ЕВРАЗИЙСКАЯ ПАТЕНТНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ

ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ

№ 032842

Название изобретения:

«СПОСОБ ИНАКТИВАЦИИ РНК И ДНК СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ НА МЕДИЦИНСКОМ ИНСТРУМЕНТАРИИ И УСТАНОВКА ДЛЯ ЕГО ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ»

Патентовладелец (льцы):

МКРТЧЯН ОВИК ЛЕОНАРДОВИЧ (UZ)

Изобретатель (и):

Мкртчян Овик Леонардович (UZ)

Заявка №:	**201501110**
Дата подачи заявки:	**13 мая 2015 г.**
Дата выдачи патента:	**31 июля 2019 г.**

Настоящим удостоверяется, что евразийский патент выдан на изобретение с формулой, опубликованной в Бюллетене Евразийского патентного ведомства «Изобретения (евразийские заявки и патенты)» № 7 / 2019 год.

При уплате установленных годовых пошлин патент действует на территории государств - участников Евразийской патентной конвенции – Азербайджанской Республики, Кыргызской Республики, Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Республики Таджикистан, Российской Федерации, Туркменистана.

ТЛЕВЛЕСОВА Сауле Январбековна
Президент Евразийского патентного ведомства

(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 032842 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.07.31

(21) Номер заявки
201501110

(22) Дата подачи заявки
2015.05.13

(51) Int. Cl. *C12N 7/04* (2006.01)
A61L 2/08 (2006.01)

(54) СПОСОБ ИНАКТИВАЦИИ РНК И ДНК СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ НА МЕДИЦИНСКОМ ИНСТРУМЕНТАРИИ И УСТАНОВКА ДЛЯ ЕГО ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

(31) **IAP 20140210**
(32) **2014.05.23**
(33) **UZ**
(43) **2016.04.29**
(86) **PCT/UZ2015/000001**
(87) **WO 2015/179880 2015.11.26**

(71)(72)(73) Заявитель, изобретатель и патентовладелец:
МКРТЧЯН ОВИК ЛЕОНАРДОВИЧ
(UZ)

(74) Представитель:
Русакова Н.В. (KZ)

(56) UZ-U-464
RU-C1-2036235
EP-A1-0196515

(57) Изобретение относится к фотодинамической инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии. Способ инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, включающий предварительную механическую очистку и промывку инструментария, последующую его выдержку в водном растворе метиленового синего и активацию светом, в котором согласно изобретению активацию в водном растворе метиленового синего с концентрацией 0,01-0,02% осуществляют излучением с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 lm, при этом выдерживают инструментарий в указанном растворе 90 мин. Установка для инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, содержащая герметично закрывающийся корпус с камерой, размещённую в камере емкость для инструментария, заполненную раствором метиленового синего, и установленный над емкостью источник монохроматического света, содержащий монохроматические излучатели, в котором согласно изобретению источник монохроматического света содержит светодиоды с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 lm. Техническим результатом является разработка эффективного, с минимальными трудо- и энергозатратами способа инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, а также установки для его осуществления, путем достижения максимальной активации фотохимического агента при взаимодействии с монохроматическим светом.

032842 B1

032842 B1

Изобретение относится к фотодинамической инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии.

За последние десятилетия XX века и начало XXI века отмечено интенсивное распространение во всем мире вирусных заболеваний, имеющих высокий процент формирования хронического инфекционного процесса и создающих угрозу выживанию человечества. Существенно высокий процент заражения людей, особенно гепатитом В (далее по тексту - HBV), гепатитом С (далее по тексту - HCV) преимущественно происходит через зараженный вирусами медицинский инструментарий (хирургический, стоматологический, офтальмологический, лорингологический, гинекологический и другие), который нельзя подвергать стерилизации при высокой температуре или путем автоклавирования. HBV и HCV устойчивы к действию применяемых в медицине многих дезинфицирующих растворов. А полное удаление вирусных частиц из поверхности медицинских инструментов механическими способами не достижимо. Как следствие, на инструментарии сохраняются вирусные частицы, способные к репликации (размножению в организме) и заражению людей. А для заражения человека и развития у него заболевания достаточно попадания в кровь даже одной частицы HBV или HCV. Это обуславливает высокий риск заражения пациентов вирусными инфекциями при медицинских манипуляциях. Следовательно, назрела острая необходимость разработки максимально эффективного метода инактивации (лишения способности к репликации) РНК и ДНК-вирусов и их частиц на медицинском инструментарии.

Известно, что способ фотодинамической инактивации РНК и ДНК-вирусов основан на способности некоторых химических веществ (фотосенсибилизаторов) под воздействием света переходить в фотовозбужденное состояние и генерировать активные формы кислорода. Указанные формы кислорода являются высокотоксичными соединениями, обуславливающими фармакодинамическое действие способа.

Известен способ инактивации вирусов в биологических жидкостях, путём обработки биологической жидкости светом для инактивации в ней загрязняющих примесей, таких как вирусы. Согласно известному способу создают интенсивность света по меньшей мере 30 мВт/см^2, которым воздействуют на биологическую жидкость. Биологическая жидкость включает определенное количество фотохимического агента (фотосенсибилизатора). При взаимодействии фотохимического агента со светом происходит активация фотохимического агента, что обеспечивает инактивацию вирусов. Известный способ основан на активации метиленовиго синего при взаимодействия его со светом, имеющим интенсивность по меньшей мере 30 мВт/кв.см. Метиленовый синий может быть размещен внутри биологической жидкости и может взаимодействовать со светом в течение периода времени приблизительно между 0,3 и 30 мин. Согласно известному изобретению использование света высокой интенсивности с биологической жидкостью, такой как кровь или плазма крови, содержащей заданное количество метиленового синего, усиливает воздействие метиленового синего в отношении уничтожения вирусов. Метиленовый синий активируется с помощью света высокой интенсивности, имеющего длины волн примерно от 550 и до 700 нм, с пиком при 663 нм. Поглощение света в этом диапазоне обеспечивает активацию метиленового синего. Для создания света высокой интенсивности используют натриевую лампу высокого давления [описание к патенту RU № 2219951, МПК A61L 2/08, A61M 1/36, A01N 1/02, H01J 37/20, опубл. 27.12.2003].

Однако, использование известного способа для инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на инструментарии не эффективно из-за высокой энергоёмкости, конструкционной сложности и соответственно трудоёмкости в эксплуатации.

Наиболее близким по существенным признакам к заявленному можно принять известный способ работы установки для инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии. В соответствии с известным способом медицинские инструменты (стоматологические, гинекологические, хирургические, глазные и другие) после использования подвергают предварительной механической очистке и промывке в воде с моющими средствами (мыльный раствор, стиральные порошки). После тщательного ополаскивания в водопроводной воде инструменты погружают в кювету, заполненную раствором метиленового синего. Кювету с инструментами устанавливают в камеру установки на вращающийся поддон. Дверцу устройства плотно закрывают, таймером устанавливают время экспозиции, включают излучатель монохроматического света, установленного над кюветой, и электродвигатель вращения поддона. Процесс инактивации вирусов, имеющихся на поверхности медицинского инструментария продолжают 45 мин при обработке монохроматическим светом длинной волны 590 нм [описание к патенту UZ № FAP 00464, МПК A61L 2/08, опубл. 29.05.2009].

Однако использование известного способа инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии также не эффективно из-за повышенной энергоёмкости и конструкционной сложности. Кроме того, учитывая, что метиленовый синий (фотохимический агент) способен обеспечивать максимальную активацию только при взаимодействии с монохроматическим светом длинной волны 590нм, известный способ не раскрывает условия организации требуемого освещения.

В основу изобретения поставлена задача разработки эффективного, с минимальными трудо- и энергозатратами способа инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, путём достижения максимальной активации фотохимического агента при взаимодействии с монохроматическим светом.

Поставленная задача решается тем, что способ инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на

медицинском инструментарии, включающий предварительную механическую очистку и промывку инструментария, последующую его выдержку в водном растворе метиленового синего и активацию светом, в котором согласно изобретению активацию в водном растворе метиленового синего с концентрацией 0,01-0,02% осуществляют излучением с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 lm, при этом выдерживают инструментарий в указанном растворе 90 мин.

Сущность заявленного способа заключается в том, что раствор метиленового синего подвергают облучению монохроматическим световым потоком с длиной волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 lm, что соответствует длинам волн спектра поглощения метиленового синего. Для этого разработан специальный источник излучения в спектре излучения монохроматических излучателей с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм. Эффектом соответствия длины волны поглощения метиленового синего и длины волны монохроматического светового потока является фотоактивация метиленового синего. При фотоактивации происходит поглощение квантовой энергии молекулами метиленового синего и возбуждение электронов в их атомах. В результате сами молекулы становятся источниками рассеянного света той же длины волны (классическое рассеивание). Под влиянием световых квантов, излучаемых фотоактивированными молекулами метиленового синего происходит фотоактивация молекул находящихся "в тени" относительно монохроматического излучателя установки. Таким образом, в установке фотоактивации подвергаются все молекулы метиленового синего - как находящиеся на пути световых лучей излучателя, так и находящиеся "в тени" относительно его. Инактивация РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии осуществляется при комнатной температуре в фотоактивируемой жидкости - в 0,01-0,02% растворе метиленового синего (Methylene Blue). 0,01-0,02% раствор метиленового синего подвергается воздействию монохроматического светового потока длиной волны в диапазоне 588-592 нм или 658-662 нм, что соответствует длинам волн спектра поглощения метиленового синего. В установке монохроматический световой поток длиной волны в диапазоне 588-592 нм или 658-662 нм создаётся монохроматическим излучателем. Общая мощность потребления электроэнергии установкой составляет 50 W, мощность светового потока должна быть не менее 280 lm. Под влиянием монохроматического светового потока длиной волны в диапазоне 588-592 нм или 658-662 нм (что соответствует длине волны спектра поглощения метиленового синего) происходит фотоактивация молекул метиленового синего. Фотоактивированные молекулы метиленового синего активно вступают в прочную связь с парой нуклеиновых кислот - гуанином и цитозином и блокирует их в цепи РНК или ДНК содержащих вирусов. Вирусы с такими инактивированными РНК и ДНК даже при поступлении в кровь человека не способны поражать клетки и размножаться внутри клеток (реплицироваться). То есть, они полностью теряют вирулентные и патогенные свойства (свойства заражать и вызывать заболевание).

Кроме того, фотоактивированные молекулы метиленового синего способствуют образованию активных форм атомарного кислорода, усиливающих процесс денатурации нуклеиновых кислот РНК и ДНК вирусов.

Способ осуществляют следующим образом.

Медицинские инструменты (стоматологические, гинекологические, хирургические, глазные и другие) после использования у пациентов подвергают предварительной механической очистке и промывке в воде с моющими средствами (мыльный раствор, стиральные порошки). После этого инструменты тщательно ополаскивают в водопроводной воде, затем погружают в округлую кювету установки с 0,01-0,02% раствором метиленового синего. Инструменты укладывают на дно кюветы в один слой, так чтобы они полностью были покрыты раствором метиленового синего. Далее кювету с инструментами устанавливают на основание в камере установки. Дверцу устройства плотно закрывают, таймер устанавливают на выбранное время экспозиции тумблером. При этом дверца установки надежно защелкивается и до выключения таймера не должна открываться. При включении установки в камере автоматически включается панель излучателя монохроматического света, установленного над кюветой. Идет процесс инактивации вирусов, имеющихся на поверхности медицинского инструментария.

После выключения таймера открывается дверца шкафа установки, извлекается кювета с инструментами. Инструменты изымают пинцетом из раствора метиленового синего и тщательно ополаскивают в дистиллированной воде. После этого инструменты подвергают дальнейшей общепринятой стерилизации.

Фотоактивируемая жидкость для инактивации РНК или ДНК вирусов представляет собой 0,01-0,02%-ный раствор Метиленового Синего (Methylene Blue) на дистиллированной воде. 0,01-0,02%-ный раствор фотоактивируемой жидкости приготавливают путем растворения соответственно 1,0-2,0 г Methylene Blue в 10 л дистиллированной воды в чистой емкости.

Сохранность 0,01-0,02% раствора метиленового синего в чистой емкости составляет 10 дней. Порция 0,01-0,02% раствора метиленового синего годна для 3-х кратного использования в течение 1 дня. Визуально при утрате прозрачности (помутнении) или образовании налета на поверхности раствор метиленового синего считается непригодным для инактивации вирусов. В этом случае раствор готовят заново.

Наиболее близкой по существенным признакам к заявленной можно принять установку для инакти-

вации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии. Известная установка, содержащая плоскодонную кювету для жидкости и расположенный над ней источник облучения, согласно изобретению снабжена средством для вращения кюветы, средством для турбулизации жидкости, и батареей излучателей монохроматического света видимого диапазона, для инактивации жидкости, обладающей фотоактивными свойствами. Процесс инактивации вирусов, имеющихся на поверхности медицинского инструментария продолжают 45 мин при обработке монохроматическим светом длинной волны 590 нм [описание к патенту UZ № FAP 00464, МПК A61L 2/08, опубл. 29.05.2009].

Однако использование известной установки для инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии не эффективно из-за повышенной энергоёмкости и конструкционной сложности. Кроме того, учитывая, что метиленовый синий (фотохимический агент) способен обеспечивать максимальную активацию при взаимодействии с монохроматическим светом длинной волны 590 нм, в известной установке не раскрыты условия организации требуемого освещения.

В основу изобретения поставлена задача разработки упрощённой конструкции, с минимальными трудо- и энергозатратами установки для инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, путём достижения максимальной активации фотохимического агента при взаимодействии с монохроматическим светом.

Задача решается тем, что установка для инактивации РНК и ДНК- вирусов на медицинском инструментарии, содержащая, герметично закрывающийся корпус с камерой, размещённую в камере емкость для инструментария, заполненную раствором метиленового синего и установленный над емкостью источник монохроматического света, содержащий монохроматические излучатели, согласно изобретению источник монохроматического света содержит светодиоды с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 lm.

Установка схематически иллюстрируется чертежами фиг. 1, 2, 3, 4.

Установка содержит корпус 1 с дверцей 2, вентиляционными отверстиями по боковым сторонам (на чертеже не показано) и внутренней камерой 3. На нижнем основании 4 камеры установлена кювета 5 с фотоактивируемой жидкостью (водный раствор метиленового синего) 6. Излучатель монохроматического света 7 вмонтирован в верхнее основание 8 камеры. Время экспозиции устанавливается таймером 9, каждое деление шкалы которого соответствует 15 мин, общее время, задаваемое таймером, составляет 90 мин. Включение монохроматического излучателя осуществляется посредством поворота ручки таймера по часовой стрелке при закрытой дверце. По истечении установленного времени экспозиции выключение установки происходит автоматически. О работе установки сигнализирует индикаторная лампочка 10.

В случае преждевременного открытия дверцы срабатывает блокировочное устройство и осуществляется выключение монохроматического излучателя. Установка работает следующим образом.

Медицинский инструментарий помещают в кювету 6 с водным раствором метиленового синего 7, который подвергают облучению световой энергией монохроматического излучения с максимальным удельным содержанием монохроматического луча с длиной волны 588-592 нм или 658-662 нм с общей мощностью светового потока не менее 280 lm. Время экспозиции устанавливают 90 мин. После обработки в установке вирусы, содержащиеся на медицинском инструментарии, полностью инактивируются - теряют способность заражать клетки организма человека. Инструментарий используется повторно без риска заражения пациентов.

Излучатель монохроматического света 8 с максимальным удельным содержанием монохроматического луча с длиной волны 588-592 нм или 658-662 нм с общей мощностью светового потока не менее 280 lm, выполнен в виде светодиодов, равномерно размещённых на панели, откалиброванных в спектре излучения с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм.

Проверку действия заявленных способа и установки проводили на заражённой вирусами биологической среде, такой как плазма крови.

Пример 1.

Монохроматические излучатели с диапазоном излучения в 590±2 нм. После обработки в заявленной установке заявленным способом образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 мин в 0,01% растворе метиленового синего в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

То есть, при использовании монохроматического излучателя с диапазоном излучения в 588-592 нм был достигнут полный инактивирующий эффект на HBV при его инактивации в 0,01% растворе метиленового синего.

Пример 2.

Монохроматические излучатели с диапазоном излучения в 590±2 нм. После обработки в заявленной установке заявленным способом образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 мин в 0,02% растворе метиленового синего в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

То есть, при использовании монохроматического излучателя с диапазоном излучения в 588-592 нм был достигнут полный инакгивирующий эффект на HBV при его инактивации в 0,02% растворе метиленового синего.

Пример 3.

Монохроматические излучатели с диапазоном излучения в 660±2 нм. После обработки в заявленной установке заявленным способом образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 мин в 0,01% растворе метиленового синего в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

То есть, при использовании монохроматического излучателя с диапазоном излучения в 658-662 нм был достигнут полный инактивирующий эффект на HBV при его инактивации в 0,01% растворе метиленового синего.

Пример 4.

Монохроматические излучатели с диапазоном излучения в 660±2 нм. После обработки в заявленной установке заявленным способом образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 мин в 0,02% растворе метиленового синего в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

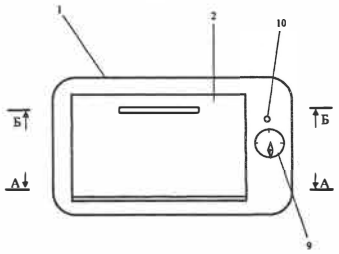
То есть, при использовании монохроматического излучателя с диапазоном излучения в 658-662 нм был достигнут полный инактивирующий эффект на HBV при его инактивации в 0,02% растворе метиленового синего.

Таким образом, использование заявленного изобретения позволяет эффективно и с минимальными затратами достичь полной инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии и может быть предложено для широкого практического использования в учреждениях здравоохранения.

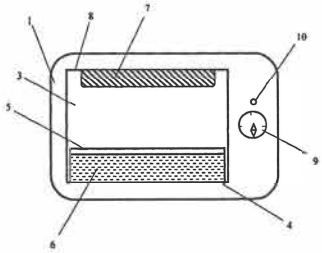
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, включающий предварительную механическую очистку и промывку инструментария, последующую его выдержку в водном растворе метиленового синего и активацию светом, отличающийся тем, что активацию в водном растворе метиленового синего с концентрацией 0,01-0,02% осуществляют излучением с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 лм, при этом выдерживают инструментарий в указанном растворе 90 мин.

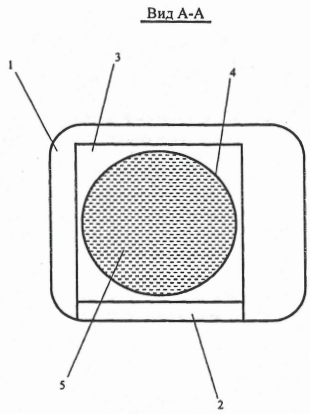
2. Установка для инактивации РНК и ДНК содержащих вирусов на медицинском инструментарии, содержащая герметично закрывающийся корпус с камерой, размещённую в камере емкость для инструментария, заполненную раствором метиленового синего, и установленный над емкостью источник монохроматического света, содержащий монохроматические излучатели, отличающаяся тем, что источник монохроматического света содержит светодиоды с диапазоном длины волны 588-592 нм или 658-662 нм и общей мощностью светового потока не менее 280 лм.



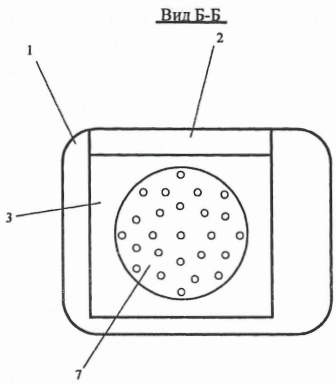
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2