

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
«27» 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 ВИРУСА
ГЕРПЕСА»

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

Научный сотрудник


_____ 24.12.2021
подпись, дата

А.В. Гаршина

Научный сотрудник


_____ 24.12.2021
подпись, дата

Г.Д. Петухова

Младший научный сотрудник


_____ 24.12.2021
подпись, дата

Ю.В. Николаева

РЕФЕРАТ

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ВИРУС ГЕРПЕСА, 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 вируса герпеса.

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 вируса герпеса 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 существенной (более 99,99%) инактивации инфекционной активности вируса герпеса через 60 минут воздействия.

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 вируса герпеса	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

Несмотря на широкое распространение коронавирусной инфекции COVID-19 в настоящее время, другие вирусные инфекции по-прежнему сохраняют свою актуальность. В частности, острой социально-медицинской проблемой является герпес-вирусная инфекция, которая служит причиной серьезных заболеваний широких слоев населения различных стран мира.

Таким образом, необходимо разрабатывать средства для терапии и профилактики в том числе и герпетической инфекции. Целью настоящего исследования является оценка вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении вируса герпеса.

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 вируса герпеса 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"

1.1.2. 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. Культуры клеток

Культура клеток Vero, почечный эпителий зеленой мартышки. Получена из коллекции клеточных культур ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева». В ходе проведения исследования пассажный уровень после разморозки не превышал 20 пассажей.

1.2.2. Вирусы

В работе был использован вирус герпеса человека 1 типа, штамм ЕС, получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Был накоплен на культуре клеток Vero и расфасован по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока и одновременно заморожены при -80°С.

1.3 Определение вирулицидной активности

1.3.1. Определение вирулицидной активности в отношении вируса герпеса человека 1 типа суспензионным методом.

К культуральной жидкости, содержащей $10^{4,5}$ IgТИД₅₀ вируса герпеса, 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°С в атмосфере 5 % CO₂.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [1] 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 вируса герпеса

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 вируса герпеса 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	5,00±0,5	-	-
15	3,00±0,5	2,00	99,00
30	2,83±0,29	2,17	99,32
60	0,83±1,44	4,17	99,993
Исходный вирус	7,17±0,58	-	-

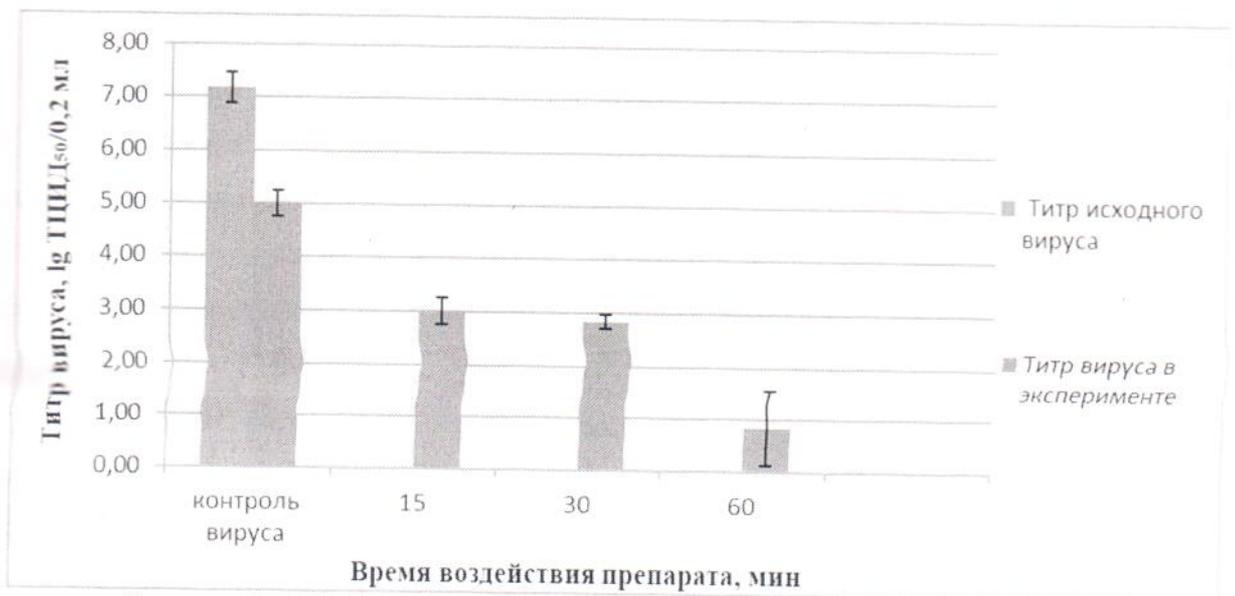


Рисунок 1 – Результаты исследования вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении вируса герпеса суспензионным методом

Из данных, представленных в таблице, следует, что средство вызывало существенное снижение титра вируса, достигающее 4,17 lg ТИД₅₀ (соответствует снижению инфекционной активности вируса на 99,993 %) через 60 минут воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении вируса герпеса суспензионным методом

При исследовании вирулицидной активности препарата суспензионным методом наблюдалось снижение инфекционной активности вируса на 4 lg ТИД₅₀ через 60 минут обработки.

Поскольку, согласно методическим указаниям по оценке вирулицидной активности дезинфицирующих средств необходимо снижение титра вируса не менее 4 lg ТИД₅₀ [2], то представляется возможным утверждать, что вирулицидная активность исследуемого средства может считаться достаточной.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. A simple method of estimating fifty percent endpoints // L.J. Reed, H. Muench / American Journal of Epidemiology. – 1938. – V.27. – P. 493-497.
2. Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств: Методические указания—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010 – 39 с.

Пронумеровано, пронумеровано и скреплено
печатью-_____листа(ов)

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


_____ Д.М. Даниленко

