

Министерство здравоохранения Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА ИМЕНИ
А.А. СМОРОДИНЦЕВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБУ «НИИ ГРИППА ИМ. А.А. СМОРОДИНЦЕВА» МИНЗДРАВА РОССИИ)

УДК 615.218.8



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по научной работе
ФГБУ «НИИ гриппа
им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России
канд. биол. наук
Д.М. Даниленко
«23» 12 2021 г.

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ № НИР-ЛХТ-СА-023/2021-3
ПО ДОГОВОРУ №28102021 от 28.10.2021 года.

«ИССЛЕДОВАНИЕ ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СРЕДСТВА ДЛЯ
СОЗДАНИЯ ЗАЩИТЫ И ГИГИЕНЫ КОЖИ И СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ОТ
ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНФЕКЦИЙ "AVSYSTEMS" IN VITRO В ОТНОШЕНИИ
КОРОНАВИРУСА SARS-COV2»

Руководитель НИР:
Зав. лабораторией
химиотерапии вирусных инфекций
канд. биол. наук

А.А. Штро

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель НИР, заведующий лабораторией химиотерапии вирусных инфекций, кандидат биологических наук


24.12.2021
подпись, дата

А.А. Штро

Ведущий научный сотрудник


24.12.2021
подпись, дата

А.В. Галочкина

Младший научный сотрудник


24.12.2021
подпись, дата

Ю.В. Николаева

РЕФЕРАТ

Отчет 11 с., 1 табл., 1 рис., 2 источ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: КОРОНАВИРУС, ВИРУЛИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ, ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO*, СУСПЕНЗИОННЫЙ МЕТОД, КУЛЬТУРА КЛЕТОК

Объектом исследования является средство для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS".

Целью работы является оценка вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-CoV2.

В задачи исследования входит:

1. Провести тестирование вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-CoV2 суспензионным методом.

В ходе выполнения исследования было установлено, что воздействие средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" приводит к инаktivации выше 96,5% инфекционной активности вируса уже через 60 минут после обработки.

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ	2
РЕФЕРАТ	3
СОДЕРЖАНИЕ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	7
1. Материалы и методы	7
1.1 Исследуемый препарат.....	7
1.2 Тест-системы.....	7
1.3 Определение вирулицидной активности.....	7
1.4 Обработка данных	8
2. Результаты исследования вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-COV2	8
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	10
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	11

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие термины с соответствующими определениями, сокращения и обозначения:

СКРС – сыворотка крупного рогатого скота

ТИД₅₀ – 50 % тканевая инфекционная доза – доза вируса, вызывающая заражение 50 % клеток

ЦПД – цитопатогенное действие

ВВЕДЕНИЕ

Широкое распространение коронавирусной инфекции COVID-19 в настоящее время продолжается, несмотря на усилия мирового сообщества по разработке средств для ее профилактики и лечения. В настоящее время количество заболевших уже превышает 95 миллионов и эта цифра постоянно растет [1].

В сложившихся условиях повышается значимость средств, предотвращающих дальнейшее распространение инфекции. Целью настоящего исследования является оценка вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-CoV2.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести тестирование вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-CoV2 суспензионным методом.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Материалы и методы

1.1 Исследуемый препарат

1.1.1. Исследуемое средство – средство для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS"

1.2.1. Нейтрализатор (СКРС 80%, инактивированная при 56 °С в течение 30 мин).

Условия хранения: Тестируемые образцы хранились в холодильнике при температуре +2°С – +8°С.

1.2 Тест-системы

1.2.1. Культура клеток Vero

Культура клеток Vero, почка зеленой мартышки. Получена из коллекции клеточных культур лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева».

1.2.2 Вирусы

В работе был использован клинический изолят №35245, полученный из материала больного новой коронавирусной инфекцией методом выделения в культуре клеток Vero, на третьем пассаже. Образец вируса предоставлен вирусологическим лабораторным комплексом ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины».

Работы с вирусом SARS-CoV2 проводились в боксе биологической безопасности 3 класса защиты в условиях BSL-3 на территории вирусологического лабораторного комплекса ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины».

1.3 Определение вирулицидной активности

1.3.1. Определение вирулицидной активности в отношении коронавируса суспензионным методом.

К культуральной жидкости, содержащей $10^{5.5}$ IgТИД₅₀ вируса SARS-COV2 (рода Betacoronavirus), добавляли средство для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов препарата). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и культуральной среды в соотношении 1:9.

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.

Из образцов вируса готовили серию 10-кратных разведений (10^{-1} – 10^{-7}) на среде альфа-МЕМ, и 20 мкг/мл ципрофлоксацина (противомикробное средство широкого

спектра действия группы фторхинолонов) и вносили их в лунки с клеточной культурой. Планшеты инкубировали в течение 8-10 суток при 37°C в атмосфере 5 % CO₂.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [2] и выражали в 50 % тканевых инфекционных дозах (ТИД₅₀) на 100 мкл объёма.

1.4 Обработка данных

Анализ данных проводили с использованием программного пакета Microsoft Office Excel. Для графического представления данных титрования полученные результаты логарифмировали и представляли в виде диаграммы, отражающей среднее арифметическое значений титров для каждой временной точки и стандартное отклонение.

2. Результаты исследования вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-COV2

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса через 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 1, а также на рисунке 1.

Таблица 1 – Результаты исследования вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-COV2 суспензионным методом

Время воздействия препарата, минут	Среднее значение титра, lgТИД ₅₀	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	3,0±0,5	-	-
15	2,5±0,5	0,5	68,38
30	2,33±0,29	0,67	78,62
60	1,5±0,87	1,5	96,84
Исходный вирус	4,67±0,76	-	-



Рисунок 1 – Результаты исследования вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-CoV2 суспензионным методом

Из данных, представленных в таблице, следует, что средство вызывало снижение инфекционной активности вируса, достигающее через 60 минут воздействия 1,5 lg ТИД₅₀ (96,84%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении коронавируса SARS-COV2 суспензионным методом

В ходе выполнения исследования было установлено, что воздействие средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" приводит к инактивации выше 96,5% инфекционной активности вируса уже через 60 минут после обработки.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Coronavirus-info / Последняя информация о коронавирусе [Электронный ресурс] - URL: <https://coronavirus-info.ru/> (дата обращения – 13.05.2020 г.)
2. A simple method of estimating fifty percent endpoints // L.J. Reed, H. Muench / American Journal of Epidemiology. – 1938. – V.27. – P. 493-497.

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено
печатью _____ листа(ов)

Заместитель директора по научной работе
ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России



Д.М. Даниленко

