



Gruppo Angelini

## Il Disinfettante Amuchina

### COS'E'

Amuchina è un disinfettante originale, che si presenta sottoforma di soluzione, a base di sodio elettrolitico tamponato (stabilizzato) ottenuto mediante un procedimento elettrochimico standardizzato e calibrato allo scopo di ottenere un principio attivo puro, privo di impurezze e pertanto adeguato a raggiungere livelli di qualità farmaceutici <sup>(1)</sup>.

### COSA NON E'

Non è candeggina (varechina)

non è in alcun modo riconducibile alla candeggina né tanto meno derivata da una diluizione di questa. non può essere considerata un comune ipoclorito o ipoclorito "tecnico", che si ottiene come sottoprodotto dei processi di produzione della soda e del cloro e il cui settore principale di impiego è quello della chimica pesante. Ne deriva pertanto un prodotto caratterizzato da basso costo, ma dotato di standard qualitativi di livello non adeguato per l'uso farmaceutico <sup>(1)</sup>.

I principali difetti degli ipocloriti industriali sono:

elevato contenuto di soda caustica, addizionata al fine di aumentarne la stabilità, che si riflette direttamente sul pH fortemente basico di tali soluzioni, intorno a 11 – 12, le quali risultano perciò non adatte ad un uso di tipo farmaceutico perché irritanti e corrosive su cute e mucose.

Presenza di tracce di mercurio provenienti dai processi di amalgama, con immediati riflessi sulla tossicità intrinseca della soluzione, che ne compromette l'uso su cute e mucose.

La presenza di impurezze che riducono la stabilità del prodotto, rendendolo inadeguato rispetto ai normali standard di stabilità farmaceutici.

### CHIMICA

#### 1. COMPOSIZIONE

- a. Amuchina si presenta sottoforma di soluzione liquida, avente la seguente composizione:  
Principio attivo: Ipoclorito di sodio 1,15 g (pari a cloro attivo 1,1, corrispondente a 11.000 ppm o mg/l di cloro attivo)

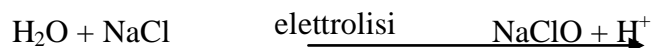
#### 2. Eccipienti:

- a. cloruro di sodio (totale) 18 g
- b. sodio idrato 35 mg
- c. sodio tetraborato decaidrato 35 mg

#### 3. CLORO ATTIVO/DISPONIBILE – AVAILABLE CHLORINE <sup>(2)</sup>

Amuchina si ottiene tramite un processo di elettrolisi di una soluzione di acqua depurata (H<sub>2</sub>O) e cloruro di sodio puro (NaCl). Dalla reazione elettrochimica si origina il principio attivo, l'ipoclorito di sodio (NaOCl).

Reazione complessiva:



In acqua l'ipoclorito di sodio si dissocia in sodio idrossido e acido ipocloroso, secondo la seguente reazione:



L'acido ipocloroso è la parte attiva, il maggiore responsabile dell'attività disinfettante, il cosiddetto:

#### CLORO ATTIVO O DISPONIBILE (AVAILABLE CHLORINE)

Perché l'acido ipocloroso è il maggiore responsabile dell'azione disinfettante? La risposta va ricercata nella struttura molecolare dell'HOCl, estremamente piccola, priva di carica elettrica e del tutto assimilabile a quella dell'acqua, come si può vedere in figura 1.

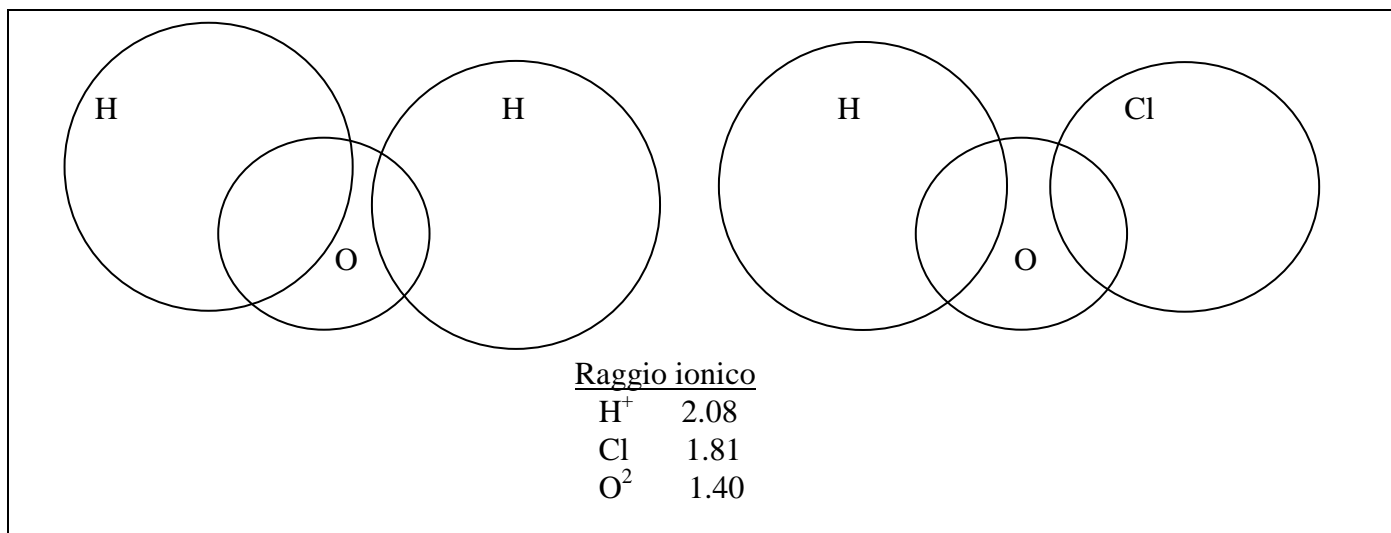


Figura 1. Struttura della molecola dell'acido ipocloroso (HOCl) in confronto a quella dell'acqua (H<sub>2</sub>O)

Per questo motivo l'acido ipocloroso penetra facilmente attraverso la membrana cellulare della cellula batterica, divenendo così l'agente ad attività microbica più elevata.

In acqua l'acido ipocloroso si dissocia secondo la seguente reazione:



Ne deriva che l'aumento di concentrazione degli ioni H<sup>+</sup> (diminuzione di pH) fa retrocedere il grado di dissociazione, per cui la diminuzione del pH causa un incremento dell'efficacia disinfettante delle soluzioni di ipoclorito di sodio.

Il grafico sottostante illustra la curva di dissociazione dell'acido ipocloroso in funzione del pH. Fig.2

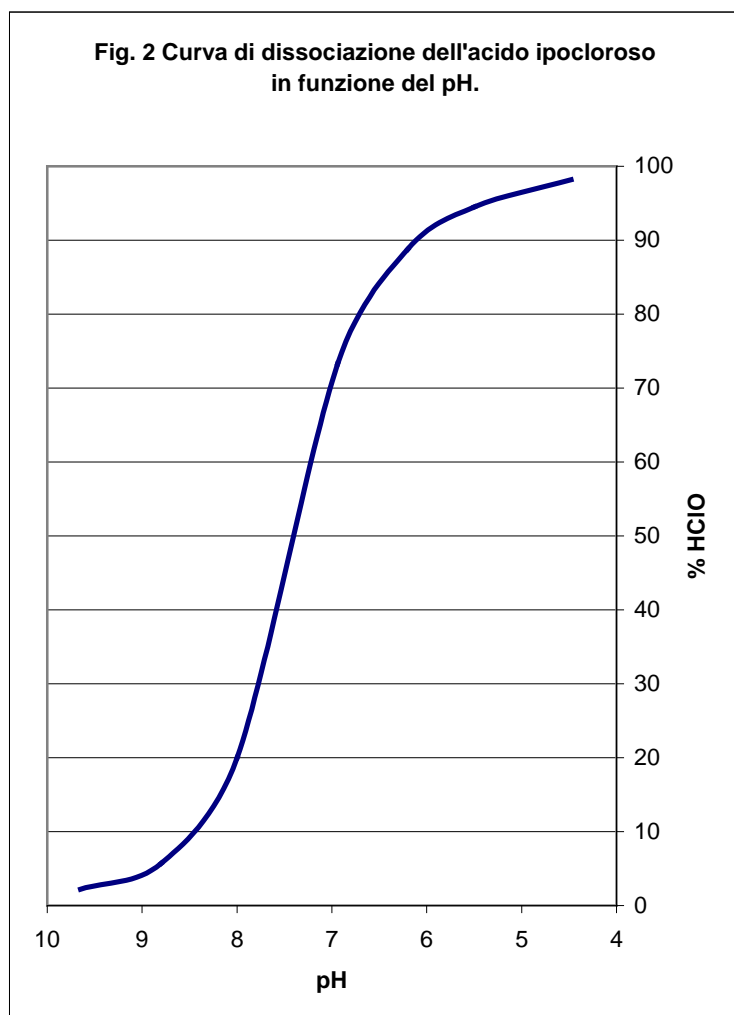


Fig. 2. Curva di dissociazione dell'acido ipocloroso in funzione del pH

A parità di concentrazione di cloro attivo Amuchina, grazie all'originale metodo di produzione, ha un pH più basso (tra 9.5 e 10.5) rispetto ai comuni ipocloriti, alle candeggine, che hanno valori di pH intorno a 11 – 12. Pertanto, a parità di concentrazione di cloro attivo, Amuchina risulta più attiva dei comuni ipocloriti.

#### POTENZIALE DI OSSIDORIDUZIONE (ORP) <sup>(2)</sup>

Il potenziale di ossido-riduzione esprime la forza ossidante di una soluzione e viene indicato solitamente in mV (millivolt).

A parità di contenuto in cloro attivo i composti dotati di maggiore potenziale di ossido-riduzione svolgono un'attività battericida superiore <sup>(3),(4)</sup> Fig. 3.

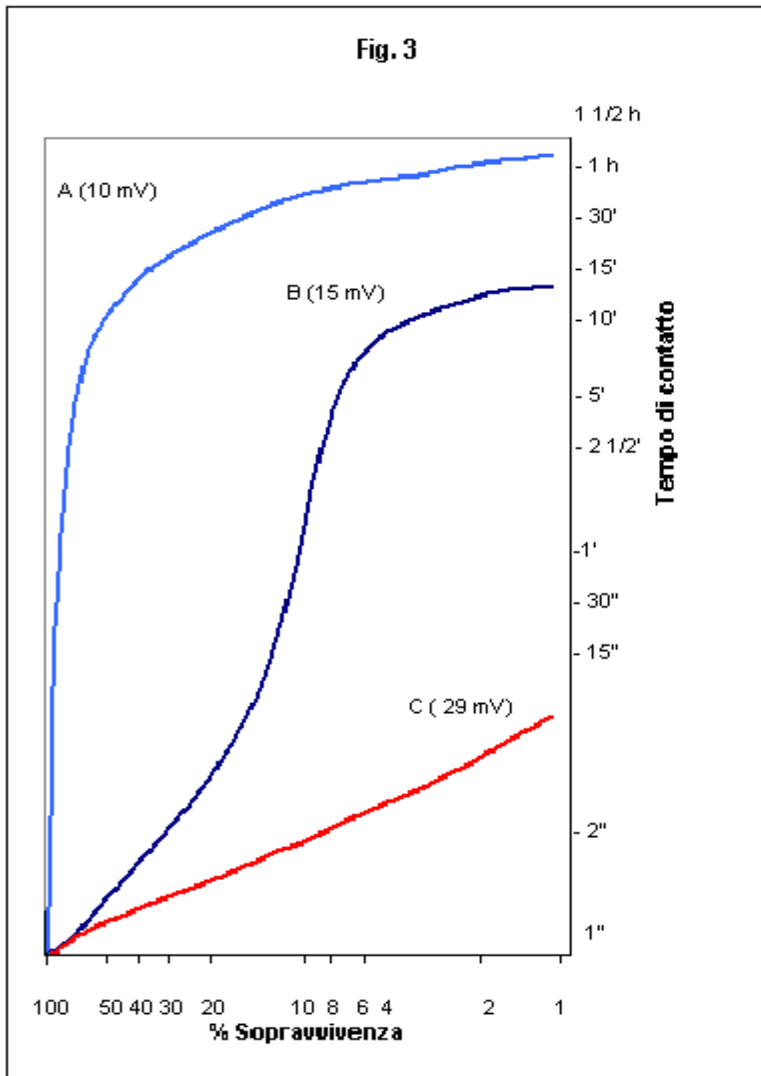


Fig.3. Influenza del potenziale di ossidoriduzione sul potere germicida di diversi cloroderivati (6). [A e B = clorammina 0.19 ppm di cloro attivo; C = ipoclorito 0.21 ppm di cloro attivo].

A parità di concentrazione il cloro libero (available chlorine) presenta un potenziale di ossido-riduzione superiore a quello del cloro combinato (Fig. 4)

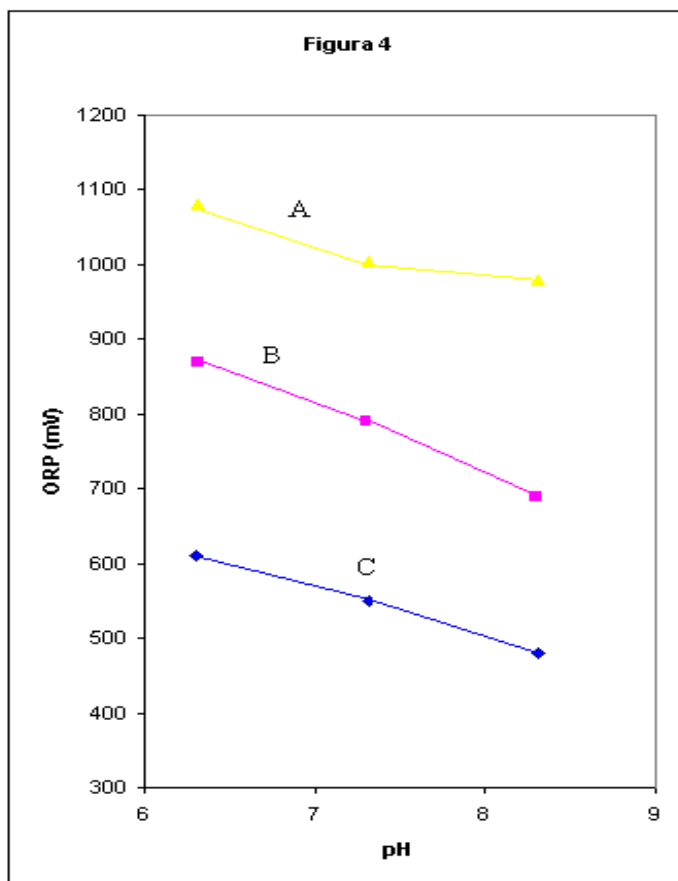


Fig.4. Potenziali di ossidoriduzione (ORP) di tre differenti clorodisinfettanti a parità di contenuto in cloro attivo (1.0 ppm). [A = Acido ipocloroso; B = cloramina; C = azacloramide] (7).

Il potenziale di ossido-riduzione, a sua volta, è influenzato dal contenuto in cloro attivo e dal pH. La correlazione tra pH, concentrazione dell'acido ipocloroso indissociato (HOCl) ed attività battericida si estende anche al potenziale di ossido-riduzione ⇒ Una diminuzione del pH comporta un aumento dell'ORP e viceversa. Nell'ambito di pH tra 9 e 12, a piccole diminuzioni di pH corrispondono forti incrementi del potenziale di ossido-riduzione. Grazie all'originale metodo di produzione e di stabilizzazione, Amuchina, a parità di contenuto in cloro attivo, mantiene valori di pH più bassi e, di conseguenza, valori di potenziale di ossido-riduzione più elevati rispetto ad un ipoclorito di sodio comune. La figura 5 riporta i dati di confronto tra il "clorossidante elettrolitico" (Amuchina) ed un ipoclorito di sodio comune contenente uguale concentrazione di cloro attivo.

Composto	pH	ORP (mV)
Clorossidante Elettrolitico	9.6	800
Ipoclorito di sodio	11.1	608

Fig.5. Valori di pH e di potenziale di ossido-riduzione (ORP) di una soluzione di clorossidante elettrolitico e di un ipoclorito comune a pari concentrazione di cloro attivo (11%) .

Dai punti 1 e 2 (1. Cloro attivo; 2. Potenziale di ossido-riduzione) si evince la fondamentale esigenza di operare a pH bassi, per ottenere un incremento dell'efficacia microbica delle soluzioni a base di ipoclorito di sodio. A tale esigenza si contrappone quella di segno opposto di mantenere il pH basico, al quale gli ipocloriti risultano stabili più a lungo. Grazie allo specifico processo di produzione e di stabilizzazione, Amuchina è riuscita a conciliare queste opposte esigenze, di efficacia da una parte e di stabilità adeguata ad un utilizzo di tipo farmaceutico dall'altra. Infatti dal processo di elettrolisi di una soluzione di partenza costituita da acqua depurata e cloruro di sodio puro si ottiene un "clorossidante elettrolitico" stabilizzato (Amuchina) dotato di caratteristiche superiori rispetto agli ipocloriti di sodio "tecnici", comuni.

I punti di forza e le differenze di Amuchina rispetto agli ipocloriti comuni vengono qui di seguito evidenziati:

- Valore di pH più basso rispetto agli ipocloriti comuni: 9.5 – 10.5 rispetto a 11.5 – 12.00 ⇒
- Maggiore concentrazione di acido ipocloroso indissociato (HOCL) ⇒ a parità di concentrazione di cloro attivo Amuchina è più efficace rispetto agli ipocloriti comuni.
- A parità di concentrazione di cloro attivo, Amuchina possiede un potenziale di ossido-riduzione maggiore di un ipoclorito comune ⇒ attività battericida superiore.
- Al suo specifico valore di pH (9.5 – 10.5) Amuchina non risulta né irritante né tantomeno corrosiva, al contrario degli ipocloriti comuni o le comuni candeggine, con pH > 11.
- Grazie al suo elevato grado di purezza, di "neutralità", Amuchina risulta priva di tossicità, innocua, alle concentrazioni d'uso. Gli ipocloriti comuni contengono impurezze (per esempio il mercurio) che ne precludono l'utilizzo sulla persona (cute e mucose), a causa della tossicità intrinseca e rispetto alle cellule (citotossicità)
- La presenza di impurezze riduce la stabilità delle soluzioni di ipoclorito comuni, mentre Amuchina mantiene una concentrazione (titolo) costante di principio attivo per il periodo di validità dichiarato.
- Tutte queste caratteristiche concorrono alla realizzazione di un prodotto disinfettante dotato dei necessari requisiti di purezza, stabilità, efficacia e sicurezza per l'utilizzatore finale, delineando così un profilo di alto livello qualitativo, che consente di raggiungere uno stato di ↓↓

## QUALITA' FARMACEUTICA

### ATTIVITA' MICROBIOLOGICA <sup>(2)</sup>

- Come già detto, il maggiore responsabile dell'attività microbica è l'acido ipocloroso (HOCl).
- Meccanismo d'azione ⇒

- Penetrazione attraverso la membrana della cellula batterica.
- Ossidazione dei gruppi tiolici (sulfidrilici o-SH) dei sistemi enzimatici fondamentali per il ciclo vitale (Ciclo di Krebs) della cellula. Figura 6
- Blocco del ciclo energetico della cellula batterica ⇒

Morte della cellula batterica. Figura 7.

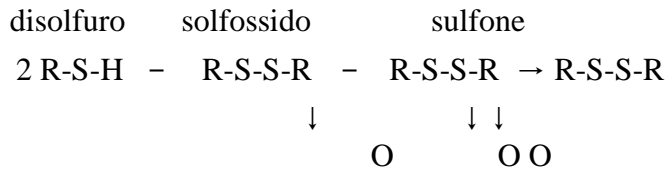


Fig.6. Azione ossidante del cloro sui gruppi -SH (sulfidrilici) degli enzimi del Ciclo di Krebs: triosofosfato deidrogenasi; succinico deidrogenasi

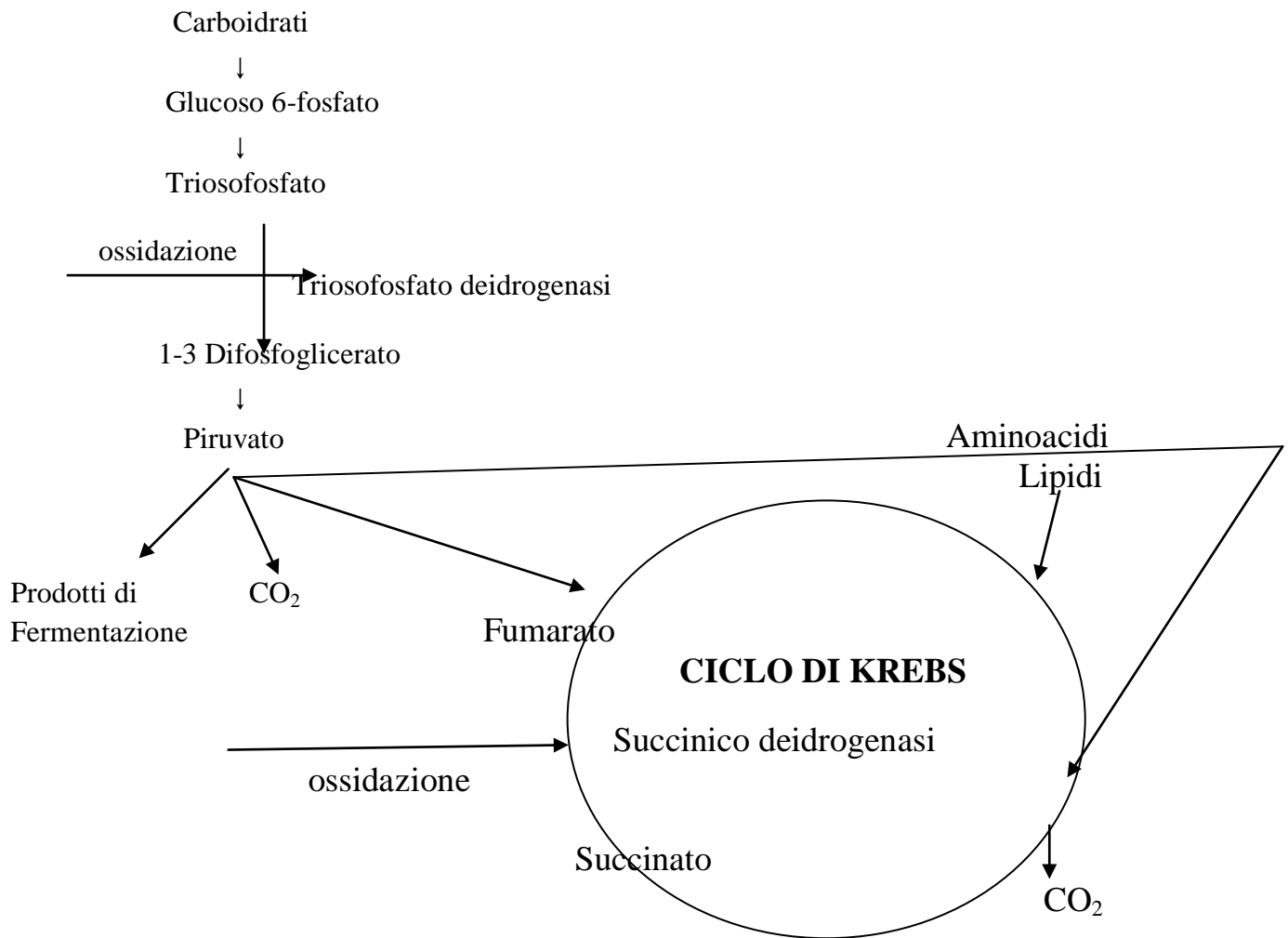


Fig.7. Siti dell'azione ossidante dei clorodisinfettanti nel metabolismo energetico della cellula batterica

#### TEST DI EFFICACIA MICROBIOLOGICA

Allo scopo di verificarne l'attività microbiologica Amuchina è stata sottoposta ad un ampio programma di test secondo le normative CEN (Comitato Europeo di Normazione). Superando i test che indichiamo qui di seguito, Amuchina ha confermato l'attività rapida, ad ampio spettro (batteri gram+ e gram-, Mycobacterium spp., funghi, HAV-HBV-HIV-HCV, spore) e a basse concentrazioni, tipica dei cloroderivati.

#### Attività battericida:

- Sostanze interferenti: CEN/TC 216 PrEN 1276, giugno 1996. Biolab S.p.A., maggio '97<sup>(5)</sup>.
- Sostanze interferenti: CEN/TC 216 PrEN 1276, giugno 1996. Ceppi vancomicina - meticillina resistenti. Biolab S.p.A., maggio '97<sup>(6)</sup>
- Test di superficie: CEN/TC 216 WG 3N54, maggio 1996. Biolab S.p.A., maggio '97<sup>(7)</sup>.
- Valutazione dell'attività battericida dell'acqua da bere: CEN/TC 216 PrEN 1040, settembre 1996. Biolab S.p.A., ottobre '98<sup>(8)</sup>.

#### Attività micobattericida:

- Etude de l'activité bactéricide du produit Amuchina 5 vis à vis de Mycobacterium smegmatis selon la norme AFNOR NF T 72150, novembre '87<sup>(9)</sup>.

#### Attività fungicida:

- Sostanze interferenti: Final Draft PrEN 1650 CEN/TC 216 N104, gennaio 1996. Biolab S.p.A., maggio '98<sup>(10)</sup>.
- Test di superficie: CEN/TC 216 WG 3N54, maggio 1996. Biolab S.p.A., maggio '98<sup>(11)</sup>.

#### Attività virucida:

- HAV: titolazione dell'antigene HAV. Università di Torino, dicembre '92<sup>(12)</sup>.
- HBV: titolazione HBeAg. Università di Torino, dicembre '92<sup>(13)</sup>.
- HCV: valutazione replicazione e binding cellulare. Università di Trieste, 1997<sup>(14)</sup>.
- HIV: test citopatogenetico e dosaggio RTA. Institut Pasteur, Unitè de Biologie des Rétrovirus, 1994<sup>(15)</sup>.

#### Attività sporicida:

- Attività sporicida base: CEN/TC 216 HWG 44. Biolab S.p.A., maggio '98<sup>(16)</sup>.

#### Attività battericida

- Valutazione dell'attività battericida in presenza di sostanze interferenti: CEN/TC 216 PrEN 1276

Valori di riduzione della vitalità rispetto alle concentrazioni testate.

Microrg test	CONCENTRAZIONI TESTATE E TEMPI DI CONTATTO									
	1%			1.5%			2%			8%
	15'	30'	60'	15'	30'	60'	15'	30'	60'	5'
Staphylococcus aureus ATCC 6538	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>	> 3.6 x 10 <sup>5</sup>
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>	> 1.9 x 10 <sup>5</sup>
Escherichia coli ATCC 10536	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>	> 4.1 x 10 <sup>5</sup>
Enterococcus faecium ATCC 10541	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultata battericida verso i ceppi testati alla concentrazione dell'8% (880 ppm di cloro attivo) in 5 minuti di contatto, alla concentrazione dell'1% (110 ppm di cloro attivo), 1.5% (165 ppm di cloro attivo) e 2% (220 ppm di cloro attivo) dopo 15 minuti

di contatto. Valutazione dell'attività battericida in presenza di sostanze interferenti: CEN/TC 216 PrEN 1276 – Ceppi vancomicina-meticillina resistenti

Valori di riduzione della vitalità rispetto alle concentrazioni testate.

CONCENTRAZIONI TESTATE E TEMPI DI CONTATTO				
MICRORGANISMI TEST	80%			
	1 minuto	1.30 minuti	3 minuti	5 minuti
Sterptococcus faecalis Vancomicina resistente	< 5.7 x 10 <sup>3</sup>	< 5.7 x 10 <sup>3</sup>	2.8 x 10 <sup>4</sup>	> 1.1 x 10 <sup>5</sup>
Staphylococcus aureus Meticillino resistente	< 5.3 x 10 <sup>3</sup>	< 5.3 x 10 <sup>3</sup>	1.9 x 10 <sup>4</sup>	> 1.1 x 10 <sup>5</sup>

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina 5% (corrispondente a 550 ppm di cloro attivo) è risultata battericida alla concentrazione massima testata (80%, corrispondente a 440 ppm di cloro attivo) sui due ceppi batterici antibiotico resistenti, dopo 5 minuti di contatto.

Valutazione dell'attività battericida – Test di superficie: CEN/TC 216 WG 3N54

Nella tabella sono riportati i valori di riduzione logaritmica (ME).

CONCENTRAZIONI TESTATE E TEMPI DI CONTATTO																
Microrg test	1%				1.5%				2%				10%			
	5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'
Staphylococcus aureus ATCC 6538	0.78	2.43	>5.33	>5.33	0.89	>5.33	>5.33	>5.33	0.98	>5.33	>5.33	>5.33	>5.33	>5.33	>5.33	>5.33
Pseudomonas aeruginosa ATTC 15442	1.08	4.45	>5.75	>5.75	2.64	>5.75	>5.75	>5.75	2.72	>5.75	>5.75	>5.75	>5.75	>5.75	>5.75	>5.75
Escherichia coli ATCC 10536	1.13	3.38	>5.37	>5.37	1.29	4.17	>5.37	>5.37	1.53	>5.37	>5.37	>5.37	>5.37	>5.37	>5.37	>5.37
Enterococcus faecium ATCC 10541	1.25	1.68	>5.79	>5.79	3.73	>5.79	>5.79	>5.79	1.31	>5.79	>5.79	>5.79	>5.79	>5.79	>5.79	>5.79

**Conclusioni:** sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultato **battericida** sui ceppi testati alla concentrazione del 10% (corrispondente a 1100 ppm di cloro attivo) dopo 5 minuti di contatto, alla concentrazione del 2% (corrispondente a 220 ppm di cloro attivo) dopo 15 minuti di contatto, alla

concentrazione dell'1% (corrispondente a 110 ppm di cloro attivo) e dell'1.5% (corrispondente a 165 ppm di cloro attivo) dopo 30 minuti di contatto.

Valutazione dell'attività battericida dell'acqua da bere: CEN/TC 216 PrEN 1040

Nella tabella vengono riportati i valori di riduzione del numero di unità formanti colonie/millilitro di soluzione test (cfu/ml) alle concentrazioni indicate e ai tempi prefissati.

		<b>CONCENTRAZIONI TESTATE E TEMPI DI CONTATTO</b>					
<b>MICROORGANISMI TEST</b>	<b>0.1%</b>						
	<b>5 minuti</b>	<b>15 minuti</b>	<b>30 minuti</b>	<b>60 minuti</b>	<b>120 minuti</b>	<b>240 minuti</b>	
Staphylococcus aureus ATCC 6538	< 1.6 x 10 <sup>4</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442	< 8.7 x 10 <sup>3</sup>	1.08 x 10 <sup>4</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	
		<b>0.05%</b>					
	<b>5 minuti</b>	<b>15 minuti</b>	<b>30 minuti</b>	<b>60 minuti</b>	<b>120 minuti</b>	<b>240 minuti</b>	
Staphylococcus aureus ATCC 6538	< 1.6 x 10 <sup>4</sup>	6.2 x 10 <sup>4</sup>	8.2 x 10 <sup>4</sup>	1.25 x 10 <sup>5</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	> 3.3 x 10 <sup>5</sup>	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442	< 8.7 x 10 <sup>3</sup>	< 8.7 x 10 <sup>3</sup>	8.4 x 10 <sup>4</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	> 1.7 x 10 <sup>5</sup>	

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultata battericida sui ceppi testati alla concentrazione dello 0.1% (corrispondenti a 11 ppm di cloro attivo) dopo 30 minuti di contatto e alla concentrazione dello 0.05% (corrispondenti a 5.5 ppm di cloro attivo) dopo 60 minuti di contatto.

#### Attività micobattericida

Etude de l'activité bactéricide du produit Amuchina 5 vis à vis de Mycobacterium smegmatis selon la norme AFNOR NF T 72150.

Il test è stato ripetuto su tre lotti differenti di prodotto (Amuchina 5% lot. 1194, lot. 1118, lot. 1038). Amuchina 5% corrisponde a 550 ppm di cloro attivo.

N. Lot.	Microrg. Test	N	N'	n'	X concentration en % (v/v) au contact avec les bactéries					pH min	pH max
					2,5	5	10	15	-		
Amuchina 5% Lot. 1194	Mycobacterium smegmatis CIP 7326	250	256	136	16	0	0	0	-	6,0	6,0
					2	2,5	5	10	15	pH min	pH max
Amuchina 5% Lot. 1118	Mycobacterium smegmatis	260	290	266	28	0	0	0	0	6,0	6,0

	CIP 7326											
					2	2,5	5	10	15	pH min	pH max	
Amuchina 5% Lot. 1038	Mycobacterium smegmatis CIP 7326	117	130	175	70	8	0	0	0	6,1		6,1

N: controllo dell'inoculo

N': test di neutralizzazione

n': saggio di neutralizzazione

Interpretazione:  $n' \geq 0,5 N'$

N e N' equivalenti

$X \leq N'/10$

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina 5% è risultata micobattericida alla concentrazione del 2,5% (v/v), corrispondenti a 13,75 ppm di cloro attivo.

Attività fungicida

Valutazione dell'attività fungicida in presenza di sostanze interferenti: CEN/TC 216 N104

Valori di riduzione di vitalità alle diverse concentrazioni.

Microrg. Test	1 minuto		3 minuti			5 minuti			15 minuti			
	22.5%	45%	80%	22.5 %	45%	80%	22.5 %	45%	80%	22.5%	45%	80%
Candida albicans ATCC 10231	>5.7x1 0 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7 x10 <sup>4</sup>	>5.7x1 0 <sup>4</sup>	>5.7x1 0 <sup>4</sup>	>5.7x1 0 <sup>4</sup>	>5.7x10 <sup>4</sup>
Aspergillus niger ATCC 16404	>4.7x1 0 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7 x10 <sup>4</sup>	>4.7x1 0 <sup>4</sup>	>4.7x1 0 <sup>4</sup>	>4.7x1 0 <sup>4</sup>	>4.7x10 <sup>4</sup>

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina 50% è risultata fungicida sui ceppi testati alla concentrazione del 22.5% (corrispondenti a 1200 ppm di cloro attivo) dopo 1 minuto di contatto.

Valutazione dell'attività fungicida test di superficie: CEN/TC 216 WG 3N54

Nella tabella sono riportati i valori di riduzione logaritmica (ME):

MICRORGANISMI TEST	CONCENTRAZIONI TESTATE E TEMPI DI CONTATTO			
	TAL QUALE			
	3 minuti	5 minuti	10 minuti	15 minuti
C.albicans ATCC 10231	> 4.15	> 4.15	> 4.15	> 4.15
A.niger ATCC 16404	> 4.93	> 4.93	> 4.93	> 4.93

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina 50% è risultata fungicida sui ceppi testati alla concentrazione del 22.5% (corrispondenti a 1200 ppm di cloro attivo) dopo 3 minuti di contatto.

Attività virucida

HAV: titolazione dell'antigene HAV.

Trattamento	Antigene HAV nelle cellule
Controllo	Presente
Amuchina 1.5% per 30 secondi	Antigene HAV non evidenziabile nelle cellule

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultata virucida nei confronti del virus HAV (Hepatitis A Virus) alla concentrazione dell'1.5% (corrispondenti a 165 ppm di cloro attivo) dopo 30 secondi di contatto.

HBV: determinazione dell'antigene HbeAg.

Trattamento	Antigene HAV nelle cellule
Controllo	Presente
Amuchina 1.5% per 30 secondi	Antigene HbeAg non evidenziabile nelle cellule

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultata virucida nei confronti del virus HBV (Hepatitis B Virus) alla concentrazione dell'1.5% (corrispondenti a 165 ppm di cloro attivo) dopo 30 secondi di contatto.

HCV: valutazione replicazione e binding cellulare

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultata virucida nei confronti del virus HCV (Hepatitis C Virus) alla concentrazione del 3% (corrispondenti a 300 ppm di cloro attivo) dopo 5 – 10 minuti di contatto.

HIV: test citopatogenetico e dosaggio RTA

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina è risultata virucida nei confronti del virus HIV (Immunodeficiency Virus) alla concentrazione dell'1.5% (corrispondenti a 165 ppm di cloro attivo) dopo 30 secondi di contatto.

Attività sporicida

- Attività sporicida base: CEN/TC 216 HWG 44. Biolab S.p.A., maggio '98.

Vengono riportati i valori di riduzione del numero di unità formanti colonia/ml di soluzione test alle concentrazioni indicate e ai tempi prefissati.

Concentrazione	Bacillus cereus						
	30 min.	1 ora	2 ore	4 ore	6 ore	8 ore	10 ore
80%	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>
5%	< 7.6 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>	> 1.5 x 10 <sup>5</sup>

Conclusioni: sulla base dei risultati ottenuti Amuchina 100% (corrispondente a 11.000 ppm di cloro attivo) è risultata sporicida nei confronti delle spore di Bacillus cereus ATCC 12826 alla concentrazione

dell'80% (corrispondenti a 8800 ppm di cloro attivo) dopo 30 minuti di contatto e alla concentrazione dell'1% (corrispondenti a 110 ppm di cloro attivo) dopo 1 ora di contatto.

## TEST CLINICI

Le caratteristiche chimico-farmaceutiche di Amuchina, unitamente alla sua dimostrata efficacia microbiologica, rendono il prodotto particolarmente adatto all'uso sulla persona. Alle adeguate concentrazioni Amuchina costituisce un medicamento ad azione antisettica rapida, efficace e rispettosa dell'integrità dei tessuti trattati (medicazione "istofila"). Le prove cliniche hanno confermato l'efficacia del prodotto nella prevenzione e nella terapia topica di stati infettivi di interesse sia ginecologico che dermatologico. In campo ginecologico l'antisettico si è confrontato favorevolmente rispetto ad un trattamento di riferimento a base di disinfettante mercuriale in pazienti affette da prurito e/o bruciore vaginale<sup>(17)</sup>. In dermatologia, il prodotto, applicato su pazienti con ferite superficiali, piaghe, ustioni, è risultato più efficace e meglio tollerato di un trattamento di riferimento a base di sulfadiazina d'argento<sup>(18)</sup>. In genere l'efficacia è stata rilevata sia nel senso di una negativizzazione delle colture batteriche che di una minore incidenza di infezioni nell'evoluzione delle dermatiti. Studi clinici mirati alla valutazione della sicurezza d'impiego hanno infine confermato un profilo di ottima tollerabilità del prodotto<sup>(19)</sup>.

## FARMACO-TOSSICOLOGIA

In relazione alla molteplicità d'uso di Amuchina (antisettico per cute integra/lesa e mucose, disinfettante per superfici, per emodialisi e dialisi peritoneale), sono stati indagati gli eventuali effetti tossici ed irritanti sulla cute, sui tessuti, per somministrazione orale ed intraperitoneale.

### Tossicità acuta

Per tossicità acuta si intende il limite al quale il prodotto risulta letale, quando somministrato in una singola dose. Tale limite è rappresentato dalla "Dose Letale 50" (DL 50, espressa in ml/Kg), cioè la concentrazione di prodotto sufficiente a provocare il decesso del 50% degli animali sottoposti alla somministrazione.

La tossicità acuta di Amuchina è stata studiata nel ratto per diverse vie di somministrazione.

Specie	Via di somministrazione	DL 50 ml/Kg
Ratto	orale <sup>(20)</sup>	24,0
	endovenosa <sup>(21)</sup>	3,0
	intraperitoneale <sup>(22)</sup>	7,3
	dermica <sup>(23)</sup>	> 4,2

Valutazione degli effetti irritanti e tossici dopo 28 giorni di applicazione continuativa (cumulative irritation).<sup>(24)</sup>

L'esperimento è stato condotto sul coniglio New Zealand, sia su cute integra che su cute abrasa con medicazione occlusiva e non occlusiva. Sono state testate le soluzioni di Amuchina al 5% e al 10%. Conclusioni: le soluzioni di Amuchina non hanno evidenziato alcun effetto irritante né causato alcun fenomeno tossico o reazione allergica.

### Tollerabilità locale

La tollerabilità locale è stata verificata tramite un test per la valutazione dell'irritazione primaria (Primary Irritation Test)<sup>(25)</sup> L'esperimento è stato condotto direttamente sull'uomo mediante tre applicazioni consecutive di Amuchina diluita al 10% di 24 ore l'una. Il test è stato effettuato in conformità alle procedure vigenti dell'FDA. Il risultato ottenuto consente di definire il prodotto "essenzialmente non irritante".

Test di sensibilizzazione (Maximization Test)<sup>(26)</sup>

Il test è stato condotto su cavie secondo il metodo di Magnusson e Kligman, utilizzando concentrazioni di Amuchina superiori al 25% (corrispondente a 2750 ppm di cloro attivo). Dal risultato si evince l'assoluta innocuità del prodotto, in quanto non si manifesta alcun fenomeno di sensibilizzazione nelle cavie.

Irritazione oculare (Acute eye irritation study in rabbits)<sup>(27)</sup>

Condotto sul coniglio New Zeland secondo linee guida CE applicando Amuchina 10% (corrispondente a 1100 ppm di cloro attivo) sulla congiuntiva palpebrale, bulbare e sull'iride. Il prodotto è risultato "non irritante" per l'occhio.

Mutagenicità<sup>(28,29,30)</sup>

Diversi studi "in vitro" e in "vivo" hanno confermato l'assenza di potere mutageno da parte di Amuchina.

## Bibliografia

1. Piacenza G., Riccola S., Contos N., Proprietà antimicrobiche e cliniche di un antisettico a base di ipoclorito di sodio elettrolitico tamponato. "Acta Toxicologica et Therapeutica. Vol. XIX – N° unico – January/December 1998.
2. Piacenza G., Rubino F., I meccanismi ossidanti dell'azione battericida del cloro e derivati. Le basi razionali della terapia. Vol. XVII, 821-825, 1987.
3. Schmelkes F.C., Horning E.W., Campbell G.A., Electro-Chemical Properties of Chlorinated Water, J. A.w.w.a. 25, 695, 1933.
4. Schmelkes F.C., The Oxidation-Reduction Potential Concept of Chlorination. J. A.w.w.a. 25, 695, 1933.
5. Biolab S.p.A. Vimodrone (MI), Verifica dell'attività battericida in presenza di sostanze interferenti: CEN/TC 216 PrEN 1276, giugno 1996. Test eseguito a maggio '97.
6. Biolab S.p.A. Vimodrone (MI), Verifica dell'attività battericida in presenza di sostanze interferenti: CEN/TC 216 PrEN 1276, giugno 1996. Ceppi vancomicina - meticillina resistenti. Test eseguito a maggio '97.
7. Biolab S.p.A. Vimodrone (MI), Verifica dell'attività battericida. Test di superficie: CEN/TC 216 WG 3N54, maggio 1996. Test eseguito a maggio '97.
8. Biolab S.p.A. Vimodrone (MI), Valutazione dell'attività battericida dell'acqua da bere: CEN/TC 216 PrEN 1040, settembre 1996. Test eseguito ad ottobre '98
9. Darbord J.C. , Etude de l'activité bactéricide du produit Amuchina 5 vis à vis de Mycobacterium smegmatis selon la norme AFNOR NF T 72150, novembre '87. Test eseguito a luglio '91.
10. Biolab S.p.A. Vimodrone (MI), Valutazione dell'attività fungicida in presenza di sostanze interferenti: Final Draft PrEN 1650 CEN/TC 216 N104, gennaio 1996. Test eseguito a maggio '98.
11. Biolab S.p.A. Vimodrone (MI), Valutazione dell'attività fungicida. Test di superficie: CEN/TC 216 WG 3N54, maggio 1996. Test eseguito a maggio '98.
12. – 13. Viano I., Università di Torino . Istituto di Farmacologia e Terapia sperimentale. Relazione su test di attività virucida dell'amuchina sui virus epatitici A e B. Test eseguito a dicembre '92.
14. Clementi M., Università di Trieste. Effetto di un disinfettante a base di cloro attivo sul virus epatitico C (HCV) "in vitro": analisi del binding ai recettori della superficie cellulare ed analisi della replicazione virale. "Acta Toxicologica et Therapeutica, XVIII, 25. Test eseguito nel 1997.
15. Barré-Sinoussi. Institut Pasteur, Unité de Biologie des Rétrovirus. Etude de l'inactivation du pouvoir infectieux du VIH-1 par le produit desinfectant Amuchina.HIV: test citopatogenetico e dosaggio RTA. Test eseguito nel '94.
16. Biolab S.p.A., Vimodrone (MI), Valutazione dell'attività sporicida base: CEN/TC 216 HWG 44. Test eseguito a maggio '98.
17. Carabelli A., Studio controllato e randomizzato su una soluzione clorossidante per uso topico in ginecologia. "Acta Toxicologica et Therapeutica", vol.XIV- N°2- Aprile/Giugno '93.

18. Mian E.U., Gianfaldoni R., Mian M., Topical treatment of burn wounds with chloroxidating solution and silver sulfadiazine: a comparative study. *Dermatological Clinic of the University of Pisa. Drugs, Exptl., Clin. Res.*, XVII, (4), 243. 1991.
19. Service de Chirurgie Générale, CHU de Saint-Cloud (F), 1991.
20. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Amuchina Electrolytic Chloroxidizer: acute oral toxicity study in rats, 1990.
21. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Amuchina Electrolytic Chloroxidizer: acute intravenous toxicity study in rats, 1990.
22. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Amuchina Electrolytic Chloroxidizer: acute intraperitoneal toxicity study in rats treated with the test article Amuchina Electrolytic Chloroxidizer, 1991.
23. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Amuchina Electrolytic Chloroxidizer: acute dermal toxicity study in rats, 1990.
24. Clementi F., Fornasari G., Amuchina 4-weeks subchronic dermal study-rabbits. Università di Milano, Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia, Tossicologia Medica "E. Trabucchi", 1987.
25. Billhimer W.L., Primary irritation patch test – Three 24-hours application of Amuchina, Hill Top Research Inc., 1985.
26. Gargus J.L., Amuchina, Guinea Pix Maximization Test, Hazleton Laboratories America Inc., 1986.
27. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Amuchina 10: acute eye irritation study in rabbits, 1991.
28. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Study of the capacity of the test article – Amuchina Electrolytic Chloroxidizer- to induce gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae* D4, 1990.
29. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Study of the capacity of the test article – Amuchina Electrolytic Chloroxidizer- to induce gene mutations in strains of *Salmonella typhimurium*, 1990.
30. Ricerche Biomediche "A. Marxer", Micronucleus induction in bone marrow cells of rats treated by intraperitoneal route with the test article Amuchina Electrolytic Chloroxidizer, 1990.