

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

2021 г.



ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ № НИР-ЛХТ-СА-023/2021-1
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
ГРИППА»

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

27.12.2021

А.А. Штроба

подпись, дата

Научный сотрудник

27.12.2021

А.В. Гаршинина

подпись, дата

Научный сотрудник

27.12.2021

Г.Д. Петухова

подпись, дата

Младший научный сотрудник

27.12.2021

Ю.В. Николаева

подпись, дата

РЕФЕРАТ

Отчет 11 с., 1 табл., 1 рис., 3 источ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ВИРУС ГРИППА, 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 гриппа А.

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 гриппа А супензионным 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 (99,999%) инактивации инфекционной активности вируса гриппа А.

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 гриппа	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:

ДС – дезинфицирующее средство

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 респираторные инфекции по-прежнему сохраняют свою актуальность. Так, по прогнозам ВОЗ, в отсутствие сезонных эпидемий гриппа в 2020-21 годах, иммунитет населения к этому заболеванию существенно ослаб, что возможно приведет в ближайшем будущем в новой вспышке [1].

Таким образом, необходимо разрабатывать средства для терапии и профилактики в том числе и гриппозной 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 гриппа.

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 гриппа А супензионным методом

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Материалы и методы

1.1 Исследуемый препарат

1.1.1. Исследуемое средство, кожный антисептик - средство для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS"

1.1.2. Нейтрализатор (Сыворотка крупного рогатого скота 80%, инактивированная при 56 °C в течение 30 мин).

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

1.2 Тест-системы

1.2.1. Культуры клеток

Культура клеток MDCK (Madin-Darby canine kidney), почечный эпителий спаниеля. Получена из коллекции клеточных культур лаборатории 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 гриппа А, штамм A/PR/8/34 (H1N1), получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Был размножен в аллантоисной полости 10-дневных развивающихся куриных эмбрионов, после чего аллантоисная жидкость из эмбрионов была собрана, осветлена при помощи центрифugирования и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока аллантоисной жидкости и одномоментно заморожены при -80°C.

1.3 Определение вирулицидной активности

1.3.1. Определение вирулицидной активности в отношении вируса гриппа супензионным методом.

К культуральной жидкости, содержащей $10^{7.5}$ IgТИД₅₀ вируса гриппа, 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 2 мкг/мл трипсина и вносили их в лунки с клеточной культурой Планшеты инкубировали в течение 72 часов 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 объема.

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 гриппа

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 гриппа суспензионным методом

Время воздействия препарата, минут	Среднее значение титра, lg ТИД ₅₀	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	6,50±0,87	-	-
15	1,50±0,0	5	99,999
30	1,50±0,0	5	99,999
60	1,50±0,0	5	99,999
Исходный вирус	7,33±0,29	-	-

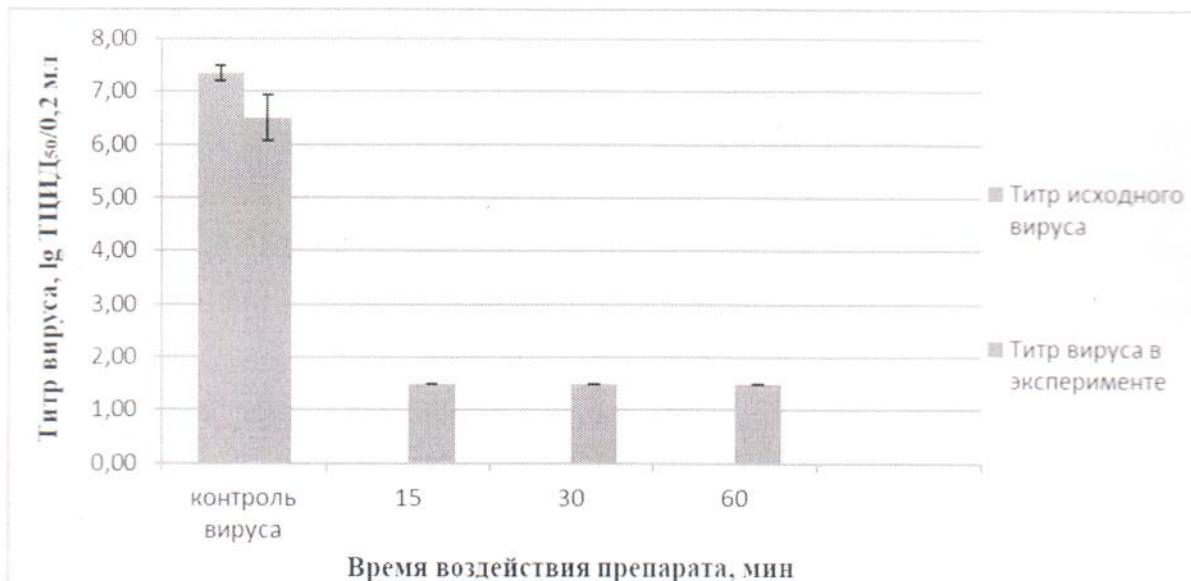


Рисунок 1 – Результаты исследования вирулицидной активности средства для создания защиты и гигиены кожи и слизистых оболочек от воздействия инфекций "AVSYSTEMS" в отношении вируса гриппа суспензионным методом

Из данных, представленных в таблице, следует, что препарат вызывал существенное снижение титра вируса, достигающее $5 \lg \text{ТИД}_{50}$ (соответствует снижению инфекционной активности вируса на 99,999 %) уже через 15 минут воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

При исследовании вирулицидной активности препарата супензионным методом наблюдалось достаточное (более $4 \lg \text{ТИД}_{50}$) снижение титра вируса уже через 15 минут обработки.

Поскольку, согласно методическим указаниям по оценке вирулицидной активности дезинфицирующих средств [3], вирулицидное ДС (субстанция) должно подавлять инфекционность не менее, чем на $4 \log_{10} \text{ТЦИД}_{50}$ (т. е. степень инактивации должна быть не менее 99,99 %), то представляется возможным утверждать, что вирулицидная активность исследуемого средства может считаться достаточной.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. World Health Organization [Электронный ресурс] - URL:
[https://www.who.int/ru/emergencies/diseases-outbreak-news/item/influenza-a\(h1n2\)-variant-virus-brazil](https://www.who.int/ru/emergencies/diseases-outbreak-news/item/influenza-a(h1n2)-variant-virus-brazil) (дата обращения - 20.08.2021 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.
3. Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств: Методические указания—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010 – 39 с.

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено
печатью-листом
заместитель директора по научной работе
ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России

Д.М.Даниленко

