

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
«16» _____ 2021 г.



ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ № НИР-ЛХТ-СА-016/2021
ПО ДОГОВОРУ №05072021 от 05.07.2021 года.

ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ДЫМОВОЙ ШАШКИ «ТАМБЕЙ»
В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ГРИППА H5N3

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

 16.08.21

подпись, дата

А.А. Штро
(все разделы)

Научный сотрудник

 16.08.21

подпись, дата

А.В. Гаршина

РЕФЕРАТ

Отчет 11 с., 1 табл., 1 рис., 4 источника.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ВИРУС ГРИППА, ВИРУЛИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ, ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO*, ДЫМОВАЯ ШАШКА

Объектом исследования является лекарственный препарат для животных «Шашка термовозгонная «Тамбей».

Целью работы является оценка вирулицидной эффективности исследуемого вещества (дымовая шашка) в отношении вируса гриппа А на кафельной тест-поверхности.

В задачи исследования входит:

1. Провести заборы проб вируса на кафельной тест-поверхности в условиях использования шашки и без нее.
2. Определить вирусную нагрузку в каждой пробе при помощи титрования на культуре клеток.

В работе использовали следующие методы: реакция гемагглютинации, титрование вируса.

В ходе выполнения исследования было установлено, что в условиях обработки исследуемым веществом наблюдается снижение титра вируса через 120 минут на 2,83 lgТИД₅₀.

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ.....	2
РЕФЕРАТ.....	3
СОДЕРЖАНИЕ.....	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	7
1. Материалы и методы, используемые при изучении специфической вирулицидной эффективности лекарственного препарата для животных «Шашка термовозгонная «Тамбей» в отношении вируса гриппа птиц.....	7
1.1. Исследуемый препарат.....	7
1.2. Тест-система.....	7
1.3. Дизайн эксперимента.....	7
1.4. Обработка данных.....	8
2. Результаты исследования вирулицидной эффективности дымовой шашки «Тамбей».....	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:

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

НИР – научно-исследовательская работа

РГА – реакция гемагглютинации

ВВЕДЕНИЕ

Грипп является высококонтагиозным респираторным заболеванием, захватывающим большую часть человеческой популяции ежегодно [1]. В историческом прошлом он вызывал несколько глобальных пандемий, в том числе «испанку» 1918 года, ставшую причиной смерти более 50 миллионов людей [2].

Особенную опасность представляют вирусы гриппа птичьего происхождения. Несмотря на более низкую по сравнению с постоянно циркулирующими в популяции антигенными вариантами контагиозность, эти вирусы вызывают существенно более высокую летальность среди пациентов, которые все-таки заразились ими [3], что свидетельствует о важности мероприятий по уничтожению в первую очередь именно этих штаммов.

Одним из способов профилактики заражения человека от домашней птицы являются дезинфекционные меры, применяемые в сельском хозяйстве при выращивании молодняка и получении яиц. В частности, могут использоваться такие способы дезинфекции, как обеззараживание с помощью дымовых шашек.

Целью настоящей работы было оценить вирулицидную эффективность лекарственного препарата для животных «Шашка термовозгонная «Тамбей» в отношении вируса A/mallard/Pennsylvania/10218/84 на кафельной тест-поверхности.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Материалы и методы, используемые при изучении специфической вирулицидной эффективности эффективности лекарственного препарата для животных «Шашка термовозгонная «Тамбей» в отношении вируса гриппа птиц.

1.1. Исследуемый препарат

Шашка термовозгонная «Тамбей», предоставлена Заказчиком.

1.2. Тест-система

1.2.2. Культуры клеток

Культура клеток MDCK (Madin-Darby canine kidney), почечный эпителий собаки. Получена из коллекции клеточных культур ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева».

1.2.3. Вирус

В работе был использован вирус гриппа A/mallard/Pennsylvania/10218/84, получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Был размножен на развивающихся куриных эмбрионах, после чего аллантоисная жидкость была собрана, центрифугирована и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока и одновременно заморожены при -80°C .

1.3. Дизайн эксперимента

Работы производились в боксе биологической безопасности 3 класса защиты объемом $0,8\text{м}^3$, который использовался в качестве аэрозольной камеры. Вирус наносили на кафельную тест-поверхность в объеме 500 мкл и давали высохнуть.

Далее поджигали дымовую шашку, после чего сбивали пламя, добиваясь тления дымовой шашки.

Образцы вируса отбирали через 30, 60 и 120 минут после начала обработки, добавляя по 500 мкл физ.раствора к высохшему вирусу. В качестве контроля использовали аналогичные образцы, не подвергавшиеся обработке с помощью дымовой шашки.

В образцах определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток MDCK, для чего из них готовили серию 10-кратных разведений ($10^{-1} - 10^{-7}$) на среде альфа-МЕМ с глутамином с добавлением трипсина и антибиотика ципрофлоксацина, далее вносили их в лунки планшета с клетками MDCK. Планшеты инкубировали в течение 72 часов при 37°C в атмосфере 5 % CO_2 . После окончания срока инкубации культуральную жидкость в объеме 100 мкл из каждой лунки планшета переносили в лунки планшетов с круглым дном для иммунологических реакций и добавляли по 100 мкл на лунку 1 % суспензии куриных эритроцитов в физиологическом растворе. Планшеты выдерживали 1 час при комнатной температуре, после чего визуально оценивали наличие или отсутствие гемагглютинации в лунках.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [4] 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 графиков, отражающих среднее арифметическое значений титров для каждой временной точки и стандартное отклонение

2. Результаты исследования вирулицидной эффективности дымовой шашки «Тамбей»

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса через 30, 60 и 120 минут после начала обработки. Результаты представлены в таблице 1, а также на рисунке 1.

Таблица 1 – Результаты исследования вирулицидной эффективности препарата «Шашка термовозгонная «Тамбей» в отношении вируса гриппа птиц

Обработка	Время воздействия, минут	Среднее значение титра, lgТИД ₅₀	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности
Дымовая шашка Тамбей	0	5,6±0,14	-0,1	-25,8
	30	3,77±0,46	1,33	95,32
	60	2,9±1	1,93	98,82
	120	1±0,86	2,83	99,85
Контроль вируса	0	5,5±0,28	-	-
	30	5,1±0,35	-	-
	60	4,8±0,41	-	-
	120	3,8±0,41	-	-
Контроль исходного вируса	–	7,5	-	-

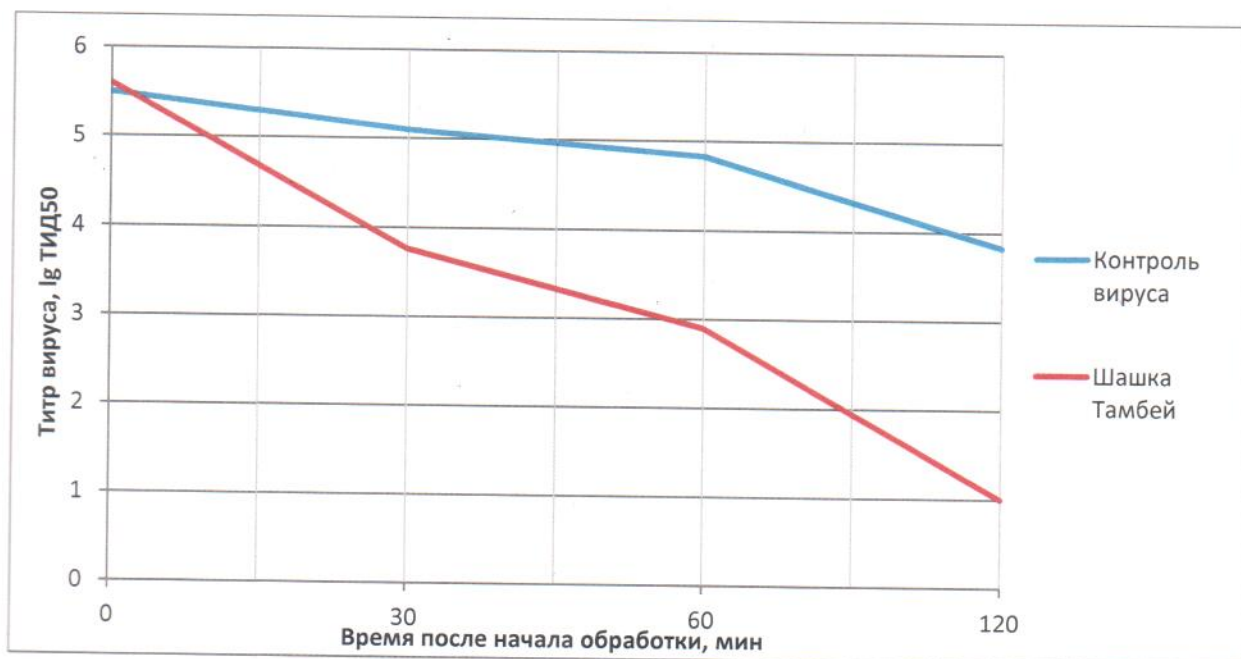


Рисунок 1 – Результаты исследования вирулицидной эффективности препарата «Шашка термовозгонная «Тамбей» в отношении вируса гриппа птиц

Из данных, представленных в таблице 1 и на рисунке 1, следует, что обработка дымовой шашкой приводит к существенному снижению титра вируса, достигающему через 2 часа обработки 2,83 lg TИД50, что соответствует уменьшению инфекционной активности вируса на 99,85%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование вирулицидной эффективности лекарственного препарата для животных «Шашка термовозгонная «Тамбей» в отношении вируса гриппа A/mallard/Pennsylvania/10218/84 на кафельной тест-поверхности.


Показано, что при воздействии исследуемым веществом наблюдается существенное снижение инфекционной активности вируса на кафельной тест-поверхности, достигающее через 120 минут обработки 2,83 lg ТИД₅₀, что соответствует снижению инфекционной активности на 99,85%.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Научно-исследовательский институт гриппа/Система надзора за гриппом/Эпидемиологическая ситуация/Ситуация по гриппу в России и в мире. [Электронный ресурс] – URL: http://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/situation_on_a_flu/?year=2018&week=0 (дата обращения 5.03.2018).
2. Gagnon A., Miller M.S., Hallman S.A., Bourbeau R., Herring D.A., Earn D.J., Madrenas J. Age-specific mortality during the 1918 influenza pandemic: unravelling the mystery of high young adult mortality // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 8. doi:10.1371/journal.pone.0069586
3. Острые респираторные заболевания // Дрейзин Р.С., Астафьева Н.В. – М.: Медицина, 1991. – С.52-67.
4. Reed, L. J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. American Journal of Epidemiology. – 1938. – V.27. – P. 493-497.

Пронумеровано, пронумеровано и скреплено
печатью _____ листа(ов)

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


_____ Д.М. Даниленко

