

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Директор ДУ «Інститут епідеміології
та інфекційних хвороб
ім.Л.В.Громашевського НАМН України»
чл.-корр. НАМН Задорожна В.І.
« 19 грудня » 2020р.

В И С Н О В О К

про лабораторні випробування ефективності віруліцидної активності
засобу «Юсепт» щодо простих та складних вірусів

Робота проведена згідно договору № 55/2020 від 09.06.2020р. із ТОВ «ЮРІЯ-ФАРМ».

Склад досліджуваного препарату наведено нижче:
діюча речовина – декаметоксин - 0,02%; 0,03 %, 0,05%.

Вивчення дезінфекційної активності препарату «Юсепт» проводили на трьох модельних вірусах, а саме - моделі вакцинного штаму поліовірусу типу 1 (простий РНК-вмісткий вірус), моделі штаму аденовірусу типу 5 (простий ДНК-вмісткий вірус) та вірусу грипу А(Н1N1)рdm (складний РНК-вмісткий вірус). Обидва простих віруси є високорезистентними до дії фізико-хімічних факторів навколишнього середовища. Вірус грипу е, навпаки, досить нестійким в оточуючому середовищі.

Поліовірус 1 типу використовували в робочій концентрації 10^{-6} ТДЦ₅₀/мл та культивували на перещеплювальній культурі клітин НЕр-2. Аденовірус 5 типу використовували в робочій концентрації 10^{-5} ТДЦ₅₀/мл і також культивували на перещеплювальній культурі клітин НЕр-2. В якості складного модельного вірусу використовували вірус грипу підтипу А(Н1N1)рdm2009, що було ізольовано в епідемічному сезоні 2019/2020 рр., з наявною високою інфекційною активністю. ТID₅₀ цього вірусу становила 10^{-7} . Дослідження проводили на культурі клітин MDCK (епітеліальні клітини нирки собаки), одержаній із Центру по контролю за хворобами (CDC - Атланта, США), що є високочутливою до вірусів грипу. Для ведення культури клітин використовували середовище росту на основі культурального середовища DMEM з додаванням 5% телячої ембріональної сироватки. Підтримуюче середовище, що використовувалось для інфікованої та вірогідно інфікованої культури клітин, було безсироватковим і містило телячий сироватковий альбумін (7,5%) та очищений трипсин фірми Sigma (T-1426).

Дослідження здійснювали згідно з Методичними рекомендаціями «Визначення віруліцидної активності дезінфікуючих засобів», затвердженої наказом МОЗ України № 231 від 08.04.2009 р.

Оскільки у відношенні до препарату, який досліджувався, специфічні нейтралізатори для виключення токсичної дії препарату на культуру клітин

невідомі, досліди проводили з використанням батистових тест-об'єктів з наступним їх 2-х кратним промиванням у стерильній дистильованій воді.

Для визначення віруліцидної активності препарату «Юсепт» із застосуванням батистових тест-об'єктів, у якості яких використовували шматочки батисту розміром 1 x 0,5см, батистові тест-об'єкти поміщали у стерильну чашку Петрі і заливали рідиною, що містить кожен з модельних вірусів з розрахунку 0,1 мл рідини на тест-об'єкт. Через 20 хвилин тест-об'єкти підсушували стерильним фільтрувальним папером і використовували у досліді.

При визначенні віруліцидних властивостей препарату «Юсепт» на батистових тест-об'єктах використовували препарат з розрахунку 1,0 мл розчину на кожний тест-об'єкт у відповідних концентраціях та експозиціях, а також – на відповідних об'єктах (Табл.1).

Таблиця 1. Використані концентрації та експозиції досліджуваного дезинфекційного препарату.

Назва препарату	Концентрації за діючою речовиною	Експозиції
«Юсепт»	0,02%	15 секунд, 30 секунд, 60 секунд, 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин
	0,03%	15 секунд, 30 секунд, 60 секунд, 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин
	0,05%	15 секунд, 30 секунд, 60 секунд, 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин

У робочий розчин занурювали інфіковані тест-об'єкти з розрахунку 5 штук на кожну експозицію. Через зазначений час (згідно кожної експозиції) діставали по 5 тест-об'єктів, двічі промивали у стерильній дистильованій воді, потім тест-об'єкти стерильною петлею переносили у пробірку із скляними намистинами і розчином Хенксу. Струщували тест-об'єкти протягом 10 хвилин і цією рідиною заражали культуру клітин.

При зараженні клітин тканини НЕр-2 вакцинним поліовірусом типу 1, з'являється рівномірна мілкозерниста деструкція клітин з подальшим їх відшаруванням. При відсутності специфічних змін у культурі клітин вірус вважають інактивованим. З метою підвищення титру поліовірусу типу 1 здійснювали 3 пасажі на свіжу тканину.

При зараженні клітин тканини НЕр-2 аденовірусом 5 типу з'являється характерна агрегація клітин, що мають вигляд «виноградного грона» на фоні частково зруйнованого моношару клітин. При відсутності специфічних змін у культурі клітин вірус вважають інактивованим.

При зараженні клітин тканини MDCK вірусом грипу з'являються характерні зміни у клітинах, що набухають, округлюються, а моношар клітин поступово руйнується.

До кожного дослідження ставили контролю:

1. Контроль на зараженість тест-об'єктів.
2. Контроль зберігання життєздатності вірусу.
3. Контроль за клітинами культури тканини.

Кожний дослід виконували у 3-х повторах.

Таблиця 2. Віруліцидна активність препарату «Юсепт» при незараженні вакцинного поліовірусу типу 1 на батистових тест-об'єктах

Повторність дослідження	Пасаж	Концентрація за діючою речовиною (%)	Експозиція					
			15 секунд	30 секунд	60 секунд	5 хвилин	15 хвилин	30 хвилин
1	1	0,02%	####	####	-----	-----	-----	-----
	2		####	####	-----	-----	-----	-----
	3		####	####	-----	-----	-----	-----
2	1		####	####	-----	-----	-----	-----
	2		####	####	-----	-----	-----	-----
	3		####	####	-----	-----	-----	-----
3	1		####	####	-----	-----	-----	-----
	2		####	####	-----	-----	-----	-----
	3		####	####	-----	-----	-----	-----
1	1	0,03%	####	####	-----	-----	-----	-----
	2		####	####	-----	-----	-----	-----
	3		####	####	-----	-----	-----	-----
2	1		####	####	-----	-----	-----	-----
	2		####	####	-----	-----	-----	-----
	3		####	####	-----	-----	-----	-----
3	1		####	####	-----	-----	-----	-----
	2		####	####	-----	-----	-----	-----
	3		####	####	-----	-----	-----	-----
1	1	0,05%	####	-----	-----	-----	-----	-----
	2		####	-----	-----	-----	-----	-----
	3		####	-----	-----	-----	-----	-----
2	1		####	-----	-----	-----	-----	-----
	2		####	-----	-----	-----	-----	-----
	3		####	-----	-----	-----	-----	-----
3	1		####	-----	-----	-----	-----	-----
	2		####	-----	-----	-----	-----	-----
	3		####	-----	-----	-----	-----	-----
КЖВ	1	-	####	####	####	####	####	####
	2		####	####	####	####	####	####
	3		####	####	####	####	####	####
КЗТО	1	-	####	####	####	####	####	####
	2		####	####	####	####	####	####
	3		####	####	####	####	####	####
ККТ	1	-	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	2		-----	-----	-----	-----	-----	-----
	3		-----	-----	-----	-----	-----	-----

Примітка:

наявність цитопатогенної дії поліовірусу

----- відсутність цитопатогенної дії поліовірусу

- дослідження не проводили

	3		— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
КЖВ	1	-	####	####	####	####	####	####
	2		####	####	####	####	####	####
	3		####	####	####	####	####	####
КЗТО	1	-	####	####	####	####	####	####
	2		####	####	####	####	####	####
	3		####	####	####	####	####	####
ККТ	1	-	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
	2		— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
	3		— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —

Примітка:

наявність цитопатогенної дії вірусу грипу

— — — — відсутність цитопатогенної дії вірусу грипу

- дослідження не проводили

КЗТО – контроль зараженості тест-об'єктів вірусом грипу

КЖВ – контроль життєздатності вірусу грипу

ККТ - контроль культури клітин MDCK

Таким чином, 0,02% концентрація препарату «Юсепт» призводить до інактивації вірусу грипу А(H1N1)pdm через 15 секунд на батистових тест-об'єктах.

Отже, вивчення віруліцидної активності препарату «Юсепт» показало наявність такої дії як проти складних, так і проти простих вірусів.

Зав.відділом респіраторних
та інших вірусних інфекцій
д.мед.н., професор



Міроненко А.П.

Старший співробітник,
Кандидат біологічних наук

Радченко Л.В.