение 16 минут импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра установки УИКБ-01 «Альфа» приводит к их полной инактивации (Таблица 1 -3).

Облучение вируса гепатита С установкой УИКБ-01 «Альфа» в течение 10 минут ингибирует репродукцию вируса на 5 lg ТЦИД₅₀ (Таблица 4).

Пример расчета вирулицидных доз импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра для эффективности 99,99% (степень инактивации 4 lg ТЦИД₅₀) приводится на рисунке 2 (для вируса полиомиелита). На рисунке 3 показан вирулицидный режим (время сеанса облучения) импульсных УФ установок для достижения эффективности 99,99%.

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР
ФГБУ "НИИ вирусологии
им. Д.И. Ивановского"
Минздравсоцразвития России

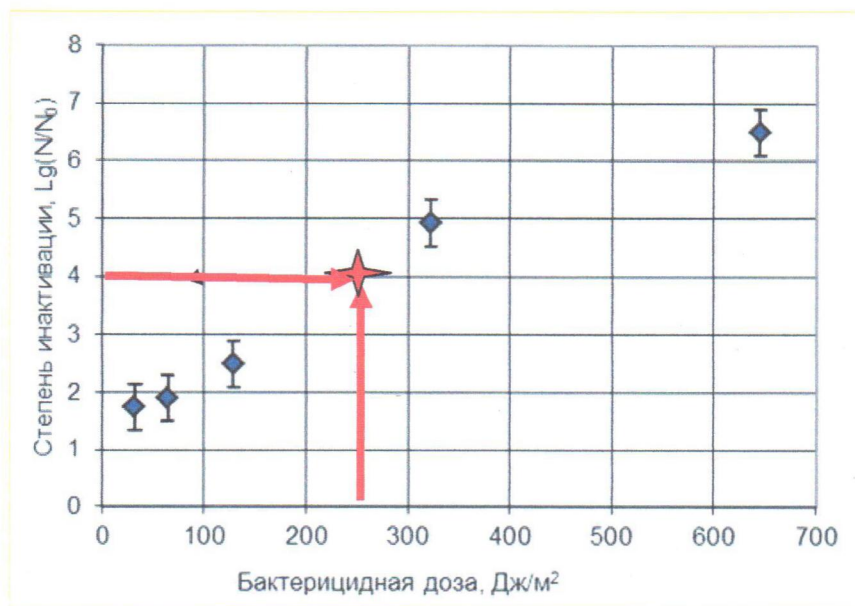


Рисунок 2 – Зависимость эффективности инактивации вируса полиомиелита от вирулицидной дозы импульсного УФ излучения (235 – 285 нм).

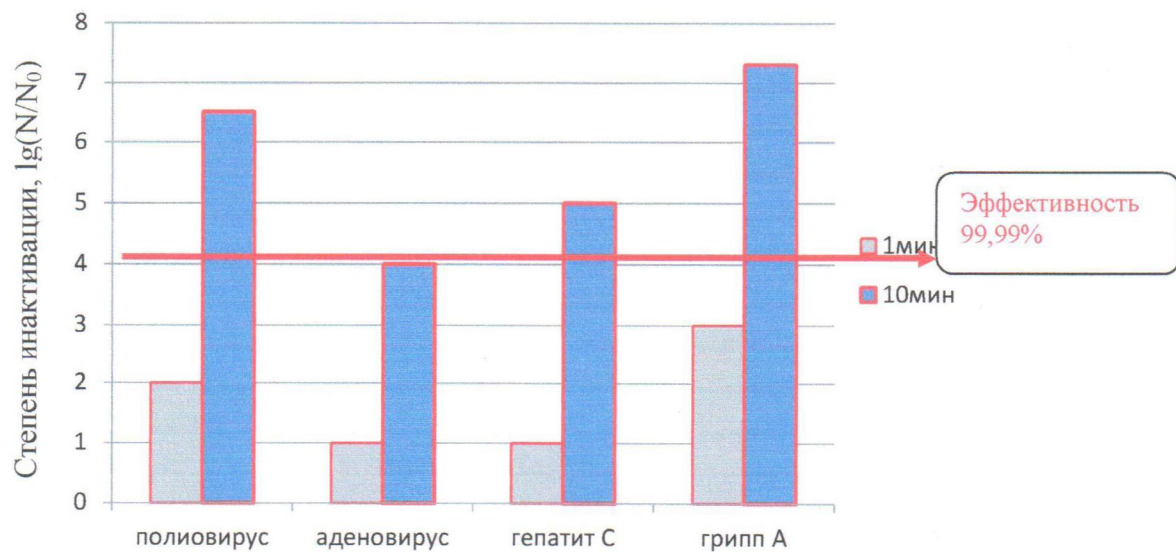


Рисунок 3 – Эффективность инактивации вирусов при облучении тест-вирусов с расстояния 2 метра за 1 минуту (■) и за 10 минут (■).

В таблице 5 представлена значения вирулицидных доз и требуемое время работы установки УИКб-01 «Альфа» с расстояния 2 метра для обеспечения эффективности инактивации вирусов 99,99%.

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР
ФГБУ "НИИ вирусологии
им. Д.И. Ивановского"
Минздравсоцразвития России

Таблица 5 – Поверхностные дозы вирулицидного излучения, обеспечивающие эффективность инаktivации 99,99% и соответствующее время работы установки УИКБ-01 «Альфа» с расстояния 2 метра.

Вирус	Эффективность 99,99%	
	Время работы установки УИКБ-01 «Альфа», мин	Вирулицидная доза, Дж/м ²
Полиомиелит	4,0	250
Аденовирус	9,5	600
Гепатит С	8,0	520
Грипп А	3,5	200

9. Выводы:

1. Экспериментально показана высокая эффективность (99,99%) инаktivации тест-вирусов (аденовируса, вируса гепатита С, вируса гриппа человека (тип А), вируса полиомиелита) под действием импульсного УФ излучения сплошного спектра.

2. Получены значения поверхностных вирулицидных доз импульсного УФ излучения сплошного спектра, необходимые для инаktivации исследуемых вирусов (ДНК-, РНК-содержащие, оболочечные, безоболочечные) с эффективностью более 99,99%.

3. Экспериментально полученные значения поверхностных доз инаktivации вирусов могут быть использованы при разработке режимов работы импульсных УФ установок и регламентов обработки помещений (открытых поверхностей).

10. ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

1. Импульсное ультрафиолетовое излучение сплошного спектра обладает высокой вирулицидной активностью и способно обеззараживать поверхности с эффективностью до 99,99%.

2. Импульсная ультрафиолетовая установка УИКБ-01 «Альфа» инаktivирует вирусы с эффективностью более 99,99% за 10 минут (большинство исследуемых вирусов) и за 16 минут аденовирус в радиусе 2-х метров.

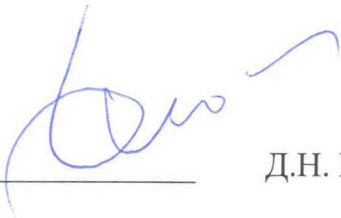
ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР

ФГБУ "НИИ вирусологии
им. Д.И. Ивановского"

Минздравсоцразвития России

3. Можно рекомендовать использование импульсных ультрафиолетовых установок серии «Альфа» в помещениях медицинских организаций при проведении комплексных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Заместитель руководителя ИЛЦ,
заведующий лаборатории
вирусов иммунодефицита
с испытательным Центром по
экспертной оценке противовирусных
и дезинфекционных средств,
д.м.н., профессор




Д.Н. Носик

Заведующий лаборатории
онтогенеза вирусов,
д.м.н., профессор



Н.Н. Носик

Заведующий лабораторией
Государственной коллекции вирусов,
д.м.н., профессор



П.Г. Дерябин

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР
ФГБУ "НИИ вирусологии
им. Д.И. Ивановского"
Минздравсоцразвития России