

Федеральное бюджетное учреждение науки

«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»

Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека

УДК: 61.615.035.1-001.891.57

Инв. №

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера

_____ А.А. Тоголян

« _____ » _____ 2020 г.


М. П.



*Изучение противовирусной активности препаратов
Дезинфицирующее средство (кожный антисептик) «ТефлексА» и
Дезинфицирующее средство «МультиДез – Тефлекс для посуды»*

Отчет о НИР

Руководитель
исследований, д.б.н.

 _____ В.В. Зарубаев
подпись, дата 04.04.2020

Санкт-Петербург
2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель исследования,
д.б.н.


подпись, дата 04.04.2020


В.В. Зарубаев
(введение, заключение,
материалы и методы,
результаты)

Научный сотрудник, к.б.н.


подпись, дата 04.04.2020

А.С. Волобуева
(проведение
экспериментальной части
работ)

Научный сотрудник


подпись, дата 04.04.2020

Р.А. Кадырова
(проведение
экспериментальной части
работ)

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ТА 0,4 – Тефлекс А с концентрацией 0,4%

ТА 0,6 – Тефлекс А с концентрацией 0,6%

ТА 0,8 – Тефлекс А с концентрацией 0,8%

ТА 1 – Тефлекс А с концентрацией 1,0%

Посуда 0,4 – МультиДез –Тефлекс для посуды с концентрацией 0,4%

Посуда 0,6 – МультиДез –Тефлекс для посуды с концентрацией 0,6%

Посуда 0,8 – МультиДез –Тефлекс для посуды с концентрацией 0,8%

Посуда 1 – МультиДез –Тефлекс для посуды с концентрацией 1,0%

N 1Э;

N 47.

ЦПД – цитопатогенное действие

MEM – minimal essential medium

TCID₅₀ – 50% tissue culture infecting dose

РЕФЕРАТ

Отчет 12 с., 1 табл., 2 прил.

Ключевые слова: Тефлекс А, МультиДез –Тефлекс для посуды, вирус гриппа, оболочечные вирусы, опыты *in vitro*, вирулицидное действие

Цель исследования: оценка вирулицидной активности дезинфицирующего средства (кожного антисептика) «ТефлексА» и дезинфицирующего средства «МультиДез –Тефлекс для посуды» в отношении оболочечных респираторных вирусов человека на примере вируса гриппа.

Объекты исследования: образцы дезинфицирующего средства (кожного антисептика) «ТефлексА» и дезинфицирующего средства «МультиДез –Тефлекс для посуды» производства ООО Софт Протектор.

Методология. Инфекционная активность вируса гриппа была оценена после 5-минутной инкубации с исследуемыми образцами при помощи титрования на культуре клеток MDCK.

Результаты. Инкубация вируса в течение 5 минут с любым из использованных антисептиков приводила к потере инфекционной активности вируса. Лишь при инкубации с образцом ТА 0,4 была возможной детекция вируса (потеря инфекционности составила 4,3 порядка). Во всех остальных случаях инфекционный титр вируса оказывался ниже порога детекции ($0,0 \lg \text{TCID}_{50}/0.2$ мл).

Заключение. Полученные данные позволяют говорить о высокой эффективности дезинфицирующего средства (кожного антисептика) «ТефлексА» и дезинфицирующего средства «МультиДез –Тефлекс для посуды» против вируса гриппа и с большой вероятностью – против других оболочечных вирусов человека, включая коронавирусы.

Отчёт содержит следующие приложения:

1. Приложение – свидетельство о гос. регистрации дезинфицирующего средства (кожного антисептика) «ТефлексА»
2. Приложение – свидетельство о гос. регистрации дезинфицирующего средства «МультиДез –Тефлекс для посуды»

Оглавление

1.	Введение.....	6
2.	Материалы и методы.....	6
	2.1.Реактивы и приборы.....	6
	2.2.Дизайн исследования.....	7
3.	Результаты исследования.....	9
4.	Заключение.....	10

1. Введение

Вирусы представляют собой серьёзную угрозу здоровью, а в тяжёлых случаях и жизни человека. Достаточно упомянуть опасные такие патогены, как ВИЧ, грипп, корь, ряд геморрагических лихорадок и др. Для предотвращения борьбы с такими инфекций применяются вакцины, а для лечения заболеваний – противовирусные препараты. Однако как вакцины, так и средства терапии разработаны далеко не для всех вирусных патогенов человека. В качестве примера можно привести коронавирус COVID-19, вызвавший пандемию в 2019 – 2020 гг. В этих случаях единственной эффективной мерой борьбы с распространением вирусной инфекции является соблюдение карантинных и санитарных мер. В структуре таких мероприятий важную роль играет правильный выбор и применение эффективных и доступных антисептиков и дезинфектантов. Целью настоящего исследования была оценка вирулицидной активности дезинфицирующего средства (кожного антисептика) «ТефлексА» и дезинфицирующего средства «МультиДез – Тефлекс для посуды» в отношении оболочечных респираторных вирусов человека на примере вируса гриппа.

2. Материалы и методы.

2.1. Реактивы и приборы

Культура клеток MDCK, почка собаки (ATCC; Кат. № CCL-34);

Вирус гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)

Полная среда MEM, содержащая 2 mM L-глутамина, 250 мг/л гентамицина, 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (РАА, Австрия Кат. №E15-825);

Физиологический раствор (0.9% раствор NaCl в дистиллированной воде, стерильный, Биолот, Санкт-Петербург, Кат. № 1.2.1.3);

Флаконы для клеточных культур 25 мл (Corning, США)

96-луночные планшеты (Corning, США, Кат. № 3585);

Наконечники для автоматических пипеток 20-200 мкл;

Ламинарный бокс, второго класса защиты (БОВ-001-АМС, Миасс, Россия);

CO₂- инкубатор MCO-175 (Panasonic, Япония);

2.2. Дизайн исследования.

Клетки MDCK сеяли во флаконы для клеточных культур или в 96-луночные планшеты и инкубировали 24 часа в атмосфере 5% CO₂ при 36°C до формирования монослоя. Вирус наращивали в монослое клеток во флаконах для клеточных культур в течение 48 ч при 36°C.

В работе использовали следующие образцы антисептических средств, предоставленные Заказчиком (см. список сокращений):

- ТА 0,4;
- ТА 0,6;
- ТА 0,8;
- ТА 1;
- Посуда 0,4;
- Посуда 0,6;
- Посуда 0,8;
- Посуда 1;
- N 1Э;
- N 47.

Два последних образца (N 1Э и N 47) растворяли в равном объёме физиологического раствора при температуре 60°C, после чего анализировали так же, как и остальные жидкие образцы.

Для анализа противовирусной активности 0,5 мл каждого из образцов смешивали в 1,5 мл пробирке с равным объёмом вирусосодержащей жидкости (исходный титр вируса 5×10^6 TCID₅₀/мл). В контрольную пробирку вместо антисептика вносили 0,5 мл физиологического раствора. Пробирки инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут, после чего в вирусосодержащей

жидкости определяли инфекционную активность вируса как описано ниже. В каждой группе образцов использовали по три аналитические параллели.

Титрование вируса. Из исследуемой вирусосодержащей жидкости готовили серию 10 кратных разведений ($10^{-1} - 10^{-7}$) на среде MEM. Этими разведениями заражали клетки и инкубировали в термостате в течение 48 часов. Титр вируса гриппа определяли по результатам реакции гемагглютинации (РГА, см. далее). Каждую из концентраций исследуемого препарата Противовирусную активность образцов оценивали по снижению титра вируса в опытных лунках планшетов по сравнению с контрольными (группа контроля вируса).

Реакция гемагглютинации (РГА). Для определения наличия вируса гриппа в культуральной жидкости проводили реакцию гемагглютинации. Для этого культуральную жидкость переносили в лунки планшета для иммунологических реакций, после чего добавляли равный объем 1% куриных эритроцитов в физиологическом растворе. Планшеты инкубировали при 20°C в течение 1 ч, после чего визуально проводили учет результатов. За титр вируса принимали наибольшее разведение вирусосодержащего материала, при котором наблюдалась положительная реакция гемагглютинации. Положительным считают результат реакции, при котором эритроциты равномерно покрывали всё дно лунки. При отрицательной реакции эритроциты в виде маленького диска или «пуговки» располагаются в центре дна анализируемой лунки планшета. Титр вируса в каждом из экспериментальных образцов определяли по методу Рида и Менча.

Статистическая обработка результатов. Результаты измерения инфекционного титра вирусов представляли в виде $M \pm SE$, где M – среднее значение, SE – ошибка эксперимента. Полученные данные сравнивали между собой в парах «вирус с антисептиком – контроль вируса» с помощью критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

3. Результаты исследования.

Результаты определения инфекционного титра вируса гриппа до и после инкубации с образцами антисептиков суммированы в табл.1.

Таблица 1. Влияние инкубации с образцами антисептиков в течение 5 минут на инфекционную активность вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1).

Образец	Максимальное разведение с положительной гемагглютинацией			Инфекционный титр вируса (lg TCID ₅₀ /0.2 мл) после инкубации с образцами антисептиков
КВ	6	6	6	6,0±0,0
ТА 0,4	2	1	2	1,7±0,6 (p=0.006)
ТА 0,6	0	0	0	0,0±0,0
ТА 0,8	0	0	0	0,0±0,0
ТА 1	0	0	0	0,0±0,0
Посуда 0,4	0	0	0	0,0±0,0
Посуда 0,6	0	0	0	0,0±0,0
Посуда 0,8	0	0	0	0,0±0,0
Посуда 1	0	0	0	0,0±0,0
N 1Э	0	0	0	0,0±0,0
N 47	0	0	0	0,0±0,0

Как видно из представленных результатов, инкубация вируса в течение 5 минут с любым из использованных антисептиков приводила к потере инфекционной активности вируса. Лишь при инкубации с образцом ТА 0,4 была возможной детекция вируса (потеря инфекционности составила 4,3 порядка). Во всех остальных случаях инфекционный титр вируса оказывался ниже порога детекции (0,0 lg TCID₅₀/0.2 мл).

В качестве модельного вируса в настоящем исследовании был использован вирус гриппа, относящийся к оболочечным РНК-геномным вирусам. Оболочечные вирусы имеют наружную мембрану, составленную бислоем фосфолипидов. Вследствие этого, в отличие от безоболочечных, они быстро разрушаются под действием мембранотропных агентов, таких как ПАВ, эфирные масла и органические растворители. К этой же группе относятся и другие опасные для человека вирусы, такие как респираторно-синцитиальный вирус, ВИЧ, вирус парагриппа, вирусы гепатита В и С. Сюда же относится и новый высокопатогенный коронавирус COVID-19, вызвавший пандемию 2019-2020 гг. Основываясь на полученных данных, можно с высокой вероятностью предполагать эффективность изученных образцов растворов Теффлекса в отношении всех перечисленных вирусных патогенов.

При сравнении вирусингибирующих свойств изученных образцов с другими средствами дезинфекции следует сказать, что полная инактивация вируса достигается при весьма низких концентрациях дезинфектанта. Так, широко применяемый дезинфектант Протаргол содержит 8% серебра. В качестве наружного дезинфектанта применяется также этанол в концентрации 70%, причём снижение концентрации ведёт к резкой потере дезинфицирующих свойств. По совокупности характеристик, таким образом, Тефлекс выгодно отличается от многих продуктов аналогичного назначения.

4. Заключение.

Полученные данные позволяют говорить о высокой эффективности дезинфицирующего средства (кожного антисептика) «ТефлексА» и дезинфицирующего средства «МультиДез – Тефлекс для посуды» против вируса гриппа и с большой вероятностью – против других оболочечных вирусов человека, включая коронавирусы, что требует дополнительных исследований.



ТАМОЖЕННЫЙ СОЮЗ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ, РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
И РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
заместитель Главного государственного санитарного врача Российской Федерации
Российская Федерация

СВИДЕТЕЛЬСТВО
о государственной регистрации

№ RU.77.99.88.002.E.005422.04.15

от 08.04.2015 г.

Продукция:
средство дезинфицирующее (кожный антисептик) "ТефлексА". Изготовлена в соответствии с документами: ТУ 9392-008-23170704-2007. Изготовитель (производитель): ООО "СОФТ ПРОТЕКТОР", 195030, г. Санкт-Петербург, ул. Химиков, д. 28, литер "Ц", Российская Федерация. Получатель: ООО "СОФТ ПРОТЕКТОР", 195030, г. Санкт-Петербург, ул. Химиков, д. 28, литер "Ц", Российская Федерация.

Соответствует
Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)

прошла государственную регистрацию, внесена в Реестр свидетельств о государственной регистрации и разрешена для производства, реализации и использования
в соответствии с инструкцией по применению средства от 26.01.2009 г. № 1/09.

Настоящее свидетельство выдано на основании (перечислить рассмотренные протоколы исследований, наименование организации (испытательной лаборатории, центра), проводившей исследования, другие рассмотренные документы):
взамен свидетельства о государственной регистрации № RU.77.99.01.002.E.004320.03.11 от 02.03.2011 г., экспертных заключений: от 05.08.2007 г. № 52/ИЛЦ, от 26.01.2009 г. № 07-09/ИЛЦ ФГУ "РНИИТО им Р.Р. Вредена Росмедтехнологий"; ТУ; этикетки; рецептуры; технологического регламента, инструкции по применению средства от 26.01.2009 г. № 1/09.

Срок действия свидетельства о государственной регистрации устанавливается на весь период изготовления продукции или поставок подконтрольных товаров на территории таможенного союза

Подпись, ФИО, должность уполномоченного лица,
выдавшего документ, и печать органа (учреждения),
выдавшего документ

И.В. Брагина
М. П.

№ 0264076



ТАМОЖЕННЫЙ СОЮЗ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ, РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
И РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
заместитель Главного государственного санитарного врача Российской Федерации
Российская Федерация

СВИДЕТЕЛЬСТВО
о государственной регистрации

№ RU 77.99.88.002.E.005426.04.15

от 08.04.2015 г.

Продукция
средство дезинфицирующее "МультиДез-Тефлекс для посуды". Изготовлена в соответствии с документами: ТУ 9302-012-23170704-2008. Изготовитель (производитель): ООО "СОФТ ПРОТЕКТОР", 191000, г. Санкт-Петербург, ул. Химиков, д. 28, литер "Ц", Российская Федерация. Получатель: ООО "СОФТ ПРОТЕКТОР", 195030, г. Санкт-Петербург, ул. Химиков, д. 28, литер "Ц", Российская Федерация.


соответствует
Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)

прошла государственную регистрацию, внесена в Реестр свидетельств о государственной регистрации и разрешена для производства, реализации и использования
в соответствии с инструкцией по применению средства от 19.10.2009 г. № 19-10/09.

Настоящее свидетельство выдано на основании (перечислить рассмотренные протоколы исследований, наименование организации (испытательной лаборатории, центра), проводившей исследования, другие рассмотренные документы):
взамен свидетельства о государственной регистрации № RU.77.99.01.002.E.004321.03.11 от 02.03.2011 г., экспертного заключения от 19.10.2009 г. № 78-09/ИЛЦ ФГУ "РНИИТО им Р.Р. Вредена Росмедтехнологий", ТУ; этикетки; рецептуры; технологического регламента; инструкции по применению средства от 19.10.2009 г. № 19-10/09.

Срок действия свидетельства о государственной регистрации устанавливается на весь период изготовления продукции или поставок подконтрольных товаров на территорию таможенного союза

Подпись, ФИО, должность уполномоченного лица, выдавшего документ, и печать органа (учреждения), выдавшего документ


И.В. Брагина
М. П.

№ 0264080