

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР»  
(ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» РОСПОТРЕБНАДЗОРА)

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор  
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»  
Роспотребнадзора

Р.А. Максютов  
«16» 05 2022 г.



**ОТЧЕТ  
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ**  
по договору от 14.03.2022 г. № 1/3-22  
**«ИЗУЧЕНИЕ ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СПРЕЯ  
«AVSYSTEMS»**

Руководитель договора, зав. отделом  
биобезопасности, канд. мед. наук

В.В.Золин

Заместитель генерального директора  
по научной работе, д-р биол. наук

А.П. Агафонов

Кольцово 2022

## СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы,  
заведующий отделом  
биобезопасности

В. В. Золин  
(весь отчет)

Ответственные  
исполнители:  
зав. лабораторией отдела  
биобезопасности

О. П. Оськина  
(весь отчет)

научный сотрудник отдела  
биобезопасности

В.В. Солодкий  
(основная часть)

специалист отдела  
биобезопасности

М.Н. Еремина  
(основная часть)

специалист отдела  
биобезопасности

Г.Ф. Давыдов  
(основная часть)

ст. лаборант-исследователь  
отдела биобезопасности

Т.А. Гостева  
(основная часть)

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ТЦД <sub>50</sub> (TCID <sub>50</sub> )	- тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50% клеток монослоя
COVID - 19	- острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2
ТЗ	- техническое задание на выполнение научно-исследовательской работы
ФБУН ГНЦ ВБ	- Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии
KPC	- сыворотка крупного рогатого скота

## РЕФЕРАТ

Отчет с. 15, табл. 5.

Работа выполнена по договору от 14.03.2022 г № 1/3-22 «Изучение вирулицидной активности спрея AVSYSTEMS»

Цель работы – проведение исследований по изучению вирулицидной активности средства - спрей для полости рта и кожи марки «AVSYSTEMS» (далее «Спрей») в отношении коронавируса SARS-CoV-2.

В соответствии с техническим заданием к договору, выполнен следующий объем работ:

1. Наработка и поддержание культуры клеток Vero E6 для проведения вирусологических исследований в необходимом объеме. В работе использовали культуру клеток Vero E6 полученную из Коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

2. Проведена оценка токсичности «Спрея» для культуры клеток Vero E6 в диапазоне 2 кратных разведений при концентрации «Спрея» 100%; 50%; 25%; 12,5%, при экспозиции 60 минут. Проведен подбор нейтрализатора токсичности средства.

3. Наработка необходимого количества культуральной жидкости, содержащей коронавирус SARS-CoV-2 с необходимым титром. В работе были использованы два штамма коронавируса SARS-CoV-2: Ухань подобный hCoV-19/Russia/Omsk-202118-1707/2020 и штамм hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (Омикрон, B.1.1.529), полученные из Государственной коллекции возбудителей инфекционных болезней, риккетсиозов, функционирующей на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Вирусы наработаны с соответствующими титрами  $6,5 \pm 0,3 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$  (Омск) и  $4,5 \pm 0,3 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$  (Омикрон).

4. Проведены исследования вирулицидной активности «Спрея» в отношении указанных штаммов коронавируса SARS-CoV-2, в диапазоне концентраций средства от 95% до 50%, при экспозиции 60 минут. Исследования проводились при двух температурных режимах  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  и  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ , тремя процедурами тестирования, представленными в техническом задании. Все процедуры тестирования проведены в четырех повторах. В качестве «плацебо» использовали 1% раствор тиосульфата натрия.

В результате проведенных исследований и тестирований установлено:

спрей «AVSYSTEMS» токсичен для клеток Vero E6 в концентрациях выше 25%, при времени контакта с клеточной культурой 60 минут. В результате экспериментальных исследований выбран оптимальный двухкомпонентный нейтрализатор следующего состава: 1% пищевая сода + 5% тиосульфат натрия (1:1).

Тестирование по процедуре №1 заключающееся в предварительной инкубации в течение 60 минут клеток Vero E6 с проптерилизованным фильтрацией через мембранны с диаметром пор 0,22 мкм «Спреем» перед инфицированием коронавирусом, показало, что инфекционная активность вируса SARS-CoV-2 независимо от штамма при концентрациях «Спрея» 100% и 90%, достоверно снижалась на 1,5 lg TCID<sub>50</sub> и 1,25 lg TCID<sub>50</sub> соответственно, по сравнению с плацебо. Дополнительные исследования показали, что разный температурный режим, при котором проводились исследования ( $24\pm2^0\text{C}$  и  $37\pm2^0\text{C}$ ), не оказывал достоверного влияния на полученные результаты.

Более низкие концентрации «Спрея» не приводили к снижению инфекционной активности ни у одного из взятых в исследование штаммов коронавируса.

Тестирование «Спрея» проведенное по процедуре №2, заключающееся в предварительной одновременной инкубации клеточного монослоя с исследуемым веществом и вирусом одновременно, показало, что инфекционная активность у взятых в исследование штаммов вируса SARS-CoV-2 в смеси со «Спреем» (концентрации 100% и 90%) в соотношении 1:9 и экспозицией на клеточном монослое в течение часа, достоверно снижается на 2,0 lg TCID<sub>50</sub> (99,0%) и 1,75 lg TCID<sub>50</sub> (98,2%) соответственно. Исследования проводились при двух температурных режимах  $24\pm2^0\text{C}$  и  $37\pm2^0\text{C}$ . Продолжительность времени репликации вируса от 24 до 96 часов и разный температурный режим не оказывали достоверного влияния на результаты эксперимента.

При концентрациях «Спрея» 70% и 50 % инфекционная активность у исследованных по процедуре №2 штаммов вируса SARS-CoV-2 достоверно снижалась на 1,25 lg TCID<sub>50</sub> и 0,75 lg TCID<sub>50</sub> соответственно.

Тестирование «Спрея», проведенное по процедуре №3, заключающееся в инфицировании клеточного монослоя соответствующим титром вируса (в отсутствие тестируемого вещества), инкубации в течение 18-20 часов для адсорбции, последующем удалении вирусного инокулята и добавлении к клеточному монослою питательной среды, содержащей тестируемое вещество показало, что инфекционная активность вируса SARS-CoV-2 при концентрациях «Спрея» 100%, 90%, 70%, 50%, взятых в эксперимент, достоверно не снижалась ни у одного из взятых в исследование штаммов вируса.

## 5. Подготовлен отчет о проделанной работе.

Запланированные работы выполнены в срок и в полном объеме.

## ВВЕДЕНИЕ

В связи с продолжающейся пандемией коронавирусной инфекции COVID-19, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, продолжается поиск как лекарственных, так и дезинфицирующих средств, способных ограничить распространение респираторных вирусов в человеческой популяции. Слизистая носовой и ротовой полости является входными воротами для всех респираторных вирусов и для коронавируса в частности, поэтому Минздравом России рекомендуется использовать средства для местного применения обладающие антисептическими, барьерными и противовирусными свойствами. Такие лекарственные средства формируют антивирусный барьер на слизистой оболочке и препятствуют как развитию заболевания, так и распространению вируса заболевшими. К подобным средствам, в частности, относятся мази, гели, спреи, которые служат для защиты от респираторных вирусов в течение всего дня.

Как известно, больной человек при кашле и чихании, а также в меньшей мере при обычном разговоре и дыхании, выделяет капли аэрозоля. Внутри одной капли аэрозоля могут находиться тысячи частиц коронавируса. Если капли аэрозоля попадают на предметы, то человек может перенести коронавирус на руки, прикоснувшись к этим предметам, а затем инфицироваться, рефлекторно коснувшись рта, носа или глаз. Инфицирование можно предотвратить за счет инактивации коронавируса с помощью регулярного профилактического нанесения спрея с активными в отношении коронавируса компонентами на кожу лица и ладоней, а также на слизистые оболочки полости рта.

Целью данной работы являлось исследование вирулицидного действия нового средства - спрея для гигиены полости рта и кожи марки «AVSYSTEMS» в отношении коронавируса SARS-CoV-2.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Результаты экспериментов по изучению токсичности и вирулицидной активности средства «Спрей AVSYSTEMS».

#### Токсичность

Определение токсичности и подбор нейтрализатора токсичности средства - спрея для полости рта и кожи марки «AVSYSTEMS», для гетероплоидных перевиваемых клеток Vero E6 проводили в диапазоне двукратных разведений (100%, 50%, 25%, 12,5%), при экспозиции 60 минут, смене среды и дальнейшем культивировании 24 - 48 часов. Результаты, полученные в трех повторах, представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Цитотоксичность «Спрея AVSYSTEMS» для клеток Vero E6 в диапазоне двукратных разведений (100%; 50%; 25%; 12,5%), при экспозиции 60 минут.

Время экспозиции, нейтрализатор	Концентрация «Спрея AVSYSTEMS»			
	100%	50%	25%	12,5%
Токсичность «Спрея» 24 час	++++	00++	0000	0000
Токсичность «Спрея» 48 час	++++	00++	0000	0000
Нейтрализатор: 1% тиосульфат натрия 48 час	000+	0000	0000	0000
Нейтрализатор: 1% пищевая сода 48 час	000+	0000	0000	0000
Нейтрализатор: 1% пищевая сода + 5% тиосульфат натрия 48 час	0000	0000	0000	0000
Нейтрализатор: сывороткой КРС 48 час	++++	000+	0000	0000
Контроль клеток	0000	0000	0000	0000

Вывод: «Спрей AVSYSTEMS» токсичен для клеток Vero E6 в концентрациях выше 25%, при временных интервалах более 60 минут. Полученные результаты показали, что для проведения вирусологических исследований необходим подбор нейтрализатора.

Подбор нейтрализатора токсичности «Спрея AVSYSTEMS» для клеток Vero E6, был проведен в соответствии с требованиями руководства Р 4.2.3676-20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности». В проведенных нами исследованиях лучшим нейтрализатором проявила себя смесь растворов: 5% тиосульфата натрия и 1% пищевой соды. Проверку работоспособности выбранного нейтрализатора проводили в модельном вирусологическом эксперименте, полностью воспроизводящем всю последовательность выполнения методики титрования вируса на культуре клеток.

### **Определение вирулицидной активности «Спрея AVSYSTEMS».**

Вирусологические исследования для определения вирулицидной активности «Спрея AVSYSTEMS» в отношении коронавируса SARS-CoV-2 выполнены в соответствии с техническим заданием тремя процедурами тестирования: Процедура тестирования №1. «Профилактику» развития вирусной инфекции коронавируса в клеточной культуре Vero E6 проводили с помощью предварительного нанесения, профильтрованного через мембранны с диаметром пор 0,22 мкм «Спрея» на культуру клеток и инкубации 60 минут перед инфицированием вирусом. Затем, культуру клеток заражали вирусом, проводили его адсорбцию, и инкубировали при температуре  $37\pm2^{\circ}\text{C}$ , до 5 суток. Аналогично проводили процедуру с плацебо (1% раствор тиосульфата натрия). Снижение титра рассчитывали в сравнении с плацебо. Тестирование №2. Проверку вирулицидной активности «спрея AVSYSTEMS» проводили, предварительно инкубируя клеточный монослои с исследуемым веществом и вирусом одновременно. При этом, взятые в исследование два штамма коронавируса SARS-CoV-2 с разными титрами смешивали с профильтрованным «Спреем» и нейтрализатором. Тестирование №3. «Лечение» клеточной культуры Vero E6 проводили через 20 часов после инфицирования ее вирусом с помощью разных концентраций «Спрея».

Все процедуры тестирования проведены в четырёх повторах.

### **Материалы и методы.**

**Объект исследования.** Спрей для полости рта и кожи марки «AVSYSTEMS» подвергнутый перед использованием стерильной фильтрации через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм.

**Вирус.** Испытание проводили с использованием двух штаммов коронавируса SARS-CoV-2, штамм hCoV-19/Russia/Omsk-202118-1707/2020 (Ухань подобный), исходный титр  $6,25\pm0,3$  lg TCID50/cm<sup>3</sup> и штамм hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (Омикрон, B.1.1.529) исходный титр  $4,5\pm0,3$  lg TCID50/cm<sup>3</sup>, полученных из Государственной коллекции

микроорганизмов ФБУН ГНИЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. В зависимости от эксперимента использовали вирус либо с высоким титром, либо разводили до одинаковых рабочих концентраций.

**Культура клеток:** в работе использовали культуру клеток Vero E6 (гетероплоидные перевиваемые клетки почек зеленой африканской мартышки African green monkey kidney), полученную из Коллекции культур клеток ФБУН ГНИЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора. Культуру клеток выращивали в 96-луночных культуральных планшетах 48 часов, при температуре  $37\pm2^{\circ}\text{C}$  в условиях 5% содержания  $\text{CO}_2$  до монослоя с конфлюентностью 100%.

**Нейтрализатор:** 5% раствор тиосульфата + 1% раствор пищевой соды.

**Отрицательным контрольным образцом (К-)** служили лунки планшета со средой Игла МЕМ (Биолот) с добавлением эмбриональной сыворотки КРС («Gibco») до 2 % и антибиотиков 100 ЕД/мл (Gibco) без вирусной суспензии.

**Положительный контрольный образец (К+):** Вирусная суспензия коронавируса SARS-CoV-2.

**Контролями токсичности** «Спрей AVSYSTEMS» для клеток Vero E6, служили лунки планшета в десятичных разведениях 0; -1; -2, без нейтрализатора и вируса.

**Контролями нейтрализации токсичности** «Спрей AVSYSTEMS» для клеток Vero E6, служили лунки планшета с экспозицией препарата в указанных выше концентрациях, с нейтрализатором, но без вируса.

**Контроль отсутствия вируса** в первых разведениях «Спрей AVSYSTEMS» проводили методом трех слепых пассажей на культуральных флаконах (Т-3) с последующим пересевом и титрованием наработанного материала.

### **Методика определения титра вируса**

1-й этап. Подготовка разведений.

Вирулицидную активность «Спрей AVSYSTEMS» проверяли тремя процедурами тестирования, описанными выше. «Спрей AVSYSTEMS» в установленных концентрациях и условиях экспериментов, указанных в ТЗ, воздействовал на вирусные суспензии двух штаммов SARS-CoV-2 с заданными титрами. После экспозиции в течение 60 минут, реакцию останавливали внесением нейтрализатора. Полученную смесь титровали путем 5 последовательных 10-кратных разведений в среде Игла МЕМ с а/б.

2-й этап (инфицирование культуры клеток). На монослой культуры клеток 96 луночных культуральных планшетов наносили разведения исследуемого вещества с вирусом подготовленные на 1-м этапе в объеме 0,1 мл в 8 повторах. Культуральные планшеты оставляли при  $24\pm2^{\circ}\text{C}$  или  $37\pm2^{\circ}\text{C}$  на 60 минут экспозиции, после чего лунки

планшетов отмывали культуральной средой и, затем, заливали в лунки по 0,2 мл поддерживающей среды. Культуральные планшеты выдерживали при  $37\pm2^\circ\text{C}$  в условиях 5% содержания  $\text{CO}_2$  до 5 суток.

Регистрация результатов. Через 24, 48 часов и на 5 сутки, после инфицирования, в каждую лунку культурального планшета вносили краситель – раствор генциана фиолетового в объеме 0,1 мл, предварительно удалив поддерживающую среду, через 24 часа планшет промывали и с помощью инвертированного микроскопа проводили учет ТЦД<sub>50</sub> (TCID<sub>50</sub>). Титр вируса рассчитывали по методу Кербера. Результаты изучения вирулицидной активности «Спрей AVSYSTEMS» приведены в таблицах 2, 3, 4, 5.

**Таблица 2.** Величина остаточной инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 (Ухань подобный штамм), после применения средства «Спрей AVSYSTEMS» в разведениях (100%, 90%, 70%, 50%) тремя различными вариантами

Процедуры тестирования препарата «Спрей», контроли	Титр остаточной инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 по ТЦД <sub>50</sub> (TCID <sub>50</sub> ) /см <sup>3</sup> , после экспозиции с разведениями препарата «Спрей»				
	100%	90%	70%	50%	плацебо
1 процедура	5,0±0,25	5,25±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25
2 процедура	4,5±0,25	4,75±0,25	5,25±0,25	5,75±0,25	6,5±0,25
3 процедура	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25
Контроль вируса	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25	6,5±0,25
Контроль нейтрализатора	0	0	0	0	0
Контроль клеток	0	0	0	0	0

**Таблица 3.** Определение остаточной инфекционной активности различных штаммов коронавируса SARS-CoV-2 (штаммы Ухань подобный и Омикрон, титры одинаковые), после предварительной экспозиции культуры клеток Vero E6 с препаратом «Спрей» в разведениях 100%, 90%, 70% 50% в течение 60 минут и последующем инфицировании вирусом

Штаммы вируса и контроли	Титр остаточной инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 по ТЦД <sub>50</sub> (TCID <sub>50</sub> ) /см <sup>3</sup> , после предварительной экспозиции клеток Vero E6 с разведениями препарата «Спрей».				
	100%	90%	70%	50%	плацебо
1. Ухань подобный штамм	3,0±0,25	3,25±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
2. Штамм Омикрон	3,0±0,25	3,25±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль вируса, Ухань подобный штамм	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль вируса, штамм Омикрон	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль нейтрализатора	0	0	0	0	0
Контроль клеток	0	0	0	0	0

Как свидетельствуют данные, представленные в таблицах 2 и 3, профилактика развития коронавирусной инфекции (процедура №1) в клеточной культуре Vero E6 с помощью предварительного нанесения разных концентраций «Спрея AVSYSTEMS» на культуру клеток и инкубации в течение 60 минут перед инфицированием вирусом показала частичное снижение инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 при применении высоких концентраций препарата. Так, при 100% концентрации «Спрея», падение инфекционной активности коронавируса составило 1,5 lg TCID<sub>50</sub>, а при 90% концентрации исследуемого вещества 1,25 lg TCID<sub>50</sub>, независимо от штамма вируса и его титра.

**Таблица 4.** Определение остаточной инфекционной активности коронавируса SARS-CoV-2 (штамм Омикрон) после одновременной инкубации в течение часа вируса со средством «Спрей AVSYSTEMS» в разведениях (100%, 90%, 70%, 50%) на культуре клеток

Время экспозиции с препаратом «Спрей», температурный режим	Титр остаточной инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 по ТЦД <sub>50</sub> (TCID <sub>50</sub> ) /см <sup>3</sup> , после экспозиции с разведениями препарата «Спрей»				
	100%	90%	70%	50%	плацебо
1 час, 24±2°C	2,5±0,25	2,75±0,25	3,25±0,25	3,75±0,25	4,5±0,25
1 час, 37±2°C	2,5±0,25	2,75±0,25	3,25±0,25	3,75±0,25	4,5±0,25
Контроль вируса	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль нейтрализатора	0	0	0	0	0
Контроль клеток	0	0	0	0	0

Из представленных в таблицах 2 и 4 данных, можно сделать вывод, о том, что, в результате проверки вирулицидной активности «Спрея» (концентрации 100%, 90%, 70%, 50%) по процедуре №2 выявлено снижение инфекционной активности взятых в исследование штаммов вируса SARS-CoV-2 на 2,0 lg TCID<sub>50</sub> (99,0%) при 100% концентрации «Спрея» и на 1,75 lg TCID<sub>50</sub> (98,2%) при 90% концентрации «Спрея». При концентрациях «Спрея» равных 70% и 50 % инфекционная активность исследованных штаммов вируса SARS – CoV – 2 достоверно снижалась на 1,25 lg TCID<sub>50</sub> и 0,75 lg TCID<sub>50</sub> соответственно. При этом температура, при которой проводился эксперимент, не оказывала влияния на итоговый результат.

**Таблица 5.** Определение остаточной инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 после инфицирования культуры клеток Vero E6 различными штаммами вируса SARS-CoV-2, экспозиции в течение 20 часов и последующего применения препарата «Спрей AVSYSTEMS»

Штаммы вируса, контроли	Титр остаточной инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 по ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>				
	100%	90%	70%	50%	плацебо
1.Ухань подобный штамм	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
2.Штамм Омикрон	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль вируса, Ухань подобный штамм	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль вируса, штамм Омикрон	4,5±0,25	4,5±0,25	4,5 ±0,25	4,5±0,25	4,5±0,25
Контроль нейтрализатора	0	0	0	0	0

Приведенные в таблице 5 данные свидетельствуют о том, что инфекционная активность штаммов вируса SARS-CoV-2, взятых в исследование по процедуре №3, после инфицирования ими культуры клеток Vero E6 и нанесения через 20 часов экспозиции различных концентраций «Спрея» на культуру, достоверно не снижалась.

**Выводы:** В результате проведенных исследований установлено:

«Спрей AVSYSTEMS» токсичен для клеток Vero E6 в концентрациях выше 25%, при времени контакта с клеточной культурой 60 минут. В качестве оптимального нейтрализатора для проведения вирусологических исследований выбран двухкомпонентный нейтрализатор следующего состава: 1% пищевая сода + 5% тиосульфат натрия (1:1).

Тестирование по процедуре №1 заключающееся в предварительной инкубации в течение 60 минут клеток Vero E6 с простирилизованным фильтрацией через мембранны с диаметром пор 0,22 мкм «Спреем» перед инфицированием коронавирусом, показало, что инфекционная активность вируса SARS-CoV-2 независимо от штамма при концентрациях «Спрея» 100% и 90%, достоверно снижалась на 1,5 lg TCID<sub>50</sub> и 1,25 lg TCID<sub>50</sub> соответственно, по сравнению с плацебо. Дополнительные исследования показали, что

разный температурный режим, при котором проводились исследования ( $24\pm2^{\circ}\text{C}$  и  $37\pm2^{\circ}\text{C}$ ), не оказывал достоверного влияния на полученные результаты.

Более низкие концентрации «Спрея» не приводили к снижению остаточной инфекционной активности ни у одного из взятых в исследование штаммов коронавируса.

Тестирование «Спрея» проведенное по процедуре №2, заключающееся в предварительной одновременной инкубации клеточного монослоя с исследуемым веществом и вирусом одновременно, показало, что инфекционная активность взятых в исследование штаммов вируса SARS-CoV-2 в смеси со «Спреем» (концентрации 100% и 90%) в соотношении 1:9 и экспозицией на клеточном монослое в течение часа, достоверно снижается на  $2,0 \text{ lg TCID}_{50}$  (99,0%) и  $1,75 \text{ lg}$  (98,2%) соответственно. Исследования проводились при двух температурных режимах  $24\pm2^{\circ}\text{C}$  и  $37\pm2^{\circ}\text{C}$ . Продолжительность времени репликации вируса от 24 до 96 часов и разный температурный режим не оказывали достоверного влияния на результаты эксперимента.

При концентрациях «Спрея» равных 70% и 50 % инфекционная активность у исследованных по процедуре №2 штаммов вируса SARS-CoV-2 достоверно снижалась на  $1,25 \text{ lg TCID}_{50}$  и  $0,75 \text{ lg TCID}_{50}$  соответственно.

Тестирование «Спрея», проведенное по процедуре №3, заключающееся в инфицировании клеточного монослоя соответствующим титром вируса (в отсутствие тестируемого вещества), инкубации в течение 18-20 часов для адсорбции, последующем удалении вирусного инокулята и добавлении к клеточному монослою питательной среды, содержащей тестируемое вещество показало, что инфекционная активность вируса SARS-CoV-2 при концентрациях «Спрея» 100%, 90%, 70%, 50%, взятых в эксперимент, достоверно не снижалась ни у одного из взятых в исследование штаммов вируса.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В ходе выполнения научных исследований изучена токсичность спрея «AVSYSTEMS» для культуры клеток Vero E6, а также проведена оценка вирулицидной активности препарата в отношении двух штаммов коронавируса SARS-CoV-2 в условиях заданных техническим заданием процедур.

В результате исследования было показано, что наиболее высокую вирулицидную активность спрей для гигиены полости рта и кожи марки «AVSYSTEMS» продемонстрировал в исследовании по процедуре № 2, в котором при 100% концентрации препарата падение инфекционной активности у каждого из двух взятых в исследование штаммов вируса SARS-CoV-2 составило 2,0 lg TCID<sub>50</sub> (99,0%).

Исходя из представленных в отчете материалов, необходимо заключить, что все запланированные работы по договору от 14.03.2022г. № 1/3-22 «Изучение вирулицидной активности спрея «AVSYSTEMS» выполнены в полном объеме и в надлежащие сроки.