

„APROB”
Director al IS „Institutul de epidemiologie și boli infecțioase
„L.V. Gromașevski” al ANȘM a Ucrainei”,
membru cor. al ANȘM, prof. V.I. Zadorojnaia
/semnătură/
Anul 2019

Ștampilă: or. Kiev, Ucraina; Instituția de stat
„Institutul de epidemiologie și boli infecțioase „L.V. Gromașevski”
al ANȘM a Ucrainei”; Cod de identificare 02011947

R A P O R T

privind testarea în condiții de laborator a eficienței activității virucide a preparatului „Chemidez” în privința adenovirusului tip 5

Lucrul a fost efectuat în baza contractului nr.4 din 01.02.2019 cu compania „CHEMISTRY TRADING S.R.L.”.

Compoziția preparatului studiat:

Substanțe active: Ethanol, N-alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride și N-alkyl dimethyl ethylbenzyl ammonium chloride.

Prezența activității antivirale a preparatului „Chemidez” s-a verificat pe un model de adenovirus tip 5, acesta fiind un virus care conține ADN și este destul de rezistent la factorii de mediu.

Adenovirusul tip 5 a fost utilizat la o concentrație de lucru de 10^{-5} TCID₅₀/ml și a fost cultivat pe culturi de celule Hep-2 transplantabile. Studiile au fost efectuate în conformitate cu Ghidul metodologic „Determinarea activității virucide a dezinfectanților”, aprobat prin ordinul MS al Ucrainei nr. 231 din 08.04.2009, care corespunde cerințelor standardului EN 14476 “Chemical disinfectants and antiseptics - Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine - Test method and requirements”.

Deoarece pentru preparatul studiat nu sunt cunoscuți neutralizatori specifici pentru a exclude efectul toxic al preparatului „Chemidez” asupra culturii de celule, experimentele au fost efectuate cu folosirea obiectelor de testare de batist care au fost ulterior spălate de 3 ori în apă sterilă distilată.

Pentru a se determina activitatea virucidă a preparatului „Chemidez” cu utilizarea obiectelor de testare de batist, bucăți de batist de 1x0,5 cm au fost plasate într-un vas Petri steril și umplut cu un lichid conținând 10^{-5} TCID₅₀/ml de adenovirus tip 5, într-o cantitate de 0,1 ml pe fiecare obiect de testare. După 20 de minute, obiectele de testare au fost uscate cu hârtie de filtru sterilă în termostat la 37°C, după care au fost utilizate în experiment. Obiectele de testare pot fi utilizate în experiment timp de 3 zile, dacă sunt păstrate la frigider la 4°C.

Pentru prepararea lichidului cu virusuri, celulele de cultură din țesutul cu efect citopatic complet, cauzat de adenovirusul tip 5, au fost transferate în lichidul de cultură în tuburi sterile, înghețate și apoi dezghețate, după care au fost centrifugate la 3000 rpm timp de 10 minute. Supernatantul a fost colectat și utilizat în experiment. Înainte de utilizarea virusului în experiment, titrul lichidului cu virusuri a fost determinat prin metoda Reed-Muench.

La determinarea proprietăților virucide ale preparatului „Chemidez” s-a utilizat preparatul nediluat, într-o cantitate de 1,0 ml pe fiecare obiect de testare.

Tabelul 1. Concentrațiile utilizate și perioadele de expunere ale substanței testate

Denumirea preparatului	Concentrațiile utilizate (%)	Timpul de expunere
„Chemidez”	nediluat	30 secunde, 1 minut

Obiectele de testare infectate au fost introduse în soluția preparatului într-un număr de 5 bucăți pentru fiecare expunere. După expirarea perioadei de timp specificate în Tabelul 1, câte 5 obiecte de testare au fost scoase, spălate de trei ori în apă distilată sterilă și apoi transferate cu o ansă sterilă într-un tub cu mărgelă de sticlă și soluția Hanks. Obiectele de testare au fost agitate timp de 10 minute, și cultura de celule a fost infectată cu lichidul obținut.

Pentru cultivarea culturii de celule a fost folosit mediul 199, mediul MEM cu un set dublu de aminoacizi și cu adăugarea a 10% de ser fetal bovin și a antibioticelor. Mediul 199 și mediul MEM cu un set dublu de aminoacizi și cu adăugarea a 2% de ser fetal bovin au fost utilizate ca mediu de suport. Către a 3-a – a 5-ea zi s-a înregistrat acumularea maximă a virusului care a fost însoțită de un efect citopatic.

La infectarea celulelor țesutului Hep-2 cu adenovirusul tip 5 se înregistrează o agregare caracteristică a celulelor în formă de „struguri” pe fundalul unui monostrat de celule parțial distrus. În absența unor modificări specifice în cultura de celule, virusul este considerat inactivat. Pentru creșterea titrului adenovirusului tip 5, s-au efectuat 3 pasaje pe o cultură de celule proaspătă.

La fiecare experiment s-au aplicat următoarele controale:

1. Controlul infectării obiectelor de testare cu adenovirus;
2. Controlul păstrării viabilității adenovirusului;
3. Controlul culturii de celule pure.

Fiecare experiment a fost efectuat în 3 repetări.

Mai jos sunt prezentate datele privind determinarea efectului virucid al preparatului „Chemidez” asupra adenovirusului tip 5 cu folosirea obiectelor de testare de batist.

Tabelul 2. Activitatea virucidă a preparatului „Chemidez” la decontaminarea adenovirusului tip 5 pe obiectele de testare de batist

Repetabilitatea experimentului	Pasaj	Concentrația preparatului (%)	Expunere	
			30 secunde	1 minut
1	1	nediluat	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----
2	1	nediluat	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----
3	1	nediluat	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----
CVA	1	-	####	####
	2		####	####
	3		####	####
CIOTA	1	-	####	####
	2		####	####
	3		####	####
CCC	1	-	-----	-----
	2		-----	-----
	3		-----	-----

Notă:

####

Prezența acțiunii citopatice la adenovirus

Lipsa acțiunii citopatice la adenovirus

CIOTA

Controlul infectării obiectelor testate cu adenovirus

CVA	Controlul viabilității adenovirusului
CCC	Controlul culturii de celule
-	Studiile nu s-au efectuat

Așadar, preparatul „Chemidez” nediluat duce la inactivarea adenovirusului tip 5 după 30 de secunde. Respectiv, preparatul „Chemidez” va prezenta efecte antivirale împotriva virusurilor anvelopate și mai puțin rezistente, în special împotriva virusurilor hepatitei B și C, virusului gripal, virusului imunodeficienței umane, rujeolei, oreionului, rotavirusurilor, adenovirusului, norovirusului, virusurilor ECHO și Cocksackie și altora.

Șef Secție infecții respiratorii și alte infecții virale,
dr. șt. med., prof. /semnătură/ A.P. Mironenko

Cercetător superior,
candidat în științe biologice /semnătură/ L.V. Radcenko

Traducerea în limba română a fost efectuată la biroul de traduceri “Bisconsult” SRL de către traducătorul autorizat Melihveici Irina, la data de 19.07.2019

Semnătura traducătorului _____

Melihveici Irina

