

## ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ЗАСОБУ «САНАЦІЯ+» ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ГОСТРИХ РЕСПІРАТОРНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

А. М. Сердюк, О. В. Сурмашева, О. О. Черниш, О. О. Полька, М. О. Росада

Державна установа «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», вул. Попудренка, 50, Київ 02094, Україна

**Стан проблеми.** Враховуючи надзвичайну загрозу пандемії Covid-19 в Україні, для боротьби з нею наразі важливо розробити та використати ефективні протимікробні препарати, у тому числі засоби з антимікробною дією, щоб порушити механізми передачі збудника. Перспективним є використання засобів, отриманих електролізом.

**Мета роботи.** Визначення специфічної активності засобу «Санація+», ефективності знезараження слизових оболонок верхніх дихальних шляхів волонтерів та оцінка ефективності засобу для лікування та профілактики інфекції Covid-19.

**Матеріали та методи.** У дослідженні використано медичний засіб «Санація+», що містить хлорнуватисту кислоту, високоактивні кисневі сполуки хлору, вільні радикали хлору та кисню (масова концентрація активного хлору – 0,035 %). Антимікробна дія препарату вивчена затвердженими методами (Наказ МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 р.). Для вивчення ефективності санації верхніх дихальних шляхів добровольців за допомогою засобу «Санація+» використовували пристрої для утворення аерозолів: небулайзер «Nano Mist Sprayer» (Китай) та компресорний інгалятор, модель CN-123 (Японія).

**Результати.** Засіб «Санація+» показав високу віруліцидну, бактерицидну та дріжджецидну активність в умовах *in vitro* за експозиції 30 і 60 сек. для *Escherichia coli* K12 NCTC 10538 lg R > 5,42; для *Pseudomonas aeruginosa* lg R > 5,37; *Staphylococcus aureus* lg R > 5,34; для *Candida albicans* lg R > 4.31. Засіб «Санація+» при використанні протягом 30 сек є ефективним препаратом для знезараження від макро- та мікрівірусів, про що свідчать високі логарифми зменшення бактеріофагів: T2 – > 5,08 lg, MS2 – > 5,12 lg. При застосуванні волонтерами засобу «Санація+» за допомогою небулайзера «Nano Mist Sprayer» відбулося значне зниження кількості мікроорганізмів на поверхні слизової оболонки носа добровольців: через 5 хв вдихання препарату обмінення слизових оболонок носа зменшилось на 4,22 lg ( $p < 0,001$ ), у горлі – на 4,14 lg ( $p < 0,001$ ). Застосування препарату з використанням інгалятора сприяло зниженню кількості мікроорганізмів на поверхні слизових оболонок носа і горла: найбільш ефективна тривалість дії становила 5 хв (коефіцієнт зменшення: для слизової оболонки носа RF = 4,23 ( $p < 0,001$ ), для слизової оболонки горла RF = 4,78 ( $p < 0,001$ )).

**Висновки.** Встановлено високу антимікробну ефективність засобу «Санація+» в умовах *in vitro* та *in vivo*. Засіб доцільно використовувати для санації дихальних шляхів шляхом інгаляції для профілактики та у комплексній терапії при лікуванні респіраторних захворювань, у тому числі коронавірусної хвороби.

**Ключові слова:** засіб «Санація+», бактерицидність, віруліцидність, дріжджецидність, добровольці, Covid-19.

### *Відомості про авторів*

**Сердюк Андрій Михайлович** – д. м. н., проф., академік НАМН України, директор ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», Київ, ORCID: 0000-0002-4145-9948

**Сурмашева Олена Василівна** – д. м. н., професор, завідувач лабораторії санітарної мікробіології та дезінфектології ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», Київ, ORCID: 0000-0001-7739-0295

**Черниш Олена Олегівна** – науковий співробітник лабораторії санітарної мікробіології та дезінфектології ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», Київ, ORCID: 0000-0002-0474-2664

**Полька Олена Олександрівна** – к. м. н., провідний науковий співробітник лабораторії санітарної мікробіології та дезінфектології ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», Київ, ORCID: 0000-0002-7987-8355

**Росада Михайло Олексійович** – д. м. н., провідний науковий співробітник лабораторії санітарної мікробіології та дезінфектології ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», Київ

*Для цитування:* Сердюк АМ, Сурмашева ОВ, Черниш ОО, Полька ОО, Росада МО. Вивчення антимікробної дії засобу «Санация+» для профілактики та лікування гострих респіраторних захворювань. Журнал Національної академії медичних наук України. 2022;28(1); 355-366. DOI: 10.37621/JNAMSU-2022-1-4.

Стаття надійшла до редакції 03.02.2022 року

Направлена на рецензування 03.05.2022 року

Прийнята до публікації 28.06.2022 року

## **STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTION OF «SANATION +» FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF ACUTE RESPIRATORY DISEASES**

**Andriy M. Serdiuk, Olena V. Surmasheva, Olena O. Chernysh, Olena O. Polka, Mykhailo O. Rosada**

*State Institution «O. M. Marzиеv Institute for Public Health of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 50 Popudrenko Str., Kyiv 02094, Ukraine*

**State of the problem.** Given the extreme threat of the Covid-19 pandemic in Ukraine to combat it, it is now important to develop and use effective antimicrobials, including disinfectants to disrupt the transmission mechanisms of the pathogen. Promising for use are the means obtained by electrolysis.

**The aim of the work.** The study was to determine the specific activity and safety of «Sanation+», the effectiveness of the disinfection of the mucous membranes of the upper respiratory tract of volunt, volunteers and evaluate the effectiveness of the tool for the treatment of patients with Covid-19 and for the prevention of respiratory diseases.

**Materials and methods.** The study used a medical device «Sanation+», which contains hydrochloric acid, highly active oxygen compounds of chlorine, free radicals of chlorine and oxygen, and NaCl (mass concentration of active chlorine – 0.035%).

The antimicrobial action of the product according to the Order of the Ministry of Health of Ukraine N 2024, dated September 3, 2020. To study the effectiveness of decontamination of the upper respiratory tract of volunteers with the «Sanation+» used devices for the formation of aerosols: – nebulizer «Nano Mist Sprayer» (China), which sprays the drug with a volume of 1.25-1.45 cm<sup>3</sup> for 60 seconds. The distance from the spray to the mucous membranes was 5-10 cm; – compressor inhaler, model CN-123 (Japan).

**Results.** It was found that the tool «Sanation+» showed high virucidal, bactericidal and yeast activity under exposure for 30 and 60 sec. for *Escherichia coli* K12 NCTC 10538 lg R > 5.42, for *Pseudomonas aeruginosa* lg R > 5.37; for *Staphylococcus aureus* lg R > 5.34; for *Candida albicans* lg R > 4.31. Remediation + when used undiluted and exposed for 30 sec is an effective tool for disinfection from macro- and micro viruses, as evidenced by the high logarithms of the reduction of bacteriophages: T2 – > 5.08 lg, MS2 – > 5.12 lg, indicating the virucidal action of the tool against enveloped and non-enveloped viruses. As a result of the application of «Sanation+» through the nebulizer «Nano Mist Sprayer» there was a significant reduction in the number of microorganisms on the mucosal surface of nasal volunteers: after 5 min the drug decreased by 4.22 lg, on the throat mucosa – by 4.14 lg. The use of the drug through an inhaler helped to reduce the number of microorganisms on the surface of the mucous membranes of both the nose and throat. The most effective duration of action is 5 min (reduction factor: for the nasal mucosa RF = 4.23, for the throat mucosa RF = 4.78).

**Conclusions.** High efficiency of means for rehabilitation of respiratory tracts «Sanation+», for application in complex therapy at the treatment of a coronavirus disease at 55 patients is established. The use of «Sanation+» for the prevention of Covid-19 among health care workers in medical institutions of the disease was not detected.

**Keywords:** remedy «Sanation+», bactericidal, virucidal, volunteers, patients, Covid-19.

### *Information about authors*

**Andriy M. Serdyuk** – Dr Sci. (Medicine), Prof., Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Director of the State Institution «O. M. Marzиеiev Institute for Public Health, NAMSU», Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-4145-9948

**Olena V. Surmasheva** – Dr. Sci. (Medicine), Prof., Head of the Laboratory of Sanitary Microbiology and Disinfectology of the State Institution «O. M. Marzиеiev Institute for Public Health, NAMSU», Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-7739-0295

**Olena O. Chernysh** – Researcher of the Laboratory of Sanitary Microbiology and Disinfectology of the State Institution «O. M. Marzиеiev Institute for Public Health, NAMSU», Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-0474-2664

**Olena O. Polka** – Cand. Sci. (Medicine), Leading Researcher of the Laboratory of Sanitary Microbiology and Disinfectology of the State Institution «O. M. Marzиеiev Institute for Public Health, NAMSU», Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-7987-8355

**Mykhailo O. Rosada** – Dr Sci. (Medicine), Leading Researcher of the Laboratory of Sanitary Microbiology and Disinfectology of the State Institution «O. M. Marzиеiev Institute for Public Health, NAMSU», Kyiv, Ukraine

*For citation: Serduk AM, Surmasheva OV, Chernysh OO, Polka OO, Rosada MO. Study of the antimicrobial action of «Sanation+» for the prevention and treatment of acute respiratory diseases. Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. 2022;28(1); 355-366. DOI: 10.37621/JNAMSU-2022 -1-4.*

The article was received on 03.02.2022

For review, 03.05.2022

Accepted for publication 28.06.2022

**Olena V. Surmasheva**  
ORCID: 0000-0001-7739-0295  
**Surmasheva\_olena@ukr.net**

## ВСТУП

У зв'язку з надзвичайною загрозою пандемії Covid-19 в Україні та необхідністю її подолання [1] натеper актуальним є використання ефективних антимікробних засобів, у тому числі дезінфекуючих засобів, для розриву ланцюжків передачі збудника інфекції. Перспективними для використання є засоби, які отримано методом електролізу. В цю групу дезінфекантів входить хлорнуватиста кислота (HOCl) та продукти її розпаду – потужний антимікробний окиснювач, який використовується в різних галузях діяльності людини [2]. HOCl має високоактивну окисну групу та гіпохлорит-іон. Виявилось, що хлорнуватиста кислота та гіпохлорит-іон, не є речовинами-ксенобіотиками та не здійснюють шкідливого впливу на організм людини й теплокровних тварин. Вони утворюються за участі ферментів та мієлопероксидази або пероксидази еозинофілів у присутності хлорид-іонів та пероксиду водню за реакцією:  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}_2 \rightarrow \text{OCl}_2 + \text{H}_2\text{O}$  [3].

Ці неорганічні речовини (пероксидні сполуки) існують короткий проміжок часу та взаємодіють з кількома біомолекулами, такими як сірковмісні амінокислоти, ліпіди, нуклеїнові кислоти та мембранні компоненти, що спричиняє серйозні пошкодження клітин, формуючи першу лінію неспецифічного захисту від чужорідних патогенів [4]. Крім того, в клітинах організму гіпохлорит-іони здатні моделювати окисну функцію цитохрому P-450 клітин печінки, внаслідок чого розчини гіпохлорит-іонів застосовуються як лікарський засіб, в тому числі інфузійно [5]. Ефект «рідної» речовини дозволяє пояснити високу ефективність застосування гіпохлориту та хорошу переносність його організмом людини, а більшість мікроорганізмів не продукують таких сполук у процесі життєдіяльності та не мають систем антиоксидантного захисту, тому використання продуктів HOCl стає актуальним в плані знешкодження мікроорганізмів.

Американські та китайські науковці встановили бактерицидну активність розчинів цієї кислоти щодо *Pseudomonas aeruginosa* [6], а застосування HOCl у вигляді спрею призводило до зменшення титру вірусів пташиного грипу (AIV, H7N1) та інфекційного бронхіту (IBV) більше, ніж у 1000 разів. Автори стверджують про ефективність дії HOCl та можливість застосування таких препаратів і до SARS-CoV-2, враховуючи схожість цих вірусів [7]. Крім того, у 2020 році Американською агенцією з захисту довкілля (Environmental Protection Agency, EPA) хлорнуватисту кислоту внесли до переліку перспективних та ефективних засобів для застосування проти цього вірусу [8].

Досліджуваний засіб «Медичні вироби «САНАЦІЯ+» є продуктом електролізу насичених розчинів хлористого натрію, містить як дієву речовину метастабільну суміш пероксидних та хлоркисневих сполук, в тому числі гіпохлористу кислоту (HOCl), насичену високоактивною окисною групою – гіпохлорит-іон. Середня масова концентрація активного хлору знаходиться на рівні 0,035 %. За токсиколого-гігієнічними та мікробіологічними показниками безпеки дослідні засоби мають відповідати вимогам ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. За ступенем впливу на організм (при введенні в шлунок, при нанесенні на шкіру або при інгаляційній дії) ці вироби відносяться до 3-4 класу. Місцево-подразнювальні, шкірно-резорбтивні та сенсibiliзаційні властивості засобу в рекомендованих режимах застосування не виявлені. Враховуючи вищенаведені факти, застосування препаратів на основі пероксидних та хлоркисневих сполук є перспективним та актуальним напрямком в лікуванні та профілактиці респіраторних інфекційних захворювань під час пандемії Covid-19.

**Метою дослідження** було визначення специфічної активності засобу «Санація+», ефективності знезараження слизових оболонок верхніх дихальних шляхів волонтерів та оцінка ефективності засобу для лікування і профілактики інфекції Covid-19.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідженні використовували засіб медичний виріб «Санація+» виробництва ТОВ «Стерісент Ізраїль Україна «Інститут комплексних систем безпеки». Засіб є безбарвною прозорою рідиною з легким типовим запахом хлору. У своєму складі засіб містить

хлорнуватисту кислоту, високоактивні кисневі сполуки хлору, вільні радикали хлору та кисню, NaCl (масова концентрація активного хлору – 0,035 %). Окисно-відновлювальний потенціал – 1100–1300 мВ. Засіб одержано методом електролітичної активації NaCl в установці з використанням електрохімічних реакторів мембранного типу на базі проточних електрохімічних модульних елементів.

Вивчення специфічної віруліцидної, бактерицидної та дріжджецидної дії зразка проводили кількісним суспензійним методом згідно з наказом МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 року «Про затвердження Методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці» [9]. Принцип методу полягає у тому, що дослідний розчин додавали до суміші робочої суспензії мікроорганізмів на обраний час експозиції 30 і 60 сек. По закінченні експозиції для нейтралізації залишкової дії активних компонентів використовували метод мембранної фільтрації, після чого фільтри переносили на щільне поживне середовище. Для дослідження використовували наступні тест-штами: *Escherichia coli* NCTC 10538, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 і *Candida albicans* ATCC 10231. Паралельно з випробуваннями ставили обов'язкові контролю, які показували правильність методології та запобігали отриманню хибнопозитивних або хибнонегативних результатів: контроль кількості мікроорганізмів (КУО/см<sup>3</sup>) у робочій тест-суспензії (N); контроль експериментальних умов (A); контроль відсутності токсичності нейтралізатора фільтрації (B); контроль ефективності нейтралізації (C).

Кількість мікроорганізмів у робочій тест-суспензії (N) контролювали шляхом висіву на щільне поживне середовище суспензій в десятикратних розведеннях 10<sup>-6</sup> і 10<sup>-7</sup> для бактерій *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* та 10<sup>-5</sup> та 10<sup>-6</sup> для дріжджів *C. albicans*.

За проведення інших вказаних контролів використовували валідаційну суспензію (Nv) з вмістом мікроорганізмів від (3,0 · 10<sup>2</sup>) до (1,6 · 10<sup>3</sup>) КУО/см<sup>3</sup>.

Вважали, що засіб володіє специфічною активністю в заданих умовах у кількісному суспензійному методі за середньої редукції ≥ 5 lg для бактерій та ≥ 4 lg для дріжджів.

Для вивчення віруліцидної активності, як модель застосовували соматичний ДНК-коліфаг T2 (*E. coli* B – в якості бактерії-хазяїна) і F-RNA-коліфаг MS2 (*E. coli* K12 Hfr – в якості бактерії-хазяїна) – моделі оболонкових та без оболонкових вірусів.

Як поживне середовище використовували: щільне поживне середовище триптон-соевий агар (ТСА) виробництва «Biolife» (Італія); щільне поживне середовище Сабуро-декстрозний агар виробництва ТОВ «Фармактив» (Україна). Ростові властивості та стерильність середовищ були перевірені перед кожним дослідженням. Як інтерферуючу речовину використовували бичачий сироватковий альбумін (БСА) в концентрації 0,03 % – «чисті умови» досліду. Для нейтралізації залишкової дії активних компонентів розчинів вказаного засобу використовували метод мембранної фільтрації.

Зберігання та приготування тест-штамів бактерій та кишкових фагів для досліджень здійснювали згідно з ДСТУ EN 13610: 2019 (EN 13610:2002, IDT) [10] та МВ 10.2.1-113-2005 «Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води» [11]. При використанні суспензійного методу кількість бактеріофагів у вихідній суспензії становила від (1,5 · 10<sup>8</sup>) до (5,0 · 10<sup>8</sup>) бляшкоутворюючих одиниць в 1 см<sup>3</sup> (БУО/см<sup>3</sup>) (8,17 – 8,70 lg). Посіви інкубували при температурі (36 ± 1) °С протягом (4 ± 2) год, після чого чашки з посівами виймали з термостата і залишали у темному місці при кімнатній температурі на (18 ± 2) год (за необхідності). Інтерферуючу речовину БСА в дослідях з фагами не використовували.

Для вивчення ефективності знезараження верхніх дихальних шляхів волонтерів засобом «Санація+» використовували прилади для утворення аерозолів:

- 1) небулайзер «Nano Mist Sprayer» (Китай), який розпилює препарат об'ємом 1,25 - 1,45 см<sup>3</sup> протягом 60 с. Відстань від розпилювача до слизових оболонок складала 5 - 10 см;
- 2) інгалятор компресорний, модель CN-123 (Японія) використовували для дихання парами препарату із застосуванням респіраторної маски.

Ефективність антимікробної дії засобу на резидентну мікрофлору оцінювали в умовах *in vivo* на двох групах волонтерів різного віку та статі. Кожна група складалась з п'яти осіб. Відбір проб зі слизових оболонок носа та горла волонтерів проводили згідно [12] з використанням стерильних ватних тампонів, які були зволожені стерильним ізотонічним фізіологічним розчином в об'ємі 5,0 см<sup>3</sup>. Змивну рідину висівали в чашки Петрі з неселективним живильним середовищем ТСА. Облік результатів посівів здійснювали через 24 - 48 годин інкубації чашок Петрі за температури 36 ± 1 °С.

Дослідження виконано з дотриманням етичних принципів, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей», розробленою Всесвітньою медичною асоціацією на основі «Загальної декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)» та з дотриманням вимог Керівництва 24 «Міжнародних етичних рекомендацій щодо дослідження, пов'язаних із здоров'ям, за участю людей». Усі учасники дослідження підписали інформовану згоду.

Ефективність антимікробної дії засобу визначали у змивах, взятих зі слизових оболонок носа та горла волонтерів і порівнювали рівень мікробного обсіменіння до та після застосування препарату у вигляді аерозолі при диханні. Тривалість дії засобу на слизову оболонку горла та носа в дослідженнях становила 1, 3 і 5 хв. Загальне обсіменіння слизових оболонок верхніх дихальних шляхів (*табл. 1*) визначали за методикою Шелкової Н. Г. і Прокопєць В. П. [13].

#### ТАБЛИЦЯ 1 / TABLE 1

ЗАЛЕЖНІСТЬ ІНТЕНСИВНОСТІ РОСТУ НА ПОВЕРХНІ ЩІЛЬНОГО ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ВІД ВИХІДНОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЗАСІЯНОСТІ ЗРАЗКІВ КЛІНІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ОРИГІНАЛЬНОГО КІЛЬКІСНОГО МЕТОДУ ЗАСІВУ «ТАМПОН-БАКТЕРІОЛОГІЧНА ПЕТЛЯ» / DEPENDENCE OF GROWTH INTENSITY ON THE SURFACE OF A DENSE NUTRIENT MEDIUM ON THE INITIAL BACTERIAL INOCULATION OF SAMPLES OF CLINICAL MATERIAL USING THE ORIGINAL QUANTITATIVE METHOD OF SEEDING «SWAB-BACTERIOLOGICAL LOOP»

Вихідна бактеріальна засіяність (МК/1 см <sup>3</sup> ) / Initial bacterial inoculation (МК / 1 см <sup>3</sup> )	Кількість колоній, що виростили на секторах / Number of colonies grown in the sectors:			
	A	I	II	III
10	1 – 5	-	-	-
5 × 10	5 – 20	-	-	-
10 <sup>2</sup>	20 – 50	1 – 5	-	-
5 × 10 <sup>2</sup>	30 – 70	5 – 10	-	-
10 <sup>3</sup>	50 – 100	5 – 10	-	-
5 × 10 <sup>3</sup>	> 100	10 – 20	-	-
10 <sup>4</sup>	- " -	10 – 20	1 – 5	-
5 × 10 <sup>4</sup>	- " -	20 – 50	5 – 10	-
10 <sup>5</sup>	- " -	50 – 70	5 – 10	-
5 × 10 <sup>5</sup>	- " -	50 – 100	10 – 20	-
10 <sup>6</sup>	- " -	> 100	10 – 20	-
5 × 10 <sup>6</sup>	- " -	- " -	20 – 50	-
10 <sup>7</sup>	- " -	- " -	20 – 50	1 – 5
5 × 10 <sup>7</sup>	- " -	- " -	50 – 70	1 – 10
10 <sup>8</sup>	- " -	- " -	70 – 100	> 10

Оцінку ефективності знезаражувальної дії засобу проводили відповідно до «Методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці» [8].

Для цього розраховували фактор редукції (RF) – різницю логарифмів рівня мікробного обсіменіння слизових оболонок носа та горла до та після застосування препарату за формулою:

$$RF = \lg N_0 - \lg N_u,$$

де  $N_0$  – початковий рівень мікробного обсіменіння слизових оболонок,

$N_u$  – фінальний рівень мікробного обсіменіння слизових оболонок.

Засіб було застосовано для санації дихальних шляхів під час лікування 55 госпіталізованих дорослих пацієнтів із підтвердженим діагнозом Covid-19 за півроку з червня 2021 р. в комунальному некомерційному підприємстві «Клінічна лікарня швидкої медичної допомоги м. Львова» та військово-медичному клінічному центрі Західного регіону в м. Львів.

Вірогідність отриманих результатів визначали за допомогою критерію Стюдента. При аналізі активності дії виробу t-критерій розраховано для залежних вибірок, при порівнянні результатів застосування приладів для утворення аерозолів – для незалежних вибірок. Розрахунки проводили з використанням програми STATISTICA 8 [14].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження бактерицидної та дріжджецидної дії зразка в «чистих» умовах *in vitro* за температури 20 °C та експозиції 30 і 60 сек в суспензійному тесті наведені в *табл. 2*.

**ТАБЛИЦЯ 2 /TABLE 2**

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ БАКТЕРИЦИДНОЇ ТА ДРІЖДЖЕЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ ЗАСОБУ «САНАЦІЯ+» В СУСПЕНЗІЙНОМУ ТЕСТІ В «ЧИСТИХ УМОВАХ» ЗА РІЗНИЙ ЧАС КОНТАКТУ В R LG / THE RESULTS OF BACTERICIDAL AND YEAST ACTIVITY «SANATION+» IN THE SUSPENSION TEST IN «PURE CONDITIONS» FOR DIFFERENT CONTACT TIMES IN R LG

Тест культура мікроорганізмів / Test culture of microorganisms	Контроль культури / Culture control ( $N_0$ )	Дослід / Experiment ( $N_a$ )	30 сек / 30 sec	60 сек / 60 sec
<i>Escherichia coli</i> K12 NCTC 105	> 7,57	< 2,15	> 5,42	> 5,42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	> 7,49	< 2,15	> 5,37	> 5,37
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	> 7,49	< 2,15	> 5,34	> 5,34
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	> 6,46	< 2,15	> 4,31	> 4,31

Встановлено, що зразок засобу «Санація+» проявляв високу бактерицидну та дріжджецидну активність за умови експозиції 30 і 60 сек відносно тест-штамів мікроорганізмів *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* і *C. albicans*.

Усереднені результати дослідження віруліцидної активності засобу «Санація+» за умови експозиції 30 сек наведені в *табл. 3*.

**ТАБЛИЦЯ 3 / TABLE 3**

ВІРУЛІЦИДНА АКТИВНІСТЬ ЗАСОБУ «САНАЦІЯ+» ВІДНОСНО КИШКОВИХ БАКТЕРІОФАГІВ ЗА ЕКСПОЗИЦІЇ 30 СЕК, LG / VIRULICIDAL ACTIVITY OF «SANATION+» AGAINST INTESTINAL BACTERIOPHAGES AT EXPOSURE OF 30 SEC, LG

Кишковий бактеріофаг / Intestinal bacteriophage	Контроль культури / Culture control (N <sub>0</sub> )	Дослід / Experiment (N <sub>a</sub> )	Редукція / Reduction ®	Редукція (середнє значення) / Reduction (average value)
T2	7,28	< 2,15	> 5,13	> 5,08
	7,24	< 2,15	> 5,09	
	7,17	< 2,15	> 5,02	
MS2	7,22	< 2,15	> 5,07	> 5,12
	7,32	< 2,15	> 5,17	
	7,28	< 2,15	> 5,13	

Проведені експериментальні дослідження демонструють, що засіб «Санація+» при його застосуванні у нерозведеному вигляді за експозиції 30 сек є ефективним засобом стосовно знезараження від вірусів, про що свідчать високі логарифми редукції бактеріофагів: T2 – > 5,08 lg, MS2 – > 5,12 lg.

Отримані результати дозволяють рекомендувати застосування засобу «Санація+» для знезараження. Засіб має вагомі переваги перед багатьма антимікробними засобами: відсутність токсичності, високий антивірусний, бактерицидний та антигрибковий ефект.

Визначення ефективності знезараження слизових оболонок верхніх дихальних шляхів волонтерів медичним виробом «Санація+» проводили із використанням приладів для утворення аерозолів.

В дослідженнях взяли участь 10 волонтерів, яких розділили на дві групи. У першу групу входило 5 волонтерів, дихальні шляхи яких обробляли засобом із використанням небулайзера, у другу групу – 5 волонтерів, яким проводили обробку слизових оболонок інгалятором. Попередньо визначали рівень мікробного обмінення носоглотки волонтерів резидентною мікрофлорою. Обмінення мікроорганізмами у змивах зі слизових оболонок носа становило  $4,4 \times 10^7 - 6,1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup>, горла –  $6,0 \times 10^7 - 6,4 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup>.

Аналіз змивів зі слизових оболонок дихальних шляхів волонтерів продемонстрував, що мікрофлора була представлена стрептококами, стафілококами, дифтероїдами та дріжджеподібними грибами. Результати оцінки антимікробної дії препарату для обробки слизових оболонок за застосування небулайзера представлені в *табл. 4*.

**ТАБЛИЦЯ 4 / TABLE 4**

ЕФЕКТИВНІСТЬ ОБРОБКИ ЗАСОБОМ «САНАЦІЯ+» НА МІКРОФЛОРУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ НОСА ТА ГОРЛА ЗА ЗАСТОСУВАННЯ НЕБУЛАЙЗЕРУ / THE EFFECT OF TREATMENT WITH THE PRODUCT «SANATION+» ON THE MICROFLORA OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE NOSE AND THROAT WITH THE USE OF A NEBULIZER

I група волонтерів / Group I volunteers	Кількість колоній (КУО/см <sup>3</sup> ) / Number of colonies (CFU / cm <sup>3</sup> )							
	До обробки (КУО/см <sup>3</sup> ) / Before processing (CFU / cm <sup>3</sup> )	Після обробки (КУО/см <sup>3</sup> ) / After processing (CFU / cm <sup>3</sup> )			До обробки (lg/см <sup>3</sup> ) / Before processing (lg / cm <sup>3</sup> )	Після обробки (lg/см <sup>3</sup> ) / After treatment (lg / cm <sup>3</sup> )		
		1 хв / 1 min	3 хв / 3 min	5 хв / 5 min		1 хв / 1 min	3 хв / 3 min	5 хв / 5 min
Середнє значення для носа / Average value for the nose	$6,1 \times 10^7$	$2,3 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$3,6 \times 10^3$	7,78	5,35	5,05	3,56
Середнє значення для горла / Average value for the throat	$6,4 \times 10^7$	$1,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^3$	7,80	6,06	5,06	3,66



Як видно з результатів табл. 4, обробка слизової оболонки носа медичним виробом «Санація+» із використанням небулайзера протягом 5 хв призводила до зменшення кількості мікроорганізмів з  $6,1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> до  $3,6 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup> ( $p < 0,001$ ); зниження рівня обсіменіння було на 4,22 lg редукції. Для слизової оболонки горла зниження числа мікроорганізмів відбувалось з  $6,4 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> до  $4,6 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup> ( $p < 0,001$ ); зниження було на 4,14 lg редукції.

Оцінка ефекту впливу препарату «Санація+» на мікрофлору верхніх дихальних шляхів волонтерів за використання інгалятора для дихання парами засобу за застосування респіраторної маски представлена в табл. 5.

**ТАБЛИЦЯ 5 / TABLE 5**

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «САНАЦІЯ+» НА МІКРОФЛОРУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ НОСА ТА ГОРЛА ЗА ЗАСТОСУВАННЯ КОМПРЕСОРНОГО ІНГАЛЯТОРА / THE EFFECT OF THE DRUG "SANATION +" ON THE MICROFLORA OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE NOSE AND THROAT WITH THE USE OF A COMPRESSOR INHALER

II група волонтерів / Group II volunteers	Кількість колоній (КУО/см <sup>3</sup> ) / Number of colonies (CFU / cm <sup>3</sup> )							
	До обробки (КУО/см <sup>3</sup> ) / Before processing (CFU / cm <sup>3</sup> )	Після обробки (КУО/см <sup>3</sup> ) / After processing (CFU / cm <sup>3</sup> )			До обробки (lg/см <sup>3</sup> ) / Before processing (lg / cm <sup>3</sup> )	Після обробки (lg/см <sup>3</sup> ) / After treatment (lg / cm <sup>3</sup> )		
		1 хв / 1 min	3 хв / 3 min	5 хв / 5 min		1 хв / 1 min	3 хв / 3 min	5 хв / 5 min
Середнє значення для носа / Average value for the nose	$4,4 \times 10^7$	$2,3 \times 10^5$	$2,2 \times 10^4$	$2,6 \times 10^3$	7,64	5,35	4,34	3,41
Середнє значення для горла / Average value for the throat	$6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^6$	$1,6 \times 10^4$	$10^3$	7,78	6,10	4,20	3,00

Як видно з результатів, представлених у табл. 5, через 5 хв застосування препарату «Санація+» відбувалося суттєве зниження кількості мікроорганізмів на поверхні слизової оболонки носа з  $4,4 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> до  $2,6 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup>. Такий же результат було отримано і при оцінці ефективності знезараження поверхні слизової горла волонтерів: зниження відбулося з 7,78 lg до 3,0 lg ( $p < 0,002$ ). Таким чином, можна стверджувати про ефективність антимікробної дії препарату «Санація+» через інгалятор компресорний.

Ефективність антимікробної дії препарату «Санація+» за різним часом вдихання аерозолу визначали за фактором редукції, тобто за логарифмічним зниженням кількості мікроорганізмів (табл. 6).

**ТАБЛИЦЯ 6 / TABLE 6**

ПОРІВНЯННЯ РІВНЯ ОБСІМЕНІННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРИЛАДІВ ДЛЯ УТВОРЕННЯ АЕРОЗОЛІВ З ЗАСОБУ «САНАЦІЯ+» ЗА ФАКТОРОМ РЕДУКЦІЇ / COMPARISON OF THE LEVEL OF CONTAMINATION OF MICROORGANISMS IN THE UPPER RESPIRATORY TRACT WHEN USING DEVICES FOR THE FORMATION OF AEROSOLS FROM THE «SANATION+» BY REDUCTION FACTOR

Час контакту (хв) / Contact time (min)	Небулайзер «Nano Mist Sprayer» / Nebulizer "Nano Mist Sprayer"		Інгалятор компресорний, модель CN-123 / The compressor inhaler, the CN-123 model	
	Слизова оболонка носа / Nasal mucosa, (RF)	Слизова оболонка горла / Throat mucous membrane, (RF)	Слизова оболонка носа / Nasal mucosa, (RF)	Слизова оболонка горла / Throat mucous membrane, (RF)
1	2,43	1,74	2,29	1,68
3	2,73	2,74	3,30	3,58
5	4,22	4,14	4,23	4,78

Отримані результати свідчать про ефективність антимікробної дії препарату «Санація+» за застосування приладів для утворення аерозолів протягом 1, 3 і 5 хв. Найбільш ефективний час дії засобу становив 5 хв, про що свідчить високий фактор редукції –  $RF = 4,22 - 4,23$  (для слизової носа) і  $RF = 4,14 - 4,78$  (для слизової горла).

Відомо, що зниження кількості мікроорганізмів на 4 lg приймається як критерій антимікробної активності [9]. Таким чином, відбувалося зменшення рівня обсіменіння резидентною мікрофлорою слизових оболонок носоглотки волонтерів після застосування препарату «Санація+» у 13 000 – 60 000 разів.

Отже, показана ефективна антимікробна дія засобу «Санація+», у склад якого входить хлорнуватиста кислота  $HOCl$  та гіпохлорит-іон. Отримані нами результати узгоджуються з даними наукових досліджень з вивчення дії препаратів на основі  $HOCl$  у вигляді спрею за різних режимів (концентрації, рН, температури), в яких отримано позитивні результати стосовно знезараження бактеріальної мікрофлори та вірусів [2-4, 7].

Враховуючи отримані позитивні дані, можна припустити доцільність використання дослідних засобів «Санація+» для профілактики та лікування інфекцій вірусної (в т.ч. викликаних Covid-19), бактеріальної та грибової етіології, для обробки слизових оболонок ротової порожнини, носа, горла та бронхів способом зрошення або аерозольного оброблення за застосування спеціальних приладів-інгаляторів або небулайзерів.

При застосуванні засобу «Санація+» у клініці отримано позитивну динаміку до покращення стану всіх пацієнтів з діагнозом Covid-19. Засіб використовували відповідно до наданої до засобу інструкції до стаціонарних та мобільних (портативних) небулайзерів шляхом вдихання мікродисперсного аерозоля поперемінно носом і ротом протягом 5 хв кожні 3-4 год на добу (не менше 6-9 разів протягом доби) з рівномірним розподілом у часі.

Через два дні застосування засобу «Санація+» спостерігалися перші позитивні клінічні зміни перебігу хвороби, покращувалися життєві показники, зменшувалися симптоми/ознаки вірусного захворювання: кашель, нежить, біль у горлі, загальна слабкість та інші ознаки.

В результаті використання засобу «Санація+» у 55 пацієнтів із середнім ступенем тяжкості захворювання на Covid-19:

- не розвивалося запалення легенів (пневмонія);
- не спостерігалися різкі перепади станів, показників температури тіла та сатурації крові;
- не відбувався перехід середньої тяжкості перебігу в тяжку та критичну форми;
- скоротився час лікування у 2-3 рази (з 24 до 7-12 днів);
- не зафіксовано побічні реакції на засіб.

В цілому, встановлено високу ефективність засобу для санації дихальних шляхів «Санація+» для застосування в комплексній терапії при лікуванні коронавірусної хвороби. При використанні засобу з метою профілактики захворювання на Covid-19 серед медичних працівників в зазначений проміжок часу в медичних установах захворювання не було виявлено.

Під час захворювання та для профілактики Covid-19, грипу та інших респіраторних інфекцій необхідно проводити процедури не менше 6 - 9 разів протягом дня з рівномірним розподіленням у часі. Для ефективною профілактики препарат необхідно застосовувати одразу після кожного разу перебування в умовах з підвищеним ризиком зараження, а саме в громадських місцях зі скупченням людей, у транспорті та ін.

## **ВИСНОВКИ**

1. Проведені експериментальні дослідження визначення бактерицидної та дріжджіцидної активності засобу «Санація+», згідно з наказом МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 року «Про затвердження методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці».

2. Встановлено, що засіб «Санація+» проявляв високу бактерицидну та дріжджецидну активність за умови експозиції 30 і 60 сек для *Escherichia coli* K12 NCTC 10538 lg R > 5,42, для *Pseudomonas aeruginosa* lg R > 5,37, для *Staphylococcus aureus* lg R > 5,34 і для *Candida albicans* lg R > 4,31.

3. Проведені експериментальні дослідження в умовах *in vitro* демонструють, що засіб «Санація+» при його застосуванні протягом 30 сек є ефективним засобом стосовно знезараження від вірусів, про що свідчать високі логарифми редукції бактеріофагів: T2 – > 5,08 lg, MS2 – > 5,12 lg.

4. В результаті застосування засобу «Санація+» через небулайзер «Nano Mist Sprayer» спостерігалось суттєве зменшення кількості мікроорганізмів на поверхні слизової носа: через 5 хв дії препарату зниження відбулося на 4,22 lg ( $p < 0,001$ ), на поверхні слизової горла – на 4,14 lg ( $p < 0,001$ ). Застосування препарату через інгалятор компресорний сприяло зниженню числа мікроорганізмів на поверхні слизових оболонок як носа, так і горла. Найбільш ефективний час дії засобу 5 хв. Фактор редукції для слизової оболонки носа становив RF = 4,23 ( $p < 0,001$ ), для слизової оболонки горла – RF = 4,78 ( $p < 0,002$ ).

5. Встановлено високу ефективність засобу «Санація+» для санації дихальних шляхів і для застосування в комплексній терапії при лікуванні коронавірусної хвороби у 55 хворих. При застосуванні засобу «Санація+» з метою профілактики захворювання на Covid-19 серед медпрацівників в медичних установах випадків захворювання не було виявлено.

### **Подяка**

Автори висловлюють щиру вдячність лікарям інфекційного відділення комунального некомерційного підприємства «Клінічна лікарня швидкої медичної допомоги м. Львова» та військово-медичного клінічного центру Західного регіону в м. Львів за надані результати клінічних випробувань засобу.

### **Конфлікт інтересів**

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ/ REFERENCES

1. Zadorozhna VI, Sergeyeva TA, Maksymenok OV, Protas SV, Grinchuk GM, Rodyna NS. [Prevalence of markers of SARA-CoV-2 infection among residents of Kyiv at the beginning of the COVID-19 epidemic – first results in Ukraine]. *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine*. 2021;27(2):118-132. Ukrainian. doi: 10.37621/JNAMSU-2021-2-6.
2. Bahir VM, Leonov BI, Panicheva SA, Prilutsky VI, Shomovskaya NYu. [Chemical composition and functional properties of chlorine-containing disinfectant solutions]. *Journal of new medical technologies*. 2003;(4):22-36. Russian.
3. Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J Leukoc Biol*. 2013 Feb;93(2):185-98. doi: 10.1189/jlb.0712349.
4. da Cruz Nizer WS, Inkovskiy V, Overhage J. Surviving reactive chlorine stress: responses of gram-negative bacteria to hypochlorous acid. *Microorganisms*. 2020 Aug 11;8(8):1220. doi: 10.3390/microorganisms8081220.
5. Orel I, Graf H, Riou P. Decontamination efficacy of sodium hypochlorite solutions for poliovirus. *Biologicals*. 2020 Sep;67:75-80. doi: 10.1016/j.biologicals.2020.07.007.
6. Nontaleerak B, Duang-Nkern J, Wongsaraj L, Trinachartvanit W, Romsang A, Mongkolsuk S. Roles of RcsA, an AhpD family protein, in reactive chlorine stress resistance and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*. 2020 Oct 1;86(20):e01480-20. doi: 10.1128/AEM.01480-20.
7. Miyaoka Y, Kabir MH, Hasan MA, Yamaguchi M, Shoham D, Murakami H, et al. Virucidal activity of slightly acidic hypochlorous acid water toward influenza virus and coronavirus with tests simulating practical usage. *Virus Res*. 2021 May;297:198383. doi: 10.1016/j.virusres.2021.198383.
8. Disinfectant Use and Coronavirus (COVID-19). URL: <https://www.epa.gov/coronavirus/disinfectant-use-and-coronavirus-covid-19>.
9. Ministry of Health of Ukraine. [Methods of research on the specific activity, safety, quality (effectiveness) of disinfectants and their testing in practice]. Order of the Ministry of Health of Ukraine N 2024 dated 03.09.2020. Available from: <https://moz.gov.ua/uploads/5/27041-dn-2024-03-09-2020-dod-1.pdf>. [Accessed 25th January 2022]. Ukrainian.
10. SE «Ukrainian Research and Training Center for Standardization, Certification and Quality». DSTU EN 13610:2019. [Chemical disinfectants. Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity against bacteriophages of chemical disinfectants used in food and industrial areas (EN 13610:2002, IDT)]. Order of the SE «Ukrainian Research and Training Center for Standardization, Certification and Quality» N 176 dated 25.06.2019. Available from: [http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=83238](http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=83238). [Accessed 25th January 2022]. Ukrainian.
11. Ministry of Health of Ukraine. [Sanitary and microbiological quality control of drinking water]. Order of the Ministry of Health of Ukraine N 60 dated 03.02.2005. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0060282-05#Text>. [Accessed 25th January 2022]. Ukrainian.
12. Ministry of Health of Ukraine. [Protocols of nurses (paramedics, midwives) on patient care and implementation of basic medical procedures and manipulations]. Order of the Ministry of Health of Ukraine N 460 dated 01.06.2013. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0460282-13#Text>[Accessed 25th January 2022]. Ukrainian.
13. Shelkova NH, Prokopets VP. [Quantitative investigation method of bacteria content in clinical materials selected with a cotton tampon]. *The Collection of scientific works of the staff members of P. L. Shupyk NMAPE*. Kyiv; 2008;17(2):698-702. Ukrainian.
14. The program Microsoft® Exel® 2016 MSO (16.0.4266.1001), 32-bit version. Product code: 00339-10000-00000-AA365.