

ВІРУЛІЦИДНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ СУЧАСНИХ ВІТЧИЗНЯНИХ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАСОБІВ

Козловський М.М., Бек Н.Г., Кохтюк І.В.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького м. Львів, Україна

Анотація. Наведено результати дослідження віруліцидної активності деяких сучасних вітчизняних дезінфекційних засобів in vitro відносно РНК-вмісного ентеровірусу типу Коксакі В-1, ДНК-вмісного вірусу хвороби Ауєскі та in vivo відносно коронавірусу гепатиту мишей. Встановлено, що всі досліджені в культурі клітин лінії Нер-2 та на лабораторних мишах дезінфекційні засоби володіють вираженою віруліцидною активністю. Віруліцидна дія характеризувалась зниженням інфекційного титру тест-вірусів після обробки їх дезінфекційними засобами порівняно з контролем (експозиція вірусу без дезінфікуючих засобів), що складало стосовно ентеровірусу Коксакі В-1 в межах від 2,44 до 4,11 lg ТЦД50/0,2мл, стосовно вірусу хвороби Ауєскі - від 2,11 до 3,65 lg ТЦД50/0,2мл та стосовно коронавірусу – більше 2 lg LD50/0,2мл.

Ключові слова: дезінфікуючі засоби, віруліцидна активність, ентеровіруси Коксакі, вірус хвороби Ауєскі, коронавіруси.

Вступ. В теперішній час глобальної коронавірусної пандемії COVID-19 різко зросла актуальність застосування різноманітних дезінфекційних та антисептичних засобів. Їх використання для миття рук і обробки шкіри людини, предметів медичного, лікарняного, побутового призначення, поверхонь приміщень в осередках вірусних інфекцій, у лікувальних, дитячих і навчальних закладах, у лабораторіях медичного профілю, закладах громадського харчування, в побуті та об'єктів зовнішнього довкілля здатне ефективно запобігти розповсюдженню багатьох інфекцій, що передаються аерогенним, фекально-оральним та контактним шляхом.

Важливим елементом вивчення дезінфекційних властивостей різноманітних дезінфектантів і антисептиків є визначення їх віруліцидної активності. Багато розроблених на сьогодні вказаних засобів боротьби з інфекційними хворобами потребують встановлення їх прямої дії саме на вірусні патогени.

Мета дослідження. Визначити віруліцидну активність деяких сучасних вітчизняних дезінфекційних та антисептичних засобів.

Матеріали та методи дослідження. Дослідженню віруліцидних властивостей підлягали 9 сучасних дезінфекційних засобів (ДЗ), виготовлених рядом вітчизняних виробників і призначених для хірургічної та гігієнічної дезінфекції рук, антисептичної обробки шкіри, дезінфекції підлоги, поверхонь приміщень та різноманітних предметів при застосуванні в

лікувальних, навчальних закладах, в побуті, тощо. Основні характеристики досліджуваних ДЗ наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Основні характеристики досліджуваних дезінфекційних засобів

№ ДЗ	Виробник	Назва дезінфекційного засобу	Основні діючі речовини	Призначення
1	ТзОВ «Вінсо Індастріс Україна»	ТМ «Alma Sept Expert»	дидецилдиметил аммоніум хлорид, додещилдипропілендіамін	для хірургічної та гігієнічної дезінфекції рук та ніг у різних сферах застосування (експозиція 5 хв)
2	ТзОВ «Вінсо Індастріс Україна»	ТМ «Alma Sept»	спирт ізопропіловий, спирт етиловий, перекис водню	для дезінфекції рук та антисептичної обробки шкіри (експозиція 5 хв)
3	ТзОВ "СК Джонсон"	«MR.MUSCLE»	молочна кислота (80 %)	для дезінфекції всіх типів поверхонь
4	ТзОВ "СК Джонсон"	Mr.Muscle «Лимон»	алкілдиметилбензил-амоній хлорид	для дезінфекції підлоги та поверхонь при застосуванні в побуті (розведення 1:30, експозиція 10 хв)
5	ТзОВ "СК Джонсон"	DUCK Mr.Muscle гель «Морський»	соляна кислота	для дезінфекції і догляду за унітазами (експозиція 10 хв)
6	ТзОВ "СК Джонсон"	«Mr.Muscle» спрей	триетиленгліколь, бензалконій сахаринат	для дезінфекції і застосування в побуті (експозиція 10 хв)
7	ПАТ Фармацевтична фабрика «Віола»	«Антисептичний засіб з олією лимону»	ізопропіловий спирт, перекис водню	для гігієнічної обробки рук та дезінфекції поверхонь приміщень, транспортних засобів (експозиція 10 хв)
8	ТзОВ «НВП «Атлантик Хім»	«Solo sterile» (спрей)	спирт етиловий, алкілдиметилбензалконіум хлорид	для дезінфекції поверхонь та шкіри рук (експозиція 10 хв)
9	ТзОВ «НВП «Атлантик Хім»	«Solo sterile light» (гель)	спирт етиловий	для дезінфекції шкіри рук (експозиція 10 хв)

Визначення віруліцидної дії здійснювали *in vitro* стосовно наступних тест-вірусів: 1) РНК-вмісного ентеровірусу типу Коксакі В-1 (*Coxsackievirus* В-1, штам *Connecticut* 5), отриманого з "Научного центра исследований и разработки иммунобиологических препаратов

имени М.П. Чумакова" (РФ); 2) ДНК-вмісного вірусу хвороби Ауескі, родини *Herpesviridae*, роду *Suid alphaherpesvirus 1* (штам Петріківський-2006), отриманого з Інституту ветеринарної медицини УААН (м.Київ); та *in vivo* стосовно коронавірусу гепатиту мишей, штам «Мищерина», отриманого з Інституту вірусології ім. Д.Й.Івановського АМН СРСР, який відноситься до роду *Betacoronavirus*, до якого входить і збудник важкого гострого респіраторного синдрому – SARS- CoV, що викликав епідемію у 2002-2003 рр. і, відповідно, збудник пандемії COVID-19 - вірус SARS-CoV-2 [1,2].

Дослідження *in vitro* проводили суспензійним методом на перещеплюваних клітинах лінії *Hep-2* відповідно до Наказу Міністерства охорони здоров'я України № 2024 від 03 вересня 2020 р. «Методи проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці» та Методичних рекомендацій «Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів», затверджених наказом МОЗ України № 231 від 08.04.2009 р. [3].

Для цього досліджували дезінфекційні засоби в готовому або розведеному вигляді (згідно інструкції використання кожного ДЗ) додавали до вірусного культурального матеріалу у співвідношенні 1:1 (1 мл + 1 мл) і витримували при кімнатній температурі впродовж 5-10 хв. Паралельно, в якості контролю, на аналогічній експозиції знаходився вірусний матеріал без конкретного дезінфекційного засобу.

Після вказаної експозиції проводили титрування досліджуваного і контрольного вірусомісних матеріалів. Для цього, використовуючи підтримуюче живильне культуральне середовище (суміш середовища 199 (50%) і середовища ДМЕМ (50%)), готували вісім 10-кратних розведень дослідних матеріалів (від 1:1000 (-3 lg) до 1:10 000 000 000 (-10 lg), які в об'ємі 200 мкл вносили на клітинний моношар, вирощений у 96-ямковій пластиковій планшеті. На кожне розведення використовували по 6 ямок. Спостереження за інфікованими клітинами здійснювали впродовж 7 днів, проводячи щоденне їх мікроскопічне дослідження, оцінюючи ступінь цитопатичної дії (ЦПД) тест-вірусу. Титр вірусу в lg ТЦІД50/0,2мл визначали за методом Ріда і Менча [4]. Віруліцидний ефект (в lg ТЦІД50) ДЗ визначали як різницю між титром вірусу в контролі (без обробки ДЗ) і в досліді (з обробкою ДЗ) [3].

Визначення віруліцидної дії ДЗ *in vivo* здійснювали на білих нелінійних лабораторних мишах та мишах лінії СВА масою 12-14 г згідно вищевказаних Методичних рекомендацій [3]. Для цього досліджуваний засіб додавали до приготованої 10 % печінкової мишиної суспензії коронавірусу мишей у співвідношенні 1:1 (1 мл + 1 мл) і витримували при кімнатній температурі впродовж 10 хв. Паралельно, в якості контролю, на аналогічній експозиції знаходилась вірусна суспензія без дезінфекційного засобу.

Після вказаної експозиції готували чотири 10-кратних розведення дослідного і контрольного вірусних матеріалів, починаючи від 1:1000 (-3 lg) до 1:1000000 (-6 lg), якими доочеревинно інфікували лабораторних тварин в об'ємі 0,2 мл. На кожну експериментальну умову використовували по 5 мишей. Спостереження за інфікованими тваринами здійснювали впродовж 14 днів, проводячи щоденний облік їх летальності.

Титр вірусу в lg ЛД50/0,2мл визначали за методом Ріда і Менча [4]. Віруліцидний ефект (в lg ЛД50) ДЗ визначали як різницю між титром вірусу в контролі (без обробки ДЗ) і в досліді (з обробкою ДЗ).

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані результати проведених досліджень наведені в табл. 2, 3. Із їх даних видно, що всі досліджувані ДЗ володіють певною віруліцидною активністю, яка характеризувалась зниженням інфекційного титру тест-вірусів після обробки їх дезінфекційними засобами порівняно з контролем, коли експозиція вірусів з дезінфікуючими засобами не застосовувалась.

Таблиця 2

Результати визначення *in vitro* віруліцидної активності досліджуваних дезінфекційних засобів щодо вірусів Коксакі В-1 та хвороби Ауескі

№ ДЗ	Дія на ентеровірус Коксакі			Дія на вірус хвороби Ауескі		
	Титр вірусу в досліді (lg ТЦД50)	Титр вірусу в контролі (lg ТЦД50)	Віруліцидний ефект (lg ТЦД50)	Титр вірусу в досліді (lg ТЦД50)	Титр вірусу в контролі (lg ТЦД50)	Віруліцидний ефект (lg ТЦД50)
1	6,25	8,69	2,44	3,74	6,00	2,26
3	3,36	6,15	2,79	3,5	6,00	2,50
4	6,15	8,64	2,49	4,25	6,36	2,11
5	3,36	6,36	3,00	3,5	6,15	2,65
6	3,50	6,50	3,00	3,60	6,00	2,40
7	4,25	8,36	4,11	3,50	7,15	3,65

Більш виражений віруліцидний ефект дезінфекційних засобів спостерігався *in vitro* стосовно РНК - вмісного ентеровірусу типу Коксакі В-1, який складав від 2,44 до 4,11 lg ТЦД50/0,2мл. Щодо ДНК-вмісного вірусу хвороби Ауескі він реєструвався *in vitro* в межах від 2,11 до 3,65 lg ТЦД50/0,2мл. В дослідженнях на лабораторних мишах віруліцидна дія ДЗ відносно коронавірусу виражалася у зниженні інфекційного титру вказаного тест-вірусу більш ніж на 2 lg LD50/0,2мл (точно встановити не вдалося, оскільки при інфікуванні тварин

найменшим розведенням 1:1000 їх загибель не спостерігалась або фіксувалась в незначній кількості (1 миша із 5).

Слід зазначити, що серед досліджених дезінфектантів і антисептиків більш ефективними виділялись ті засоби, в склад яких входили такі основні діючі речовини, як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, соляна кислота.

Таблиця 3

Результати визначення in vivo віруліцидної активності досліджуваних дезінфекційних засобів щодо коронавірусу гепатиту мишей

№ ДЗ	Титр вірусу в досліді (lg LD ₅₀)	Титр вірусу в контролі (lg LD ₅₀)	Віруліцидний ефект (lg LD ₅₀)
2	<3,00 *	5,00	>2,00
8	<3,00 **	5,00	>2,00
9	<3,00 **	5,00	>2,00

Примітка 1. * - загибелі дослідних мишей, інфікованих вірусом в розведенні 1:1000 і вище не зареєстровано.

Примітка 2. ** - зареєстровано загибель лише 1 дослідної миші, інфікованої вірусом в найменшому розведенні 1:1000.

Висновок. Проведені дослідження свідчать, що розроблені сучасні вітчизняні дезінфекційні та антисептичні засоби володіють вираженими широкими віруліцидними властивостями, як відносно представників РНК-вмісних так і ДНК-вмісних вірусів, в тому числі і щодо представників родини коронавірусів, до якої належить актуальний на сьогодні пандемічний збудник COVID-19. Досліджені засоби можуть бути успішно застосовані для відповідної дезінфекції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Медицинская вирусология: Руководство (2008)./ Под ред. Д.К.Львова. М.: ООО «Мед. Информ. Агентство», 2008. – 656 с.
2. Гудзь С.П. (2018). Вірусологія : підручник / С.П.Гудзь, Т.Б.Перетятко, А.А.Галушка. –Львів: ЛНУ ім. І.Франка, 536 с.
3. Методичні рекомендації «Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів», затверджені наказом МОЗ України № 231 від 08.04.2009 р.. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada> (дата звернення 15.11.2021)
4. Лакин Г.Ф (1980). Сравнение выборочных долей / Г.Ф.Лакин // *Биометрия*. - М.: Высшая школа, - С. 104-107.

REFERENCES

1. Medical Virology: A Guide (2008). Ed. D.K. Lvov. M.: ООО «Med. Inform. Agency»,. – 656 p. (in Russian).
2. Gudz S.P (2018). Virology: textbook /S.P.Gudz, T.B.Peretyatko, A.A.Galyshka. -Lviv: I. Franko LNU, -536 p. (in Ukrainian).
3. Methodical recommendations (2009)"Determination of virucidal action of disinfectants", approved by the order of the Ministry of Health of Ukraine № 231 dated 08.04.. (in Ukrainian).
4. G.Lakin (1980). Comparison of sample shares. "Biometrics". M.: Vysshaya shkola.: 104-107. (in Russian).

VIRUCIDAL ACTIVITY OF SOME MODERN DOMESTIC DISINFECTANTS

Kozlovskyi M., Bek N., Kokhtyuk I.

Abstract. The results of the study of virucidal activity of some modern domestic disinfectants in vitro against RNA-containing enterovirus such as Coxsackie B-1, DNA-containing virus of Aujeszky's disease and in vivo against mouse hepatitis coronavirus are presented. It was found that all disinfectants studied in Hep-2 cell culture and in laboratory mice have a pronounced virucidal activity. Virucidal action was characterized by a decrease in the infectious titer of test viruses after treatment with disinfectants compared to control (exposure of the virus without disinfectants), which was for enterovirus Coxsackie B-1 in the range from 2.44 to 4.11 lg TCD50 / 0.2 ml , for Aujeszky's disease virus - from 2.11 to 3.65 lg TCD50 / 0.2 ml and for coronavirus - more than 2 lg LD50 / 0.2 ml.

Key words: *disinfectants, virucidal activity, Coxsackie enteroviruses, Aujeszky's disease virus, coronaviruses.*

Козловський Михайло Михайлович, ORCID ID 0000-0001-6440-0335,+38(050) 229 06 75, kmmnauka@gmail.com .

Бек Н.Г., ORCID ID 0000-0002-3828-9554

Кохтюк І.В., ORCID ID 0000-0002-4745-542X