

Віруліцидна активність розчинів повідон-йоду (Бетадину®) in vitro проти SARS-CoV-2 — збудника COVID-19

Протягом 60 років препарати повідон-йоду широко застосовуються у клінічній практиці завдяки широкому спектру дії та встановленому профілю безпеки. У цьому дослідженні автори оцінили віруліцидну активність чотирьох препаратів повідон-йоду щодо SARS-CoV-2, використовуючи кількісний аналіз, із часом експозиції 30 с. **Ключові слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, повідон-йод, Бетадин, антисептичні розчини, віруліцидна активність, інфекції верхніх дихальних шляхів, коронавіруси.

COVID-19 — спричинене коронавірусом SARS-CoV-2 інфекційне захворювання, яке 11 березня 2020 р. було оголошене Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) як пандемія [1]. Кількість випадків захворювання зросла експоненціально за короткий проміжок часу [2]. Станом на 22 червня 2020 р. вірусом SARS-CoV-2 було інфіковано щонайменше 8,95 млн осіб у всьому світі й зареєстровано понад 468 тис. смертельних випадків від цієї хвороби [3].

SARS-CoV-2 — це одноланцюговий РНК-вмісний вірус, який належить до того ж класу бета-коронавірусів, що й віруси SARS-CoV та MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome), які спричинили епідемії SARS 2003 та MERS 2012 відповідно [4, 5].

Сучасні дані свідчать про те, що передача SARS-CoV-2 від людини до людини здебільшого відбувається повітряно-крапельним шляхом під час кашлю чи чхання й/або фізичного контакту [6]. Оскільки вірус здатен зберігатися на забруднених поверхнях протягом доби [7], інфікування може відбуватися опосередковано через контакт слизової оболонки ротової, носової порожнини та очей із контамінованими вірусом поверхнями або руками. Таким чином, заходи боротьби з інфекцією, такі як дезінфекція поверхонь та належна гігієна рук, мають важливе значення для запобігання поширенню SARS-CoV-2.

Повідон-йод — це водорозчинний комплекс молекули-носія повідону та йоду, який має потужну мікробіцидну активність. Уже протягом 60 років препарати повідон-йоду широко застосовуються у клінічній практиці завдяки широкому спектру їх дії та встановленому профілю безпеки [8, 9]. Крім того, повідон-йод входить до Переліку основних лікарських засобів ВООЗ (WHO List of Essential Medicines), який визначає найбільш важливі з них, необхідні для ефективного функціонування будь-якої системи охорони здоров'я.

Ополіскування ротової порожнини розчином повідон-йоду також включено до плану досліджень і розробок ВООЗ із експериментальних методів лікування COVID-19, тому так важливо продемонструвати його безпосередню антикоронавірусну активність [10]. На додаток до широкої антибактеріальної та протигрибкової активності повідон-йод продемонстрував свою ефективність in vitro проти ряду вірусів [11], включно з вищезазначеними SARS-CoV [12] та MERS-CoV [13].

У цьому дослідженні автори оцінили in vitro віруліцидну дію чотирьох препаратів повідон-йоду щодо SARS-CoV-2, використовуючи кількісний аналіз, із часом експозиції 30 с.

Мета дослідження — отримати докази віруліцидної активності in vitro розчинів повідон-йоду щодо коронавірусу SARS-CoV-2 — збудника захворювання COVID-19.

Методи

На базі медичного факультету Університету Дюка — Національного університету Сінгапуру було проведено тестування для визначення рівня біологічної безпеки (ABSL-3) чотирьох препаратів повідон-йоду: антисептичного розчину **Бетадин®** (10% повідон-йод), дезінфікуючого засобу **Бетадин®** для очищення шкіри (7,5% повідон-йод), антисептичного розчину **Бетадин®** для полоскання горла та ротової порожнини (1,0% повідон-йод) та спрею для горла **Бетадин®** (0,45% повідон-йод). Розчин **Бетадин®** для полоскання горла та ротової порожнини тестували як нерозведеним, так і при розведенні 1:2. Віруліцидну активність препаратів щодо SARS-CoV-2 оцінювали in vitro шляхом визначення часу знешкодження вірусу, адаптуючи протокол дослідження до методології тестування дезінфікуючих засобів EN14476, яку раніше використовували для перевірки ефективності препаратів **Бетадину** щодо SARS-CoV та MERS-CoV. Зниження вірусного титру до рівня $\geq 4 \log_{10}$ (99,99%) згідно з європейськими стандартами визначається як ефективна віруліцидна активність [9, 12].

Культивування вірусу

Вірусна культура SARS-CoV-2 (hCoV-19/Singapore /2/2020) розмножувалася у клітинах Vero-E6

(Американська колекція типів культур). Vero-E6 підтримували в модифікованому за Дульбекко середовищі Eagle, що містить 5% фетальної бичачої сироватки (DMEM5% FBS).

Аналіз цитотоксичності повідон-йоду

Цитотоксичність повідон-йоду перевіряли шляхом інкубації неінфікованих клітин Vero-E6 із 10-кратним серійним розведенням тестових препаратів повідон-йоду у DMEM5% FBS. Після інкубації при температурі 37 °C протягом 4 днів спостерігали цитопатичні ефекти (ЦПЕ) від кожного розведення для визначення найнижчої концентрації повідон-йоду, при якій цитотоксичні ефекти відсутні.

Аналіз часу знешкодження вірусу

Противірусну ефективність дезінфекційного засобу оцінювали після експозиції розчину протягом 30 с при температурі 21 °C [13]. Інкубацію проводили при температурі 37 °C протягом 4 днів перед оцінкою ЦПЕ. Титр вірусу розраховували як середню інфекційну дозу культури тканин (TCID₅₀/мл), використовуючи метод Спірмена — Кербера [14, 15].

Результати

Аналіз часу знешкодження вірусу проводили після першої оцінки цитотоксичності препаратів для клітин Vero-E6. Антисептичний розчин, дезінфікуючий засіб для рук, спрей для горла та розчин для полоскання горла/ротової порожнини не проявляли цитотоксичного ефекту для Vero-E6 при розведеннях $\geq 1:100$, а засіб для очищення шкіри — при розведеннях $\geq 1:1000$.

Початкове тестування проводилося через 120 с для оцінки ефективності різних препаратів повідон-йоду проти SARS-CoV-2 й оптимізації аналізу. Після впливу на SARS-CoV-2 препаратів повідон-йоду ЦПЕ не спостерігалось. Через цитотоксичність продуктів у клітинах Vero-E6 межа виявлення аналізу становила 3×10^3 TCID₅₀/мл, що продемонструвало, що всі тестовані препарати були ефективні проти SARS-CoV-2.

Для визначення віруліцидної активності щодо SARS-CoV-2 препарати повідон-йоду тестували після експозиції 30 с, відповідно до керівних принципів Європейського агентства з хімічних речовин (ECHA) [16]. Усі препарати продемонстрували зниження титру SARS-CoV-2 до $\geq 4 \log_{10}$, що відповідає знищенню вірусів на 99,99%, а отже, вказує не лише на швидку віруліцидну активність, а й на відповідність критеріям ECHA щодо ефективності дезінфікуючих засобів.

Обговорення

На сьогодні не існує встановлених ефективних методів лікування або вакцини проти інфекції COVID-19, незважаючи на тривалі численні клінічні випробування [17]. Тому лікування таких хворих здебільшого складається з підтримуючої терапії, штучної вентиляції легень і/або препаратів, які раніше застосовувалися проти інших коронавірусів [17]. Як і SARS-CoV, SARS-CoV-2 спочатку, здавалося, поширювався лише повітряно-крапельним шляхом та в результаті прямого/непрямого контакту з інфікованими особами, які мають симптоми захворювання. Однак згодом було виявлено, що безсимптомні та малосимптомні особи, заражені вірусом SARS-CoV-2, також можуть його передавати [18]. Крім того, з'ясувалося, що вірус має вищий індекс контагіозності порівняно з SARS-CoV [19].

Крім фізичного дистанціювання профілактичні заходи, такі як особиста гігієна та часта дезінфекція поверхонь у громадських закладах та закладах охорони здоров'я, є важливими заходами для зменшення ризику передачі вірусу від пацієнта до пацієнта та медичних працівників. Препарати повідон-йоду, тестовані у дослідженні, відіграють різні взаємодоповнюючі ролі в боротьбі з інфекцією, наприклад у гігієні рук та ротової порожнини. По-перше, рекомендації ВООЗ щодо гігієни рук [6] можна доповнити використанням дезінфікуючих засобів із доведеною in vitro віруліцидною активністю

проти SARS-CoV-2, наприклад розчину повідон-йоду. Результати проведеного раніше дослідження, яке ввчало моделювання гігієни рук, показали кращу ефективність in vivo препаратів повідон-йоду порівняно з рідким милом або хлоргексидином проти непатогенного мишачого норівірусу (MNV) [20]. MNV — це вірус, який не має суперкапсиду і, як відомо, є більш стійким до дії антисептиків порівняно з вірусами, що мають суперкапсид, наприклад коронавіруси [20].

По-друге, враховуючи високий потенціал зараження SARS-CoV-2 через слизову оболонку ротової порожнини та носа, крім масок, додаткові заходи гігієни дихання, такі як застосування спреїв для горла або полоскання горла та ротової порожнини антисептичними розчинами, можуть розглядатися як спосіб зменшення ризику передачі вірусу [9].

Настанови Австралійської стоматологічної асоціації та Центрів контролю й профілактики захворювань США щодо COVID-19 рекомендують використовувати полоскання ротової порожнини перед процедурою з такими препаратами, як повідон-йод [21, 22]. Дослідження в Японії показало, що в пацієнтів із хронічними респіраторними захворюваннями частота епізодів загострень значно зменшилася після початку регулярного використання полоскання горла розчином повідон-йоду [23].

Результати останніх досліджень довели, що виділення інфікованою особою вірусу SARS-CoV-2 є найвищим на ранніх стадіях захворювання й відбувається здебільшого з верхніх дихальних шляхів [24, 25]. З огляду на ці фактори часте миття рук і гігієна ротової порожнини можуть допомогти мінімізувати ризик зараження [26].

Автори нещодавно проведеного дослідження перевірили стійкість SARS-CoV-2 у різних умовах навколишнього середовища, включаючи стійкість вірусу під впливом повідон-йоду та інших дезінфікуючих засобів протягом 5, 15 та 30 хв [7]. Результати дослідження показали, що SARS-CoV-2 на деяких поверхнях (із нержавіючої сталі та пластику) може залишатися життєздатним протягом 6-7 днів, але може бути знешкоджений низкою широко відомих дезінфікуючих засобів. Вірус не було виявлено на поверхнях після обробки 7,5% розчином повідон-йоду з часом експозиції ≥ 5 хв, що свідчить про потенційну користь застосування цього засобу для дезінфекції [7]. Попередні дослідження ефективності препаратів повідон-йоду проти SARS-CoV та MERS-CoV продемонстрували їх швидку віруліцидну активність у присутності інтерферентних субстанцій, таких як еритроцити, які додавали для імітації органічного забруднення [9, 13]. У цих дослідженнях відзначено, що розчин повідон-йоду швидко інактивував (зниження рівня TCID₅₀/мл у титрах вірусу до $\geq 4 \log_{10}$) SARS-CoV та MERS-CoV при часі експозиції 15 с.

Висновки

Отже, антисептичні розчини повідон-йоду володіють швидкою активною та віруліцидною активністю широкого спектра дії й демонструють ефективність in vitro проти коронавірусу SARS-CoV-2, що доводить їх важливе значення в боротьбі з інфекцією COVID-19. Як додатковий захисний бар'єр у комплексі із засобами індивідуального захисту ці препарати можуть сприяти зменшенню передачі захворювання. Повідон-йод широко використовується як у лікарняних, так і в побутових умовах, і тому може бути легко інтегрований в існуючі протоколи боротьби з інфекцією COVID-19. Препарати на основі повідон-йоду доцільно використовувати як складову заходів для боротьби з інфекцією під час пандемії COVID-19 [27-29].

Список літератури знаходиться в редакції.

Реферативний огляд підготувала **Марія Грицула**

За матеріалами: Anderson D.E. et al. Povidone-Iodine Demonstrates Rapid In Vitro Virucidal Activity Against SARS-CoV-2, The Virus Causing COVID-19 Disease / Duke-NUS Medical School, Singapore / June 2, 2020. <https://link.springer.com/article/10.1007/s40121-020-00316-3>

Бетадин®

ПОВІДОН-ЙОД

Ніжний до шкіри, нещадний до інфекції

ПОКАЗАННЯ

- Антисептична обробка ран та опіків
- Гігієнічна та хірургічна дезінфекція рук
- Дезінфекція шкіри перед хірургічними операціями, ін'єкціями, пункціями тощо
- Зрошення при стоматологічних та ЛОР операціях*



БЕЗ РОЗВИТКУ РЕЗИСТЕНТНОСТІ • ДОБРЕ ПЕРЕНОСИТЬСЯ • ЛЕГКО ЗМИВАЄТЬСЯ**

*Інструкція для медичного застосування препарату. **Добре переноситься шкірою, слизовими оболонками та ураженими поверхнями; легко змивається водою. Зберігається при кімнатній температурі. Побічні ефекти. Місцеві шкірні реакції гіперчутливості, алергічні реакції, свербіж, почервоніння, висипання, ангіоневротичний набряк, анафілактичні реакції та інші. Особливі застереження. У новонароджених і дітей до 1 року повідон-йод слід використовувати тільки за суворими показаннями. Лікарська форма. Розчин для зовнішнього та місцевого застосування. 1 мл розчину містить: 100 мг повідон-йоду. Умови відпуску. Без рецепта. Фармакотерапевтична група. Антисептичні та дезинфікуючі засоби. Повідон-йод. D08A G02. Виробник. ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЗАВОД ЕГІС, за ліцензією компанії МУНДІФАРМА А.Т., Швейцарія. Бетадин розчин Р.П. № UA/6807/03/01. Інформація для професійної діяльності лікарів та фармацевтів, а також для розповсюдження на конференціях, семінарах, симпозиумах з медичної практики. Детальна інформація міститься в інструкції для медичного застосування. Контакти представника виробника в Україні: 04119, Київ, вул. Дегтярівська, 27-Т. Тел.: +38 (044) 496 05 39, факс: +38 (044) 496 05 38.

