

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ГУ «Институт эпидемиологии и
инфекционных болезней
им. Л.В.Громашевского НАМН Украины»
Чл.-корр. НАМН, профессор Задорожная В.И.

« 12 Октября 2021р.

О Т Ч Е Т

о лабораторных испытаниях эффективности вирулицидного действия препарата «Chemidez» в отношении полиовируса 1 типа

Работа проведена согласно договору № 35/2021 от 25.08.2021 г. с компанией «CHEMIX GRUPP».

Состав исследуемого препарата:

«Chemidez» - активные компоненты: Etanol, N-alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride and N-alkyl dimethyl ethylbenzyl ammonium chloride.

Изучение наличия противовирусной активности средства «Chemidez» проводили на модели полиовируса 1 типа, который является РНК-содержащим и обладает высокой устойчивостью к факторам окружающей среды.

Полиовирус 1 типа использовали в рабочей концентрации $3 \lg$ TCID₅₀ / ml и культивировали на перевиваемой культуре клеток Нер-2. Исследования проводили в соответствии с Методическими рекомендациями "Методы проведения исследований специфической активности, безопасности, качества (эффективности) дезинфекционных средств и их испытания на практике, утвержденной приказом МЗ Украины № 2024 от 03.09.2020 г. и EN 14476 "Chemical disinfectants and antiseptics - Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine - Test method and requirements".

Поскольку в отношении препарата, который исследовался, специфические нейтрализаторы для исключения токсического его действия на

культуру клеток неизвестны, опыты проводили с использованием батиновых тест-объектов с последующим их 2-х кратным промыванием в стерильной дистиллированной воде и на изделиях из стекла, металла и резины.

Для определения вирулицидной активности препарата «Chemidez» с применением батиновых тест-объектов, в качестве которых использовали кусочки батиста размером 1 x 0,5 см, батиновые тест-объекты помещали в стерильную чашку Петри и заливали жидкостью, содержащей 3 lg TCID₅₀ / ml вакцинного штамма полиовируса типа 1 из расчета 0,1 мл жидкости на тест-объект. Через 20 минут тест-объекты подсушивали стерильной фильтровальной бумагой в термостате при 37⁰С. После этого тест-объекты использовали в опыте. Тест-объекты могут быть использованы в опыте в течение 3 суток, если они хранятся в холодильнике при -4⁰С.

Для приготовления вирусосодержащей жидкости клетки культуры ткани с полным цитопатическим действием, вызванным полиовирусом 1 типа, с культуральной жидкостью переносили в стерильные пробирки, замораживали, а потом размораживали. Далее центрифугировали при 3000 об / мин. в течение 10 минут. Надосадочную жидкость отбирали и использовали в опыте. Перед использованием вируса в опыте, методом Рида-Менча, определяли титр вирусосодержащей жидкости.

При определении вирулицидных свойств препарата «Chemidez» использовали их из расчета 1,0 мл на каждый тест-объект. Экспозиции и концентрации указаны в таблице 1.

Таблица 1. Использованные концентрации и экспозиции исследуемого средства.

Название препарата	Использованные концентрации (%)	Экспозиция
«Chemidez»	неразведенный	30 сек., 1 минута

В раствор препарата погружали инфицированные тест-объекты из расчета 5 штук на каждую экспозицию. Через указанное в табл. 1 время доставали по 5

тест-объектов, трижды промывали в стерильной дистиллированной воде, затем тест-объекты стерильной петлей переносили в пробирку со стеклянными бусинами и раствором Хэнкса. Встряхивали тест-объекты в течение 10 минут и этой жидкостью заражали культуру клеток.

Для выращивания культуры клеток использовали среду 199, среду Игла с двойным набором аминокислот, с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и антибиотиков. В качестве поддерживающей среды использовали среду 199, среду Игла с двойным набором аминокислот и с добавлением 2% эмбриональной бычьей сыворотки. На 3-5 сутки происходило максимальное накопление вируса, которое сопровождалось цитопатическим действием.

При заражении клеток ткани Нер-2 полиовирусом типа 1, появляется равномерная мелкозернистая деструкция клеток с последующим их отслоением. При отсутствии специфических изменений в культуре клеток вирус считают инактивированным. С целью повышения титра полиовируса типа 1 осуществляли 3 пассажа на свежую ткань.

К каждому опыту ставили контроли:

1. Контроль на зараженность тест-объектов полиовирусом.
2. Контроль сохранения жизнеспособности полиовируса.
3. Контроль чистой культуры клеток.

Каждый опыт выполняли в 3-х повторах.

Ниже представлены данные по определению вирулицидного действия препарата «Chemidez» на полиовирус 1 типа с использованием батистовых тест-объектов.

Таблица 2. Вирулицидная активность препарата «Chemidez» при обеззараживании полиовируса 1 типа на батистовых тест-объектах.

Повторность опыта	Пассаж	Концентрация препарата (%)	Экспозиция	
			30 секунд	1 минута
1	1	неразведенный	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----
2	1	неразведенный	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----
3	1	неразведенный	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----
КЖВ	1	-	####	####
	2		####	####
	3		####	####
КЗТО	1	-	####	####
	2		####	####
	3		####	####
ККТ	1	-	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----

Примечание:

наличие цитопатического действия полиовируса
 ----- отсутствие цитопатического действия полиовируса

КЗТО – контроль зараженности тест-объектов полиовирусом

КЖВ – контроль жизнеспособности полиовируса

ККТ - контроль культуры клеток

- исследования не проводили

Таким образом, неразведенный препарат «Chemidez» приводит к инактивации полиовируса 1 типа через 30 секунд. Соответственно, препарат «Chemidez» будет проявлять противовирусное действие по отношению к оболочечным и менее стойким РНК- и ДНК-содержащим вирусам, в частности - гриппа, вируса иммунодефицита человека, кори, эпидемического паротита, вирусных гепатитов А, В, С, D, норовирусов, ротавирусов, аденовирусов, вирусных гастроэнтеритов, вирусов ЕСНО, Коксаки, коронавирусов человека, в том числе - вируса SARS-CoV-2, который вызывает COVID-19 и других.

Таблица 3. Вирулицидная активность препарата «Chemidez» при обеззараживании полиовируса 1 типа на поверхностях, изготовленных из стекла, металла и резины при обработке методом протирания.

Повторность опыта	Пассаж	Концентрация по действующему веществу (%)	Экспозиция		Изделия медицинского назначения
			30 секунд	1 минута	
1	1	Неразведенный	-----	-----	стекло
	2		-----	-----	метал
	3		####	-----	резина
	1		####	####	стекло загрязненное кровью
	2		####	####	метал загрязненный кровью
	3		####	####	резина загрязненная кровью
2	1	Неразведенный	-----	-----	стекло
	2		-----	-----	метал
	3		####	-----	резина
	1		####	####	стекло загрязненное кровью
	2		####	####	метал загрязненный кровью
	3		####	####	резина загрязненная кровью
КЗТО	1	-	####	####	стекло метал резина
	2		####	####	
	3		####	####	
КЖВ	1	-	####	####	-
	2		####	####	
	3		####	####	
ККТ	1	-	-----	-----	-
	2		-----	-----	
	3		-----	-----	

Примечание:

наличие цитопатического действия полиовируса
 ----- отсутствие цитопатического действия полиовируса

КЗТО – контроль зараженности тест-объектов полиовирусом

КЖВ – контроль жизнеспособности полиовируса

ККТ – контроль культуры клеток

- исследования не проводили

Таким образом, неразведенный препарат «Chemidez» приводит к инактивации вируса полиомиелита 1 типа через 30 секунд на незагрязненных кровью поверхностях, изготовленных из стекла и металла, а также через 1 минуту на чистых резиновых поверхностях при обработке методом протирания.

Препарат «Chemidez» обладает вирулицидной активностью при обеззараживании различных объектов: тест – поверхностей, изделий медицинского назначения при однократном применении раствора при времени дезинфекционной выдержки от 30 до 60 сек.

Зав. отделом респираторных
и других вирусных инфекций,
д.мед.н., профессор

Мироненко А.П.

Старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук

Радченко Л.В.