

# ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ ОРВИ IN VITRO



2023 САНКТ-ПЕТЕРБУРГ





# Актуальность проблемы

Респираторные вирусные инфекции представляют собой острую проблему для человечества, вызывая ежегодные эпидемии, захватывающие весь земной шар. В частности, гриппом каждый год переболевают от 5 до 15% населения Земли, а умирают не менее 250 000 человек

[1]

Респираторно-синцитиальный вирус является частой причиной развития острых респираторных заболеваний негриппозной этиологии у детей младше 2 лет

[Носова М.А., Березина Д.Д., Волова Л.Т., Шаров А.Н., Трунин Д.А., 2021]2





# Актуальность проблемы



Риновиральная инфекция не только ежегодно поражает широкие слои населения, но и является ко-патогеном у многих хронических легочных заболеваний, в частности ХОБЛ (хроническая обструктивная болезнь легких) [3]

Вирусы парагриппа человека (ВПЧ) обычно вызывают заболевания верхних и нижних дыхательных путей у младенцев, маленьких детей, пожилых людей и людей с ослабленной иммунной системой [4]

[Jensen J., Joss A., Lang N.P. 1999]

# Актуальность проблемы

Аденовирусы чаще всего вызывают респираторные заболевания, которые варьируются от обычной простуды до пневмонии, ларинготрахеобронхита и бронхита [5].

[Jensen J., Joss A., Lang N.P. 1999]

Коронавирус SARS-CoV-2 является причиной пандемии COVID-19 - тяжелого инфекционного респираторного заболевания с высокой смертностью. С момента первых сообщений из Уханя (КНР) об инфицировании коронавирусом случаи заболеваемости были зафиксированы на всех континентах. На сегодняшний день во всем мире зарегистрировано более 500 миллионов подтвержденных случаев COVID-19 [6]

[Bernimoulin J.P., Lüscher B., Mühlemann H.R. 1975]





# Актуальность проблемы



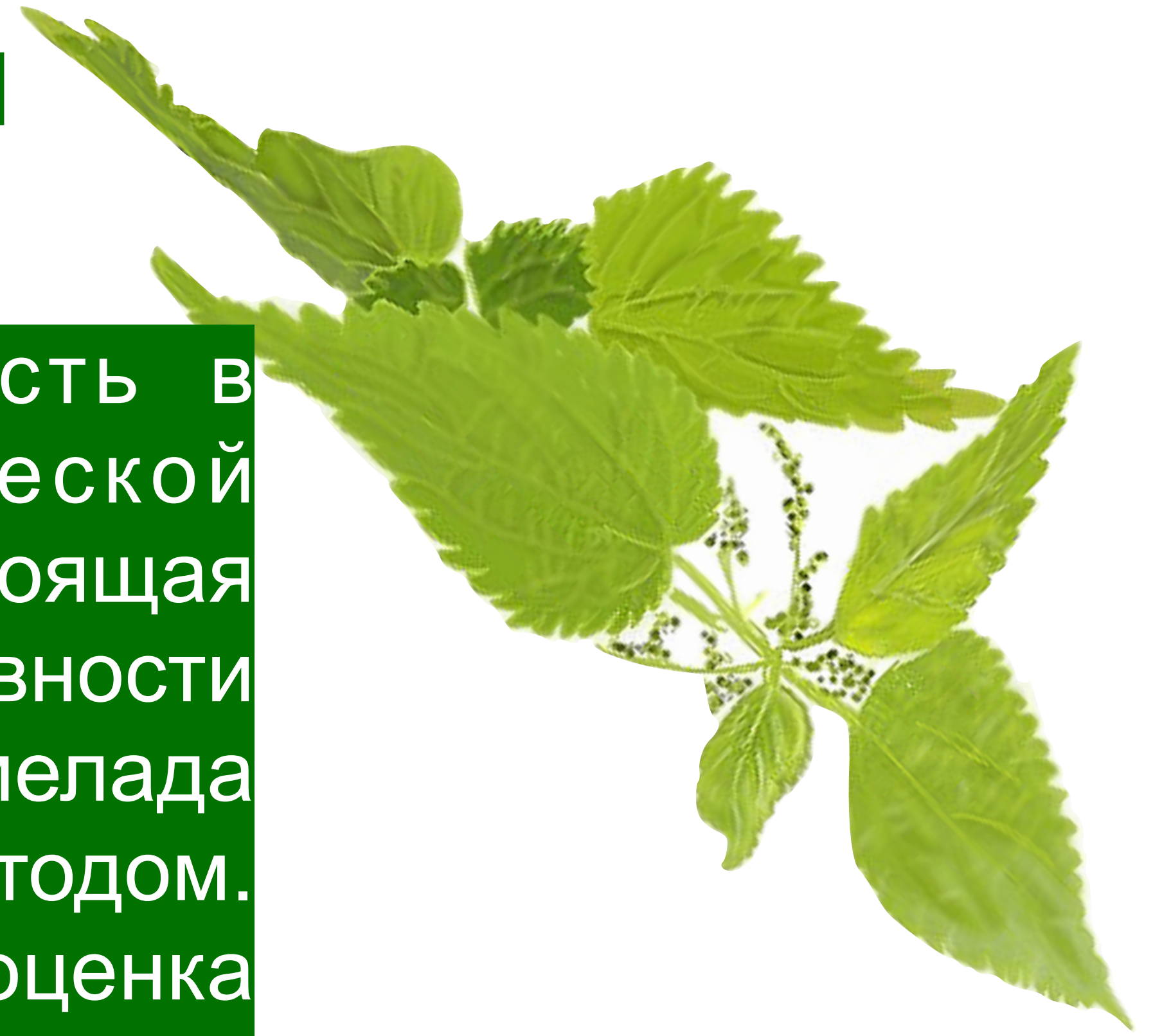
Несмотря на успехи вакцинопрофилактики, она не может являться абсолютной гарантией защиты потенциального пациента от заболевания в связи с высокой скоростью накопления мутаций у циркулирующих в человеческой популяции вирусов, например, гриппа. Кроме того, для многих вирусов, вызывающих респираторные заболевания, вакцины не разработаны [7]

[Bernimoulin J.P., Lüscher B., Mühlemann H.R. 1975]



# Актуальность проблемы

Таким образом, возникает необходимость в разработке новых средств неспецифической профилактики респираторных инфекций. Настоящая работа посвящена изучению вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада с растительным комплексом суспензионным методом. Целью настоящего исследования является оценка вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа типа А и В, респираторно-синцитиального вируса, риновируса, коронавируса, аденовируса и вируса парагриппа.





# Задачи исследования

1. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа типа А - штамм A/Aichi/2/68(H3N2) на культуре клеток MDCK.
2. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа типа В - штамм B/ Malaysia/2506/04 на культуре клеток MDCK.
3. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении респираторно-синцитиального вируса - штамм A2 на культуре клеток Herp-2.
4. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении риновируса - штамм рино/1а/Ленинград/78 на культуре клеток Herp-2.



# Задачи исследования

5. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении коронавируса- HCoV-19/Russia/ StPetersburg-R113524VR4/2020 на культуре клеток Vero E6.

6. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении аденовируса - штамм Adenoid 75 группа C на культуре клеток A549.

7. Провести тестирование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса парагриппа 3 типа - штамм III v2932 на культуре клеток Herp-2.



# Материалы и методы

Эксперименты по изучению специфической вирулицидной активности *in vitro* на культуре клеток проводили согласно техническому заданию договора No29032023 от 29.03.2023 г. Все эксперименты были проведены в трех повторах.



# Материалы и методы



**Эксперименты по изучению специфической вирулицидной активности *in vitro* на культуре клеток проводили согласно техническому заданию договора No29032023 от 29.03.2023 г. Все эксперименты были проведены в трех повторах.**

## **1.1. Тестируемый препарат**

### **1.1.1. Учет и хранение исследуемых препаратов**

Исследуемые препараты подлежат учету и хранению в соответствии с СОП, принятыми в ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

Наименование	Раствор для приготовления жевательного мармелада с растительным комплексом.
Производитель	ООО «Фитолон Мед» эксклюзивно для ООО «Стоматологический магазин Ромашка»
Серия	01/19.04.2023
Срок годности	6 месяцев
Лекарственная форма	раствор
Состав	См. Приложение No1

# Материалы и методы



## 1.2. Тест-системы

Для исследования были использованы следующие культуры клеток.

Культура клеток MDCK (клетки почки собаки). Получена из рабочей коллекции клеточных культур лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева». В ходе проведения исследования пассажный уровень после разморозки не превышал 20 пассажей.

Культура клеток Нер-2 (клетки эпидермоидной карциномы гортани человека). Получена из рабочей коллекции клеточных культур лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева». В ходе проведения исследования пассажный уровень после разморозки не превышал 20 пассажей.



# Материалы и методы



Культура клеток A549 (клетки аденокарциномы легкого человека). Получена из рабочей коллекции клеточных культур лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева». В ходе проведения исследования пассажный уровень после разморозки не превышал 20 пассажей.

Культура клеток Vero E6 (клетки почки африканской зеленой мартышки). Получена из рабочей коллекции клеточных культур лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева». В ходе проведения исследования пассажный уровень после разморозки не превышал 20 пассажей.

# Материалы и методы



## 1.3. Вирусы

### 1.3.1. Вирус гриппа А

В работе был использован вирус гриппа типа А, штамм A/Aichi/2/68(H3N2), 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 центрифугирования и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока аллантоисной жидкости и одновременно заморожены при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### 1.3.2. Вирус гриппа В

В работе был использован вирус гриппа типа В, штамм B/Malaysia/2506/04, 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 центрифугирования и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока аллантоисной жидкости и одновременно заморожены при  $-80^{\circ}\text{C}$ .



# Материалы и методы



## *1.3.3. Респираторно-синцитиальный вирус*

В работе был использован респираторно-синцитиальный вирус, штамм А2 получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Был размножен на культуре клеток Нер-2, после чего клеточная суспензия была собрана и расфасована по аликвотам объемом 500 мкл. Все аликвоты сделаны из единого стока, одномоментно заморожены и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## *1.3.4. Риновирус*

В работе был использован риновирус штамм рино/1а/Ленинград/78. Вирус получен из Государственной Коллекции Вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского, далее был размножен и накоплен на культуре клеток Нер-2, после чего клеточная суспензия была собрана и расфасована по аликвотам объемом 1 мл. Все аликвоты сделаны из единого стока, одномоментно заморожены и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

# Материалы и методы



## *1.3.5. Парагрипп*

В работе был использован вирус парагриппа 3 типа, штамм III v2932 получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Был размножен на культуре клеток Нер-2, после чего клеточная суспензия была собрана и расфасована по аликвотам объемом 500 мкл. Все аликвоты сделаны из единого стока, одномоментно заморожены и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## *1.3.6. Аденовирус*

В работе был использован Аденовирус 5 штамм Adenoid 75 группа С получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Был размножен на культуре клеток А549, после чего клеточная суспензия была собрана и расфасована по аликвотам объемом 500 мкл. Все аликвоты сделаны из единого стока, одномоментно заморожены и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .



# Материалы и методы



## 1.3.7. Коронавирус

В работе был использован коронавирус HCoV-19/Russia/StPetersburg- RII3524VR4/2020 получен из рабочей коллекции отдела вирусологии Института Экспериментальной Медицины. Был размножен на культуре клеток Vero E6, после чего клеточная суспензия была собрана и расфасована по аликвотам объемом 500 мкл. Все аликвоты сделаны из единого стока, одномоментно заморожены и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

# Материалы и методы



## 1.4. Определение вирулицидной активности

Вирулицидную активность исследуемого препарата оценивали согласно МУ Роспотребнадзора 3.5.2431-08.

### 1.4.1. Определение вирулицидной активности в отношении вируса гриппа

К аллантоисной жидкости, содержащей 106,5 IgТИД50 вируса гриппа, добавляли тестируемое средство (не разведённое) в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и поддерживающей среды в соотношении 1:9 без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС).

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 0, 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.



# Материалы и методы



Из опытных и контрольных образцов готовили серию 10-кратных разведений ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) на поддерживающей среде (питательная среда Игла MEM с двойным набором аминокислот+1% ципрофлоксацина+8 мкг/мл трипсина+2 mM L-глутамина), затем переносили их в 96ЛП с однократно промытыми поддерживающей средой клетками MDCK и инкубировали в течение 1 часа. Лунки, соответствующие контролю клеток, заполняли той же средой. По истечении 1 часа из 96ЛП удаляли содержимое, однократно промывали и вносили поддерживающую среду в объеме 200 мкл/лунку. Далее планшеты инкубировали в течение 72 часов при 37 °С в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. После окончания срока инкубации культуральную жидкость в объеме 100 мкл из каждой лунки планшета переносили в планшеты с U-образным дном для иммунологических реакций и добавляли по 100 мкл на лунку 1% суспензию 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 [8] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД<sub>50</sub>) на 100 мкл объёма.

# Материалы и методы



## *1.4.2. Определение вирулицидной активности в отношении респираторно- синцитиального вируса*

К культуральной жидкости, содержащей 105,5 IgТИД50 респираторно- синцитиального вируса А2, добавляли тестируемое средство (не разведённое) в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и поддерживающей среды в соотношении 1:9 без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС).

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 0, 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.



# Материалы и методы



Из опытных и контрольных образцов готовили серию 10-кратных разведений ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) на поддерживающей среде (питательная среда DMEM +1% ципрофлоксацина+2%ФБС+2 mM L-глутамин), затем переносили их в 96ЛП с клетками Her-2 и инкубировали в течение 1 часа. Лунки, соответствующие контролю клеток, заполняли той же средой. По истечении 1 часа из 96ЛП удаляли содержимое, однократно промывали и вносили поддерживающую среду в объеме 200 мкл/лунку. Далее планшеты инкубировали в течение 6 суток при 37 °С в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

По окончании срока инкубации титр вируса определяли с помощью иммуноферментного анализа. Для проведения анализа опытный 96ЛП фиксировали холодным 80% ацетоном в течение 15 минут, после чего ее промывали с помощью буфера DPBS. Далее в 96ЛП вносили раствор первичных мышинных антител к белку F респираторно-синцитиального вируса, после чего инкубировали в течение 1 часа при 37 °С.

# Материалы и методы



Далее 96ЛП промывали буфером PBST и вносили вторичные антимышинные антитела, после чего снова инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Далее антитела отмывали DPBS и вносили субстрат-хромогенную смесь с ТМБ. Через 5 минут реакцию останавливали с помощью 0,1М серной кислоты и оценивали оптическую плотность раствора при длине волны 450 нм. Лунки, в которых значение абсорбции превышало таковое в лунках с контролем клеток, считались зараженными.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [8] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД50) на 100 мкл объёма.



# Материалы и методы



## *1.4.3. Определение вирулицидной активности в отношении риновируса*

К культуральной жидкости, содержащей  $10^{3,5}$  IgТИД50 риновируса, добавляли тестируемое средство (не разведённое) в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и поддерживающей среды в соотношении 1:9 без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС).

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 0, 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.

# Материалы и методы



Из опытных и контрольных образцов готовили серию 10-кратных разведений ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) на поддерживающей среде (питательная среда DMEM +1% ципрофлоксацина+2%ФБС+2 mM L-глутамин+15 mM MgCl<sub>2</sub>), затем переносили их в 96ЛП с клетками Нер-2 и инкубировали в течение 1 часа. Лунки, соответствующие контролю клеток, заполняли той же средой. По истечении 1 часа из 96ЛП удаляли содержимое, однократно промывали и вносили поддерживающую среду в объеме 200 мкл/лунку. Далее планшеты инкубировали в течение 6 суток при 37 °С в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

После окончания срока инкубации титр вируса определяли методом ЦПД. ЦПД вируса на культуре клеток оценивали визуально под инвертированным микроскопом. «+» отмечали наличие вирусиндуцированной деструкции монослоя, «–» отсутствие ЦПД.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [8] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД<sub>50</sub>) на 100 мкл объёма.



# Материалы и методы



## *1.4.4. Определение вирулицидной активности в отношении парагриппа*

К культуральной жидкости, содержащей 104,5 IgТИД50 вируса парагриппа 3 типа, добавляли тестируемое средство (не разведённое) в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инаktivированной СКРС). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и поддерживающей среды в соотношении 1:9 без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инаktivированной СКРС).

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 0, 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.

# Материалы и методы



Из опытных и контрольных образцов готовили серию 10-кратных разведений ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) на поддерживающей среде (питательная среда DMEM +1% ципрофлоксацина+2% ФБС+2 mM L-глутамина), затем переносили их в 96ЛП с клетками Her-2 и инкубировали в течение 1 часа. Лунки, соответствующие контролю клеток, заполняли той же средой. По истечении 1 часа из 96ЛП удаляли содержимое, однократно промывали и вносили поддерживающую среду в объеме 200 мкл/лунку. Далее планшеты инкубировали в течение 6 суток при 37 °С в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

По окончании срока инкубации титр вируса определяли с помощью иммуноферментного анализа. Для проведения анализа опытный 96ЛП фиксировали холодным 80% ацетоном в течение 15 минут, после чего его промывали с помощью буфера DPBS. Далее в 96ЛП вносили раствор первичных мышинных антител к белку вируса парагриппа, после чего инкубировали в течение 1 часа при 37 °С.



# Материалы и методы



Далее 96ЛП промывали буфером PBST и вносили вторичные антимышинные антитела, после чего снова инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Далее антитела отмывали DPBS буфером и вносили субстрат-хромогенную смесь с ТМБ. Через 5 минут реакцию останавливали с помощью 0,1М серной кислоты и оценивали оптическую плотность раствора при длине волны 450 нм. Лунки, в которых значение абсорбции превышало таковое в лунках с контролем клеток, считались зараженными.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [8] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД50) на 100 мкл объёма.

# Материалы и методы



## *1.4.5. Определение вирулицидной активности в отношении аденовируса*

К культуральной жидкости, содержащей  $10^{4,5}$  IgТИД50 аденовируса, добавляли тестируемое средство (не разведённое) в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и поддерживающей среды в соотношении 1:9 без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС).

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 0, 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.



# Материалы и методы



Из опытных и контрольных образцов готовили серию 10-кратных разведений ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) на поддерживающей среде (питательная среда DMEM +1% ципрофлоксацина+2 mM L-глутамина), затем переносили их в 96ЛП с клетками A549 и инкубировали в течение 1 часа. Лунки, соответствующие контролю клеток, заполняли той же средой. По истечении 1 часа из 96ЛП удаляли содержимое, однократно промывали и вносили поддерживающую среду в объеме 200 мкл/лунку. Далее планшеты инкубировали в течение 6 суток при 37 °С в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>

После окончания срока инкубации из 96ЛП удаляли содержимое и вносили раствор МТТ (метилтетразолиум бромид) на поддерживающей среде в концентрации 0,5 мкг/мл, после чего инкубировали в течение 1,5 часов при температуре 37 °С и 5% CO<sub>2</sub>. По окончании срока инкубации раствор МТТ удаляли, растворяли осадок в DMSO и определяли оптическую плотность раствора при длине волны 570 нм. Лунки считали зараженными, если оптическая плотность превышала 1/2 от оптической плотности в контроле.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [8] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД<sub>50</sub>) на 100 мкл объёма.

# Материалы и методы



## *1.4.6. Определение вирулицидной активности в отношении коронавируса (выполнено отделом вирусологии Института Экспериментальной Медицины, Санкт-Петербург)*

К культуральной жидкости, содержащей 104,5 IgТИД50 коронавируса, добавляли тестируемое средство (не разведённое) в соотношении 1:9 (1 объем вируса и 9 объемов средства) без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС). В качестве отрицательного контроля использовали смесь вируса и поддерживающей среды в соотношении 1:9 без белковой нагрузки и с белковой нагрузкой (с добавлением 40% инактивированной СКРС).

Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре при периодическом перемешивании в течение 0, 15, 30 и 60 минут, после чего в каждом образце определяли количество вируса с помощью титрования на культуре клеток.



# Материалы и методы



Из опытных и контрольных образцов готовили серию 10-кратных разведений ( $10^{-1}$  –  $10^{-7}$ ) на поддерживающей среде (питательная среда DMEM +1% ципрофлоксацина+2%ФБС+2 mM L-глутамина), затем переносили их в 96ЛП с клетками Vero E6 и инкубировали в течение 1 часа. Лунки, соответствующие контролю клеток, заполняли той же средой. По истечении 1 часа из 96ЛП удаляли содержимое, однократно промывали и вносили поддерживающую среду в объеме 200 мкл/лунку. Далее планшеты инкубировали в течение 3 суток при 37 °С в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. После окончания срока инкубации титр вируса определяли методом ЦПД. ЦПД вируса на культуре клеток оценивали визуально под инвертированным микроскопом. «+» отмечали наличие вирусиндуцированной деструкции монослоя, «–» отсутствие ЦПД. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [8] и выражали в 50% тканевых инфекционных дозах (ТИД50) на 100 мкл объёма.

# Материалы и методы



## 1.5. Статистическая обработка данных

Статистический анализ 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.



# Результаты исследования



## *2.1 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа А*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 1, а также на рисунках 1, 2.

Из данных, представленных в таблице и на графике, следует, что исследуемый раствор вызывал полную инактивацию (ниже предела детекции –  $0,5 \text{ Ig TИД}_{50}$ ) вируса гриппа А, начиная с точки 0 независимо от наличия белковой нагрузки.

**Таблица 1 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа А суспензионным методом**

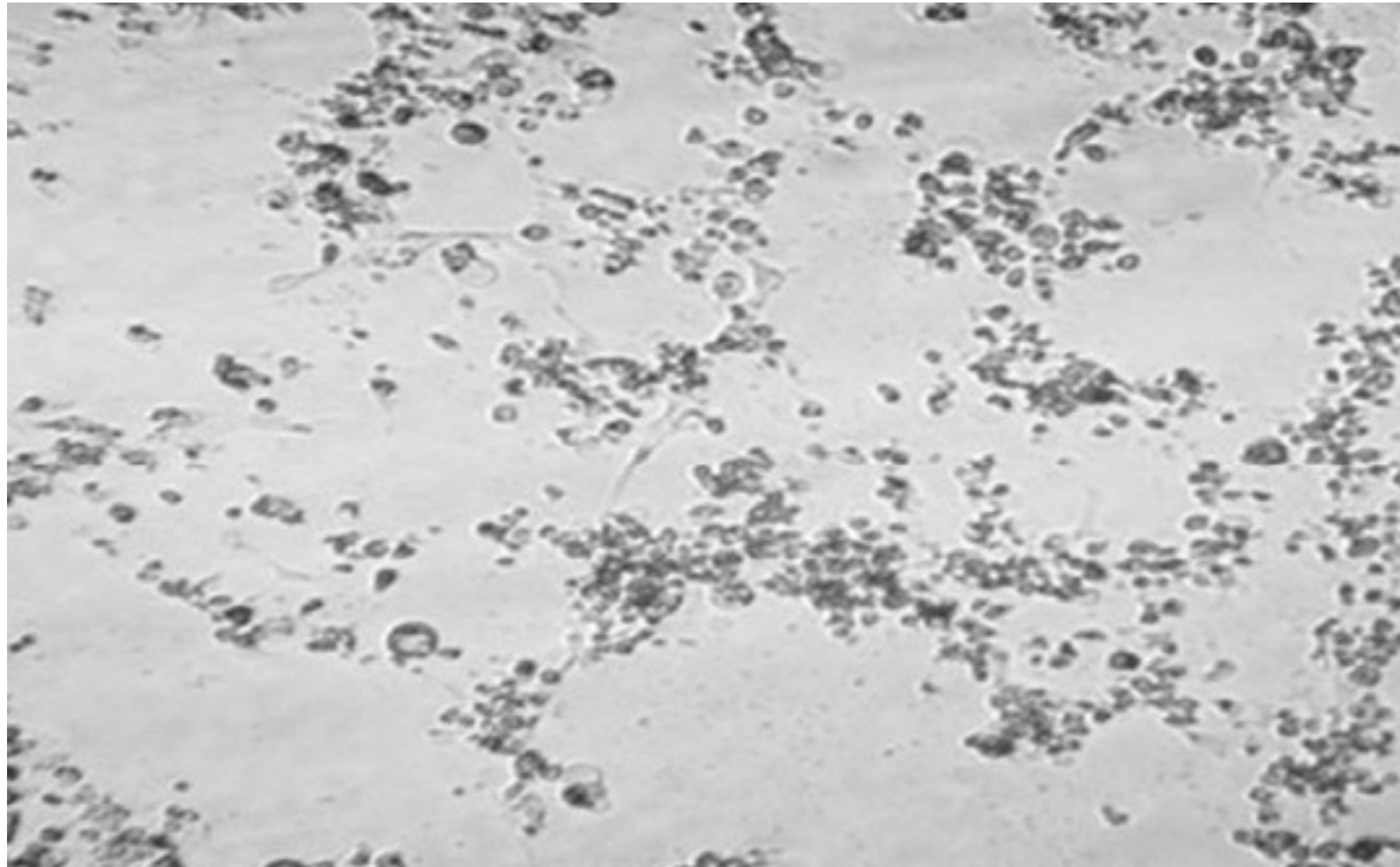
Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	Нет	4,67±0,58	–	–
0		0,5±0,0	4,17	99,99
15		0,5±0,0	4,17	99,99
30		0,5±0,0	4,17	99,99
60		0,5±0,0	4,17	99,99
Контроль вируса		Есть	6,17±1,15	–
0	0,5±0,0		5,67	100
15	0,5±0,0		5,67	100
30	0,5±0,0		5,67	100
60	0,5±0,0		5,67	100



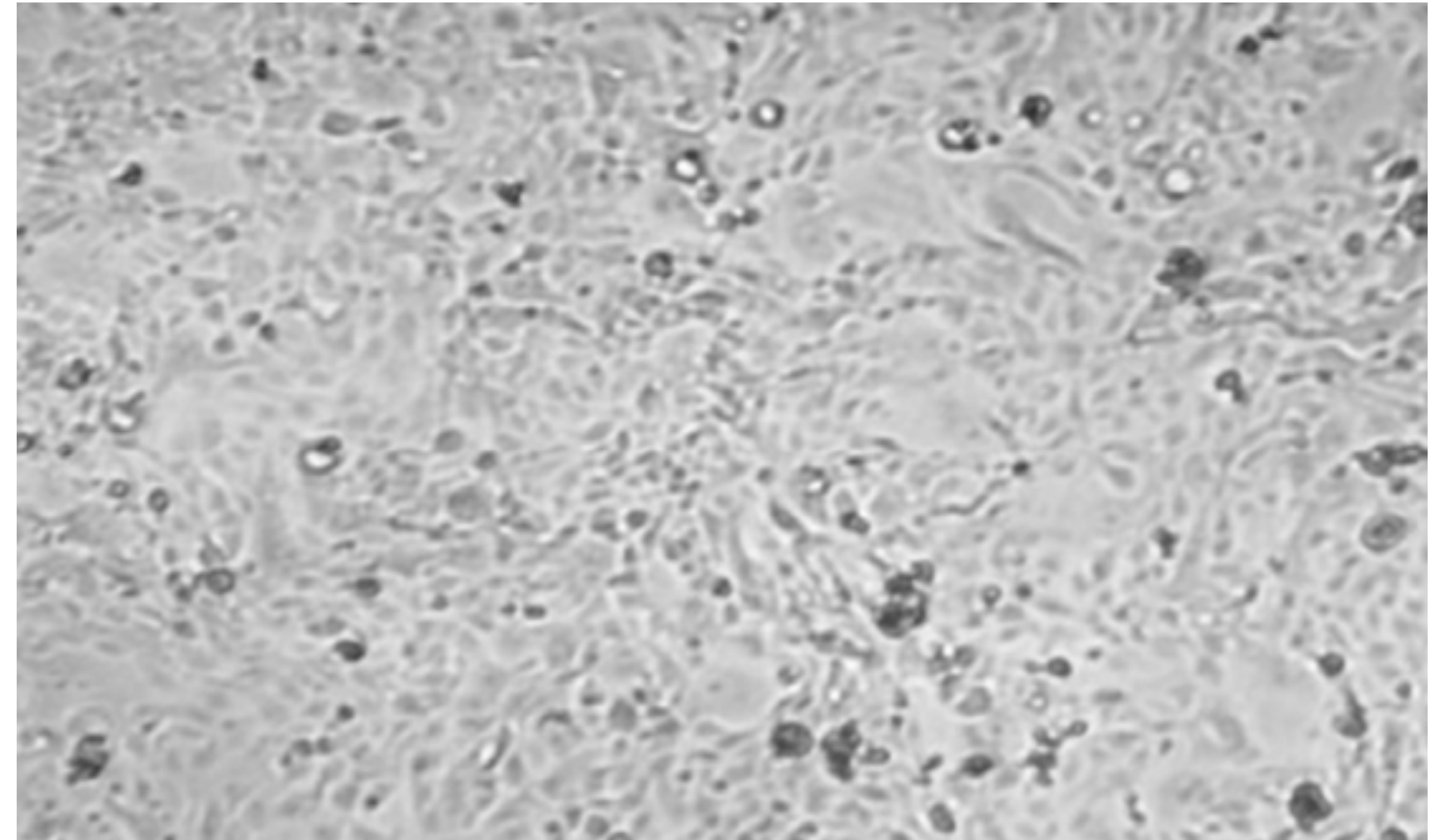


Рисунок 1 –  
 Результаты  
 исследования  
 вирулицидной  
 активности  
 исследуемого  
 раствора в  
 отношении вируса  
 гриппа А  
 суспензионным  
 методом с белковой  
 и без  
 белковой нагрузки

Рисунок 2 – Воздействие исследуемого раствора на вирус гриппа типа А  
А – Инфицированная клеточная культура MDCK, 3 сутки после заражения  
Б - Клеточная культура MDCK после инактивации вируса гриппа исследуемым раствором



А



Б



# Результаты исследования



## *2.2 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа В*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 2, а также на рисунках 3 и 4.

Из данных, представленных в таблице, на графике и фото, следует, что исследуемый раствор вызывал полную инактивацию вируса гриппа В, начиная с точки 0 независимо от наличия белковой нагрузки.

**Таблица 2 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса гриппа В суспензионным методом**

Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	Нет	3,33±0,29	–	–
0		0,5±0,0	2,83	99,85
15		0,5±0,0	2,83	99,85
30		0,5±0,0	2,83	99,85
60		0,5±0,0	2,83	99,85
Контроль вируса		Есть	3,17±0,29	–
0	0,5±0,0		2,67	99,78
15	0,5±0,0		2,67	99,78
30	0,5±0,0		2,67	99,78
60	0,5±0,0		2,67	99,78





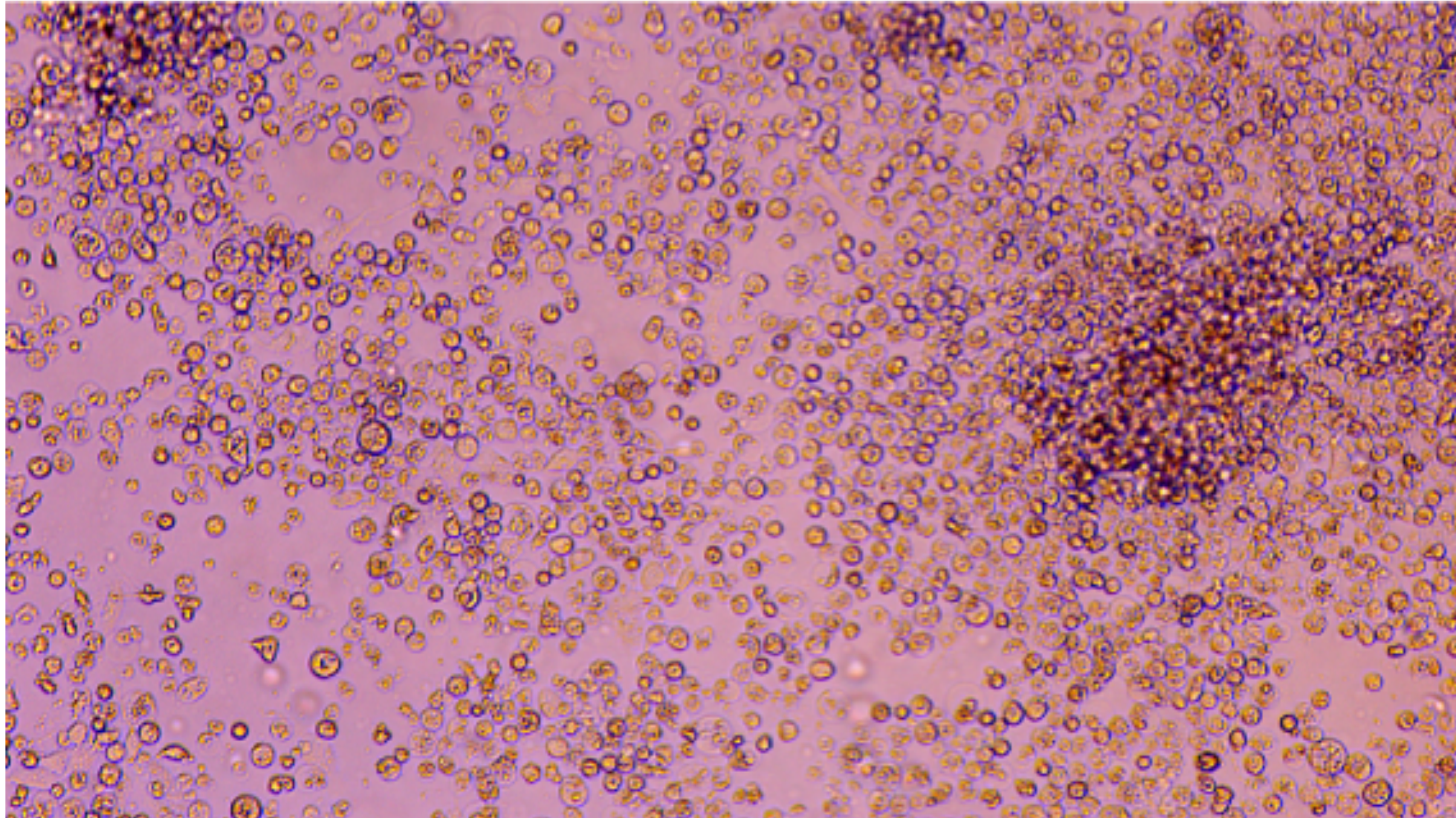
Рисунок 3 –  
Результаты  
исследования  
вирулицидной  
активности  
исследуемого  
раствора в  
отношении  
вируса гриппа В  
суспензионным  
методом с  
белковой и без  
белковой  
нагрузки



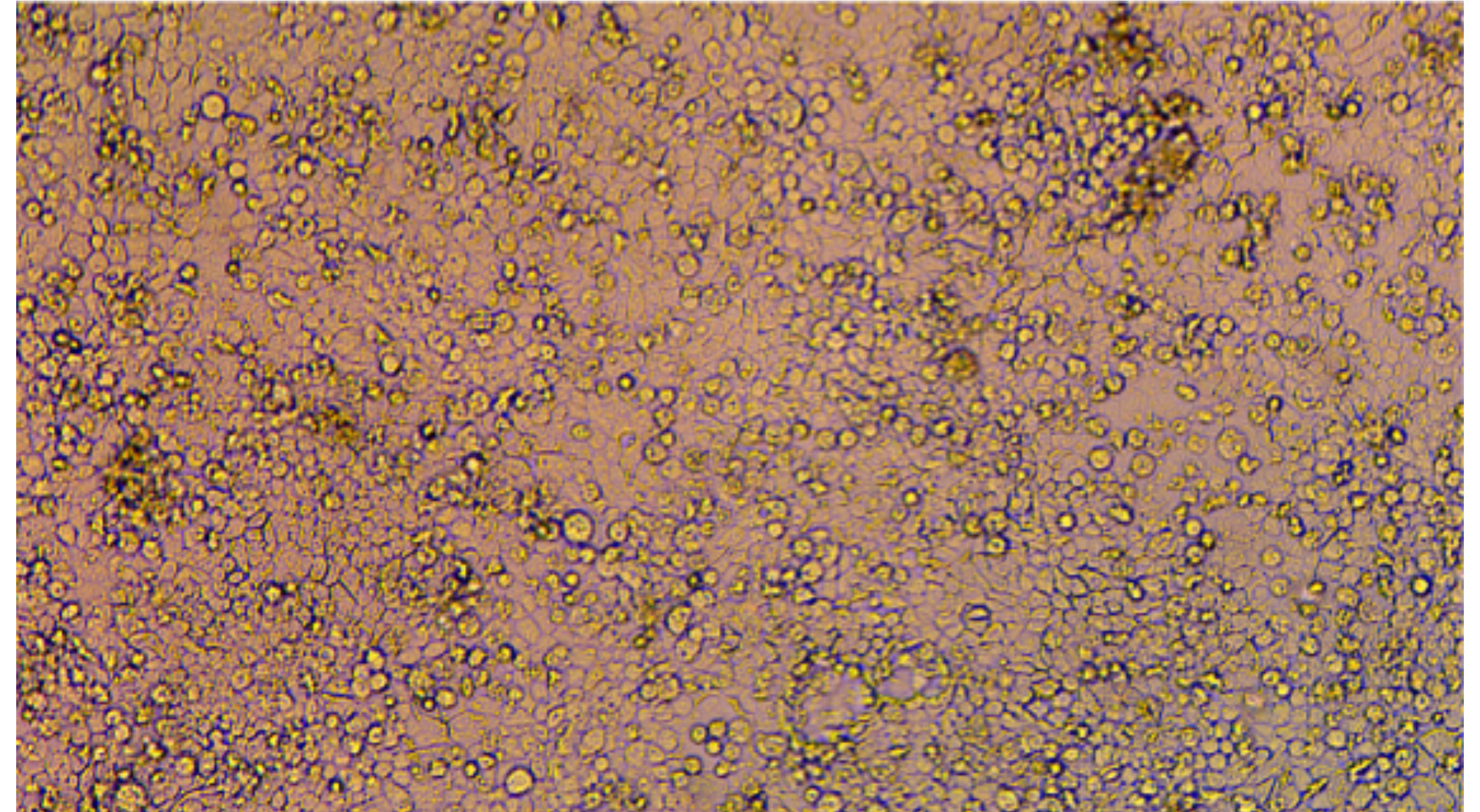
Рисунок 4 – Воздействие исследуемого раствора на вирус гриппа типа В

А – Инфицированная клеточная культура MDCK, 3 сутки после заражения

Б - Клеточная культура MDCK после инактивации вируса гриппа исследуемым раствором



А



Б



# Результаты исследования



## *2.3 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса респираторно- синцитиального вируса А2*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 3, на рисунках 5 и 6.

Из данных, представленных в таблице, на графике и фото, следует, что исследуемый раствор вызывал полную инактивацию РСВ А2, начиная с точки 0, независимо от наличия белковой нагрузки.

**Таблица 3 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении РСВ А2 суспензионным методом**

Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	Нет	3,83±0,29	–	–
0		0,5±0,0	3,33	99,95
15		0,5±0,0	3,33	99,95
30		0,5±0,0	3,33	99,95
60		0,5±0,0	3,33	99,95
Контроль вируса		Есть	4,17±0,76	–
0	0,5±0,0		3,67	99,98
15	0,5±0,0		3,67	99,98
30	0,5±0,0		3,67	99,98
60	0,5±0,0		3,67	99,98



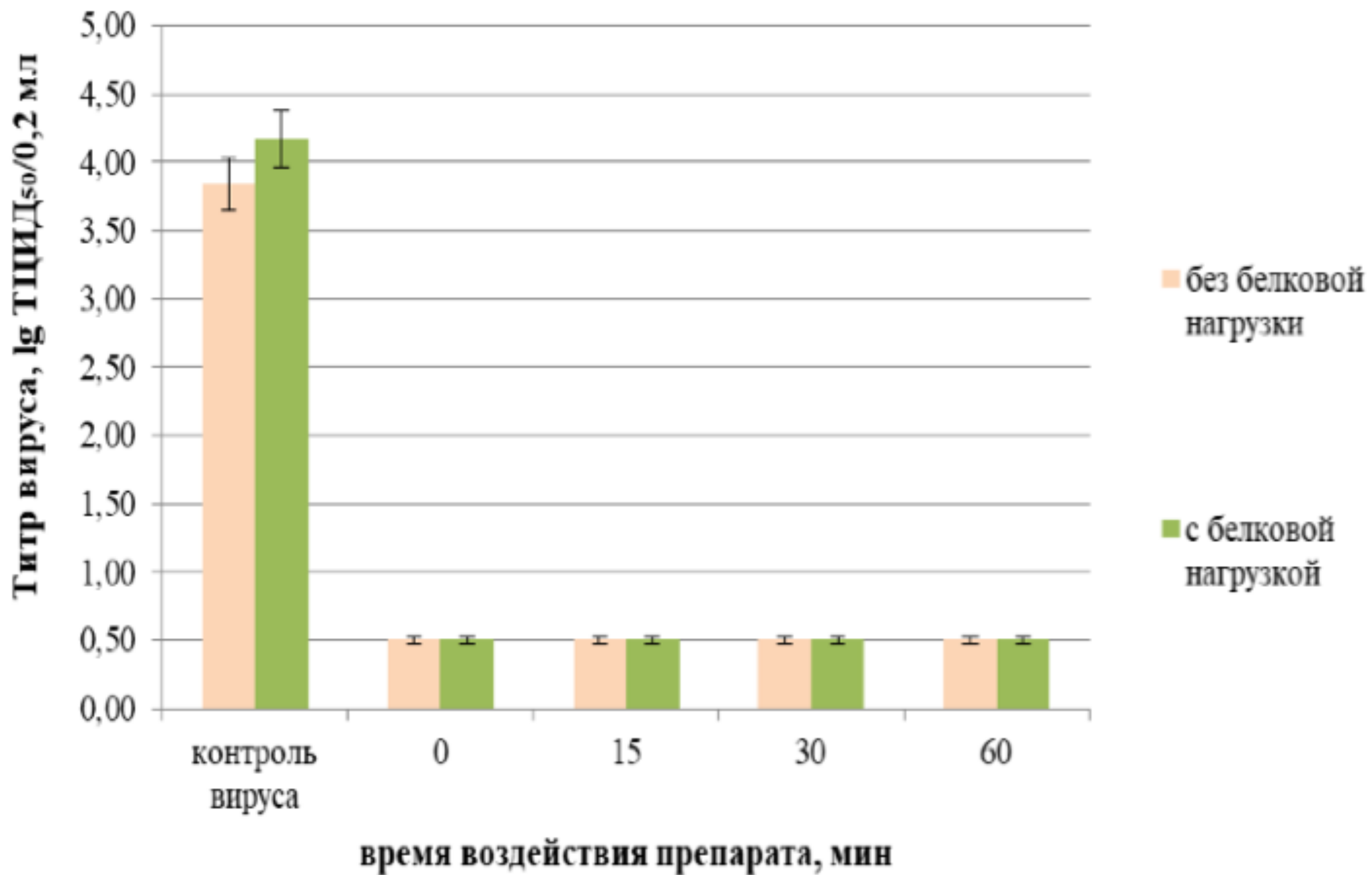


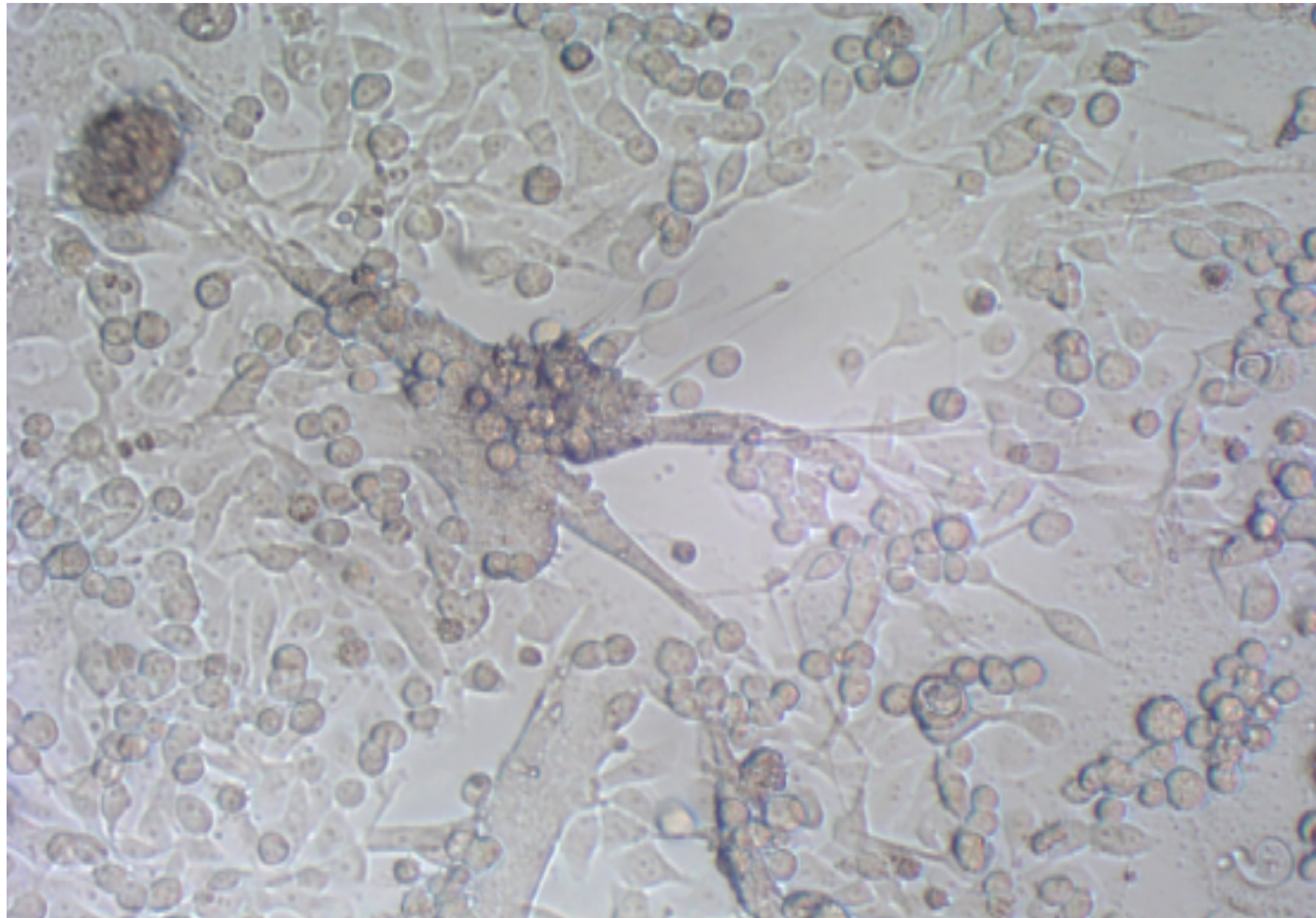
Рисунок 5 –  
 Результаты  
 исследования  
 вирулицидной  
 активности  
 исследуемого  
 раствора в  
 отношении РСВ А2  
 суспензионным  
 методом с белковой  
 и без белковой  
 нагрузки



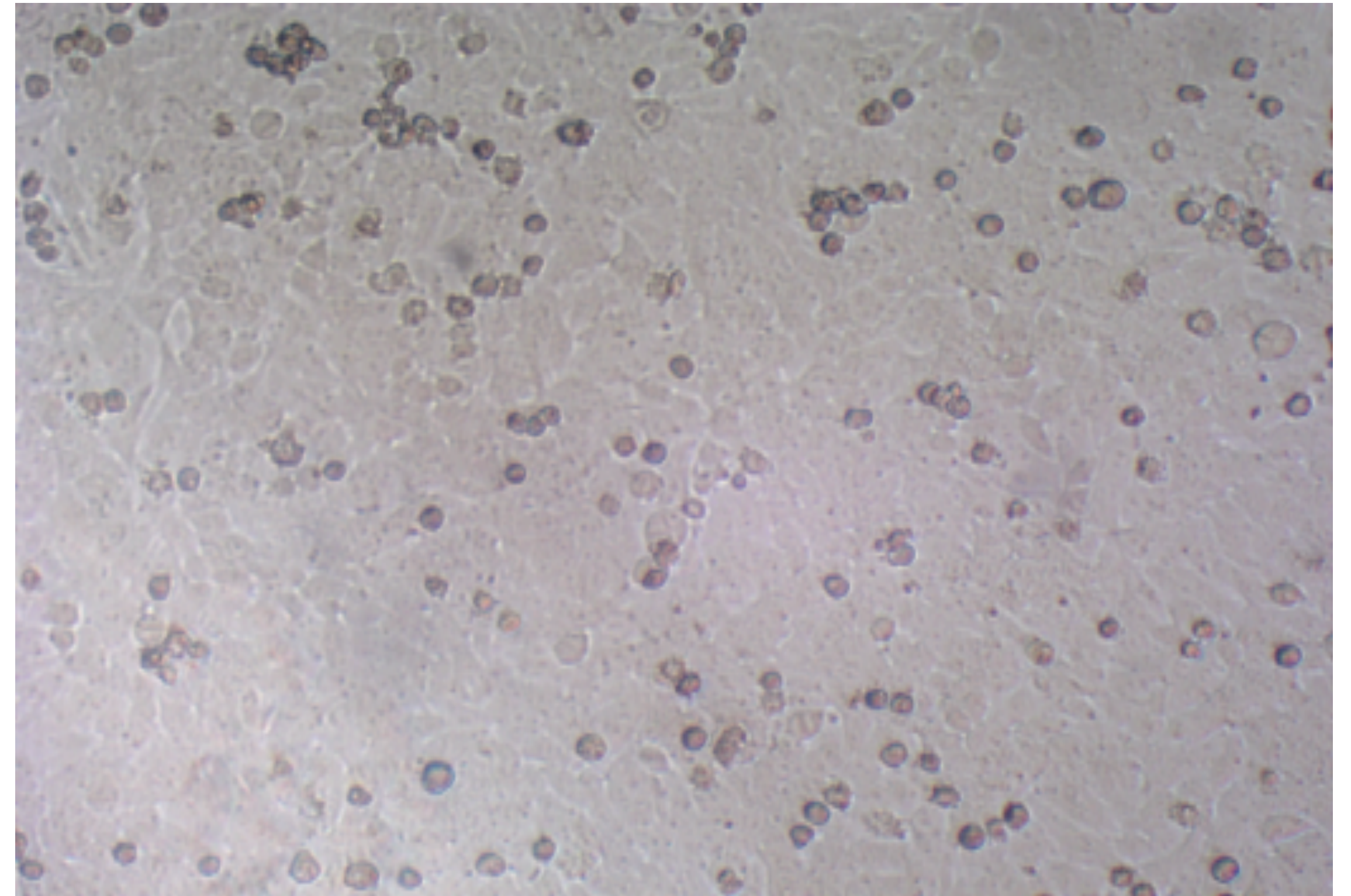
Рисунок 6 – Воздействие исследуемого раствора на РСВ А2

А – Инфицированная клеточная культура Нер-2, 6 сутки после заражения

Б - Клеточная культура Нер-2 после инактивации РСВ А2 исследуемым раствором



А



Б



# Результаты исследования



## *2.4 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении риновируса*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 4, на рисунках 7 и 8.

Из данных, представленных в таблице, на графике и фото, следует, что исследуемый раствор вызывал полную инактивацию риновируса, начиная с точки 0, без белковой нагрузки. При наличии белковой нагрузки происходило полное ингибирование репликации вируса в лунках контроля и опытных образцах, что не дало возможности оценить наличие вирулицидных свойств раствора в данных условиях.

**Таблица 4 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении риновируса суспензионным методом**

Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса		2,33±0,29	–	–
0	Нет	0,5±0,0	1,83	98,53
15		0,5±0,0	1,83	98,53
30		0,5±0,0	1,83	98,53
60		0,5±0,0	1,83	98,53



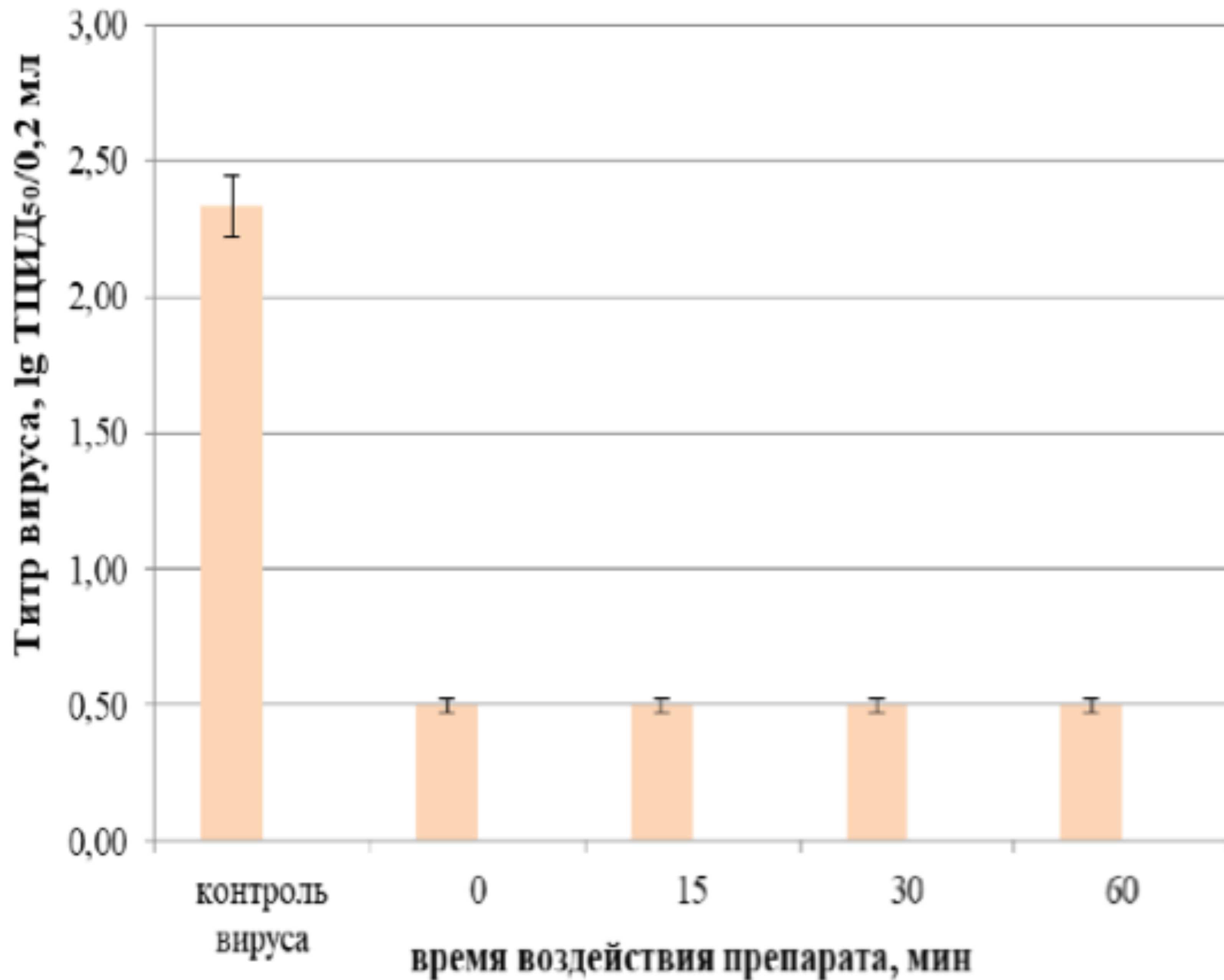
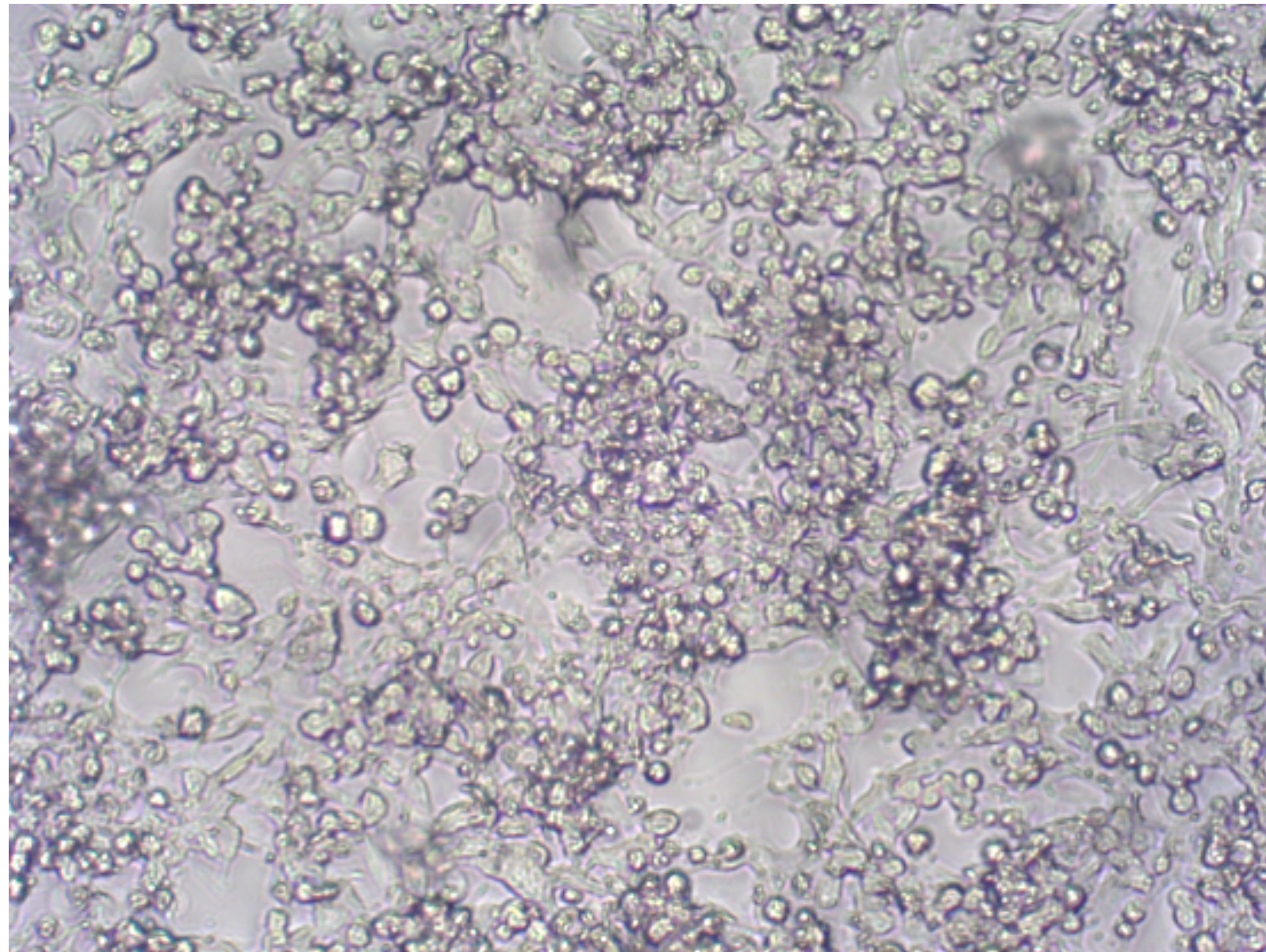


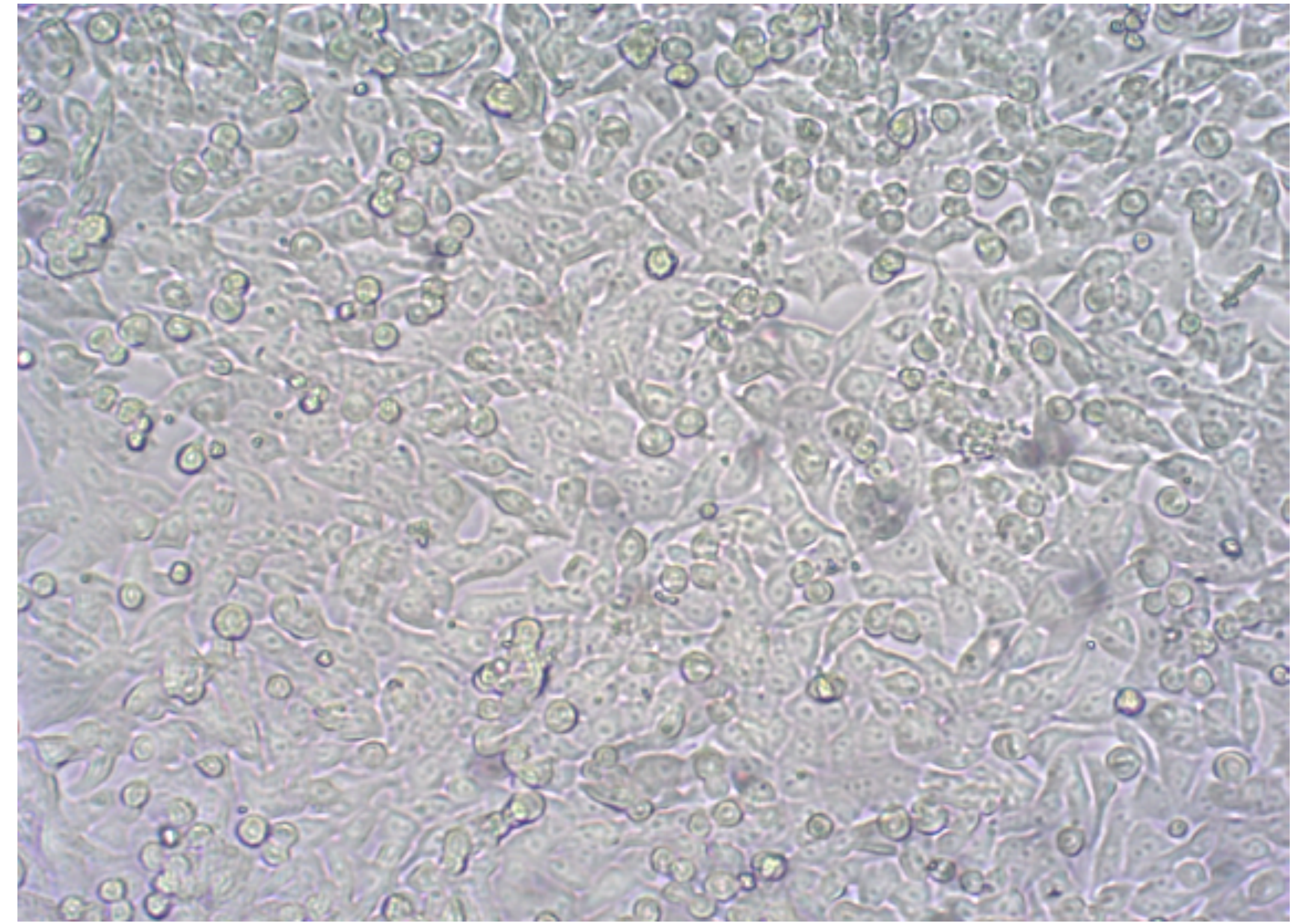
Рисунок 7 –  
Результаты  
исследования  
вирулицидной  
активности  
исследуемого  
раствора в  
отношении  
риновируса  
суспензионным  
методом без  
белковой нагрузки



Рисунок 8 – Воздействие исследуемого раствора на Риновирус  
А – Инфицированная клеточная культура Нер-2, 6 сутки после заражения Б -  
Клеточная культура Нер-2 после инактивации риновируса исследуемым  
раствором



А



Б



# Результаты исследования



## *2.5 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении коронавируса*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 5, на рисунках 9 и 10.

Из данных, представленных в таблице, на графике и фото, следует, что исследуемый раствор вызывал полную инактивацию коронавируса, начиная с точки 0, без белковой нагрузки. При наличии белковой нагрузки происходила блокировка репликации вируса в лунках контроля и опытных образцах, что не дало возможности оценить наличие вирулицидных свойств раствора в данном эксперименте.

**Таблица 5 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении коронавируса суспензионным методом**

Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	Нет	2,83±0,29	–	–
0		0,5±0,0	2,33	99,54
15		0,5±0,0	2,33	99,54
30		0,5±0,0	2,33	99,54
60		0,5±0,0	2,33	99,54

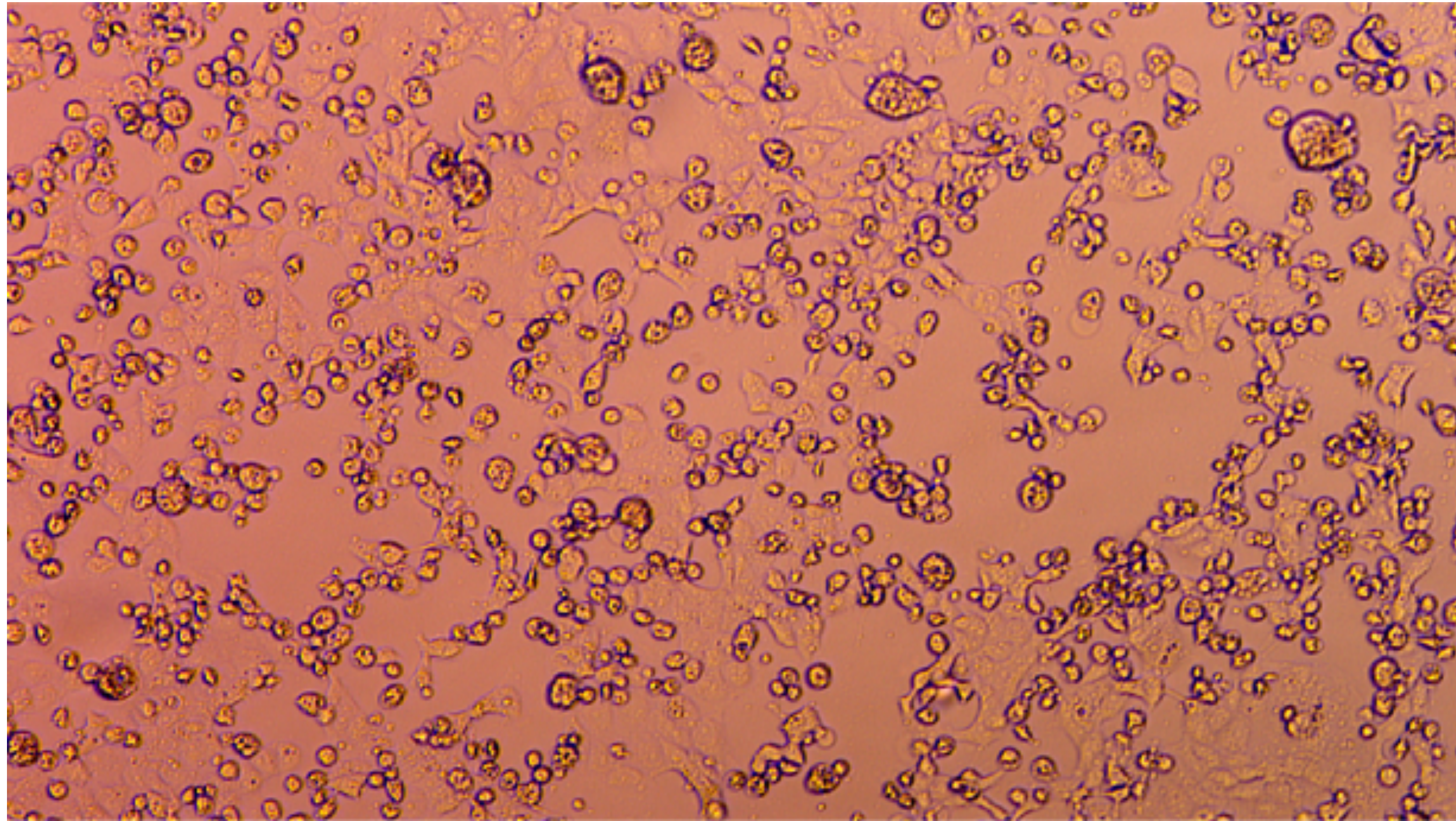




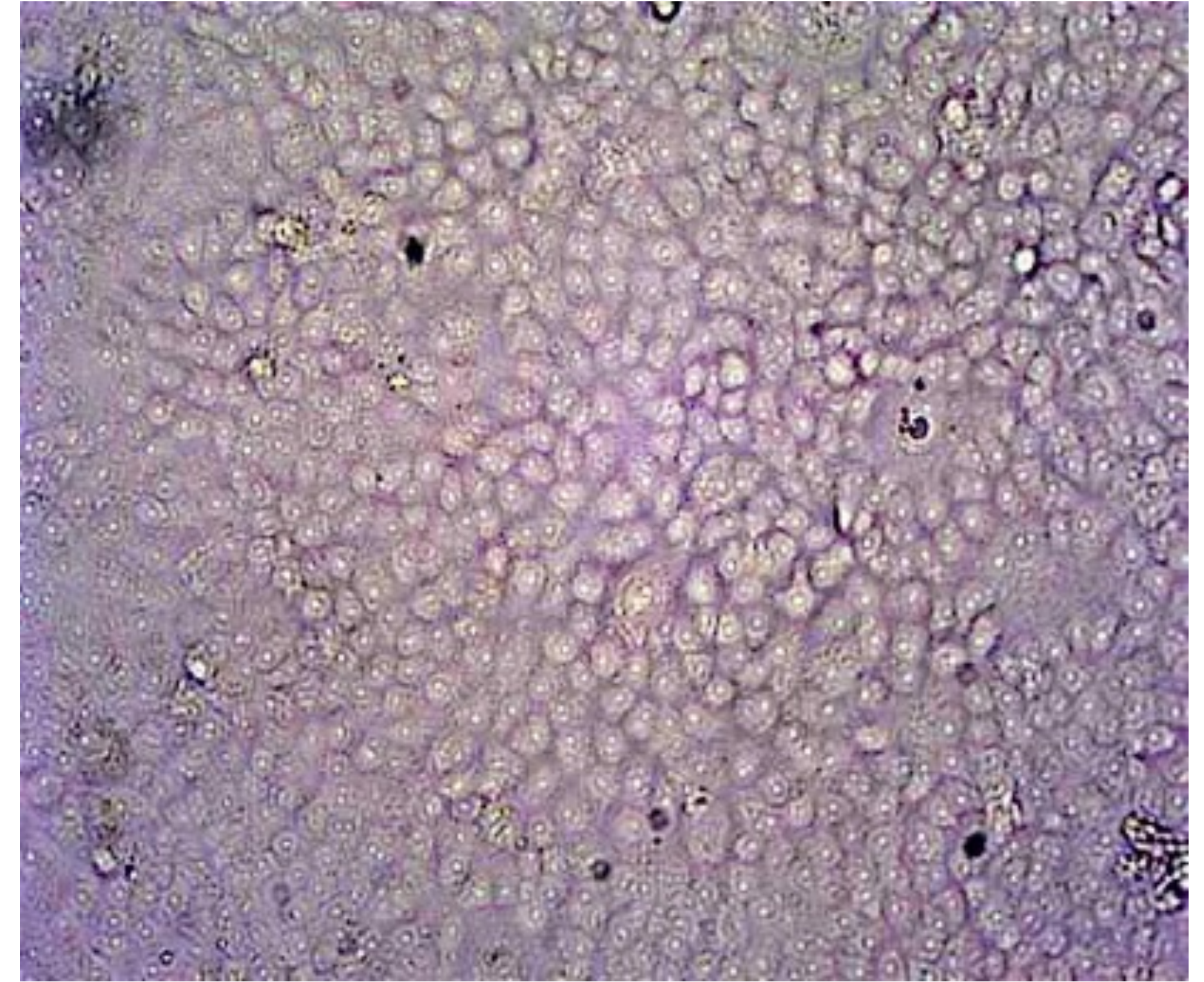
Рисунок 9 –  
Результаты  
исследования  
вирулицидной  
активности  
исследуемого  
раствора в  
отношении  
коронавируса  
суспензионным  
методом без  
белковой нагрузки



Рисунок 10 – Воздействие исследуемого раствора на коронавирус  
А – Инфицированная клеточная культура Vero E6, 2 сутки после заражения  
Б - Клеточная культура Vero E6 после инактивации коронавируса исследуемым раствором



А



Б



# Результаты исследования



## *2.6 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении аденовируса*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 6, на рисунках 11 и 12.

Из данных, представленных в таблице, на графике и фото, следует, что исследуемый раствор не инактивировал аденовирус во всех временных точках независимо от наличия белковой нагрузки.

**Таблица 6 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении аденовируса суспензионным методом**

Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	Нет	2,33±0,29	–	–
0		0,5±0,0	1,83	98,53
15		0,5±0,0	1,83	98,53
30		0,5±0,0	1,83	98,53
60		0,5±0,0	1,83	98,53



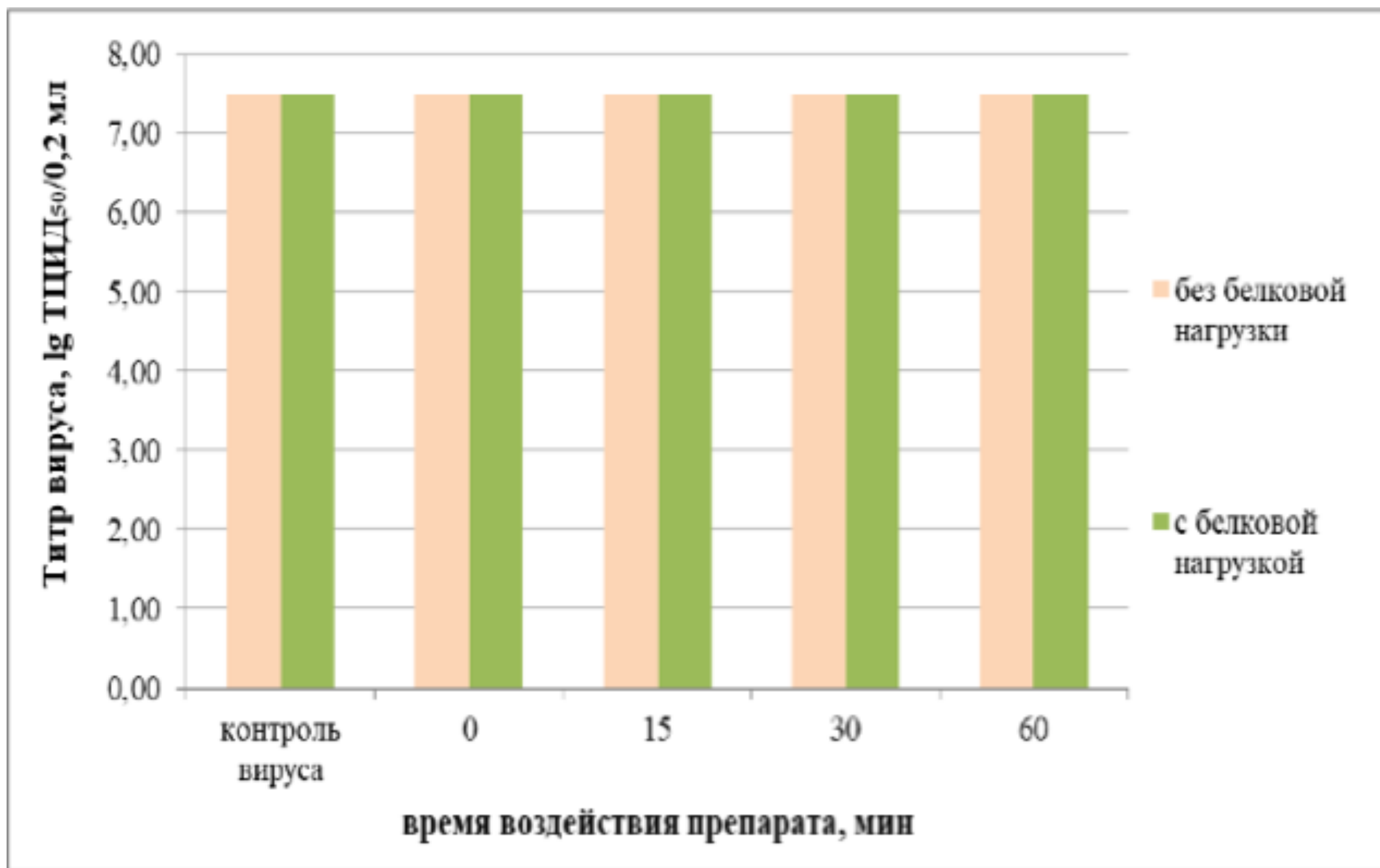
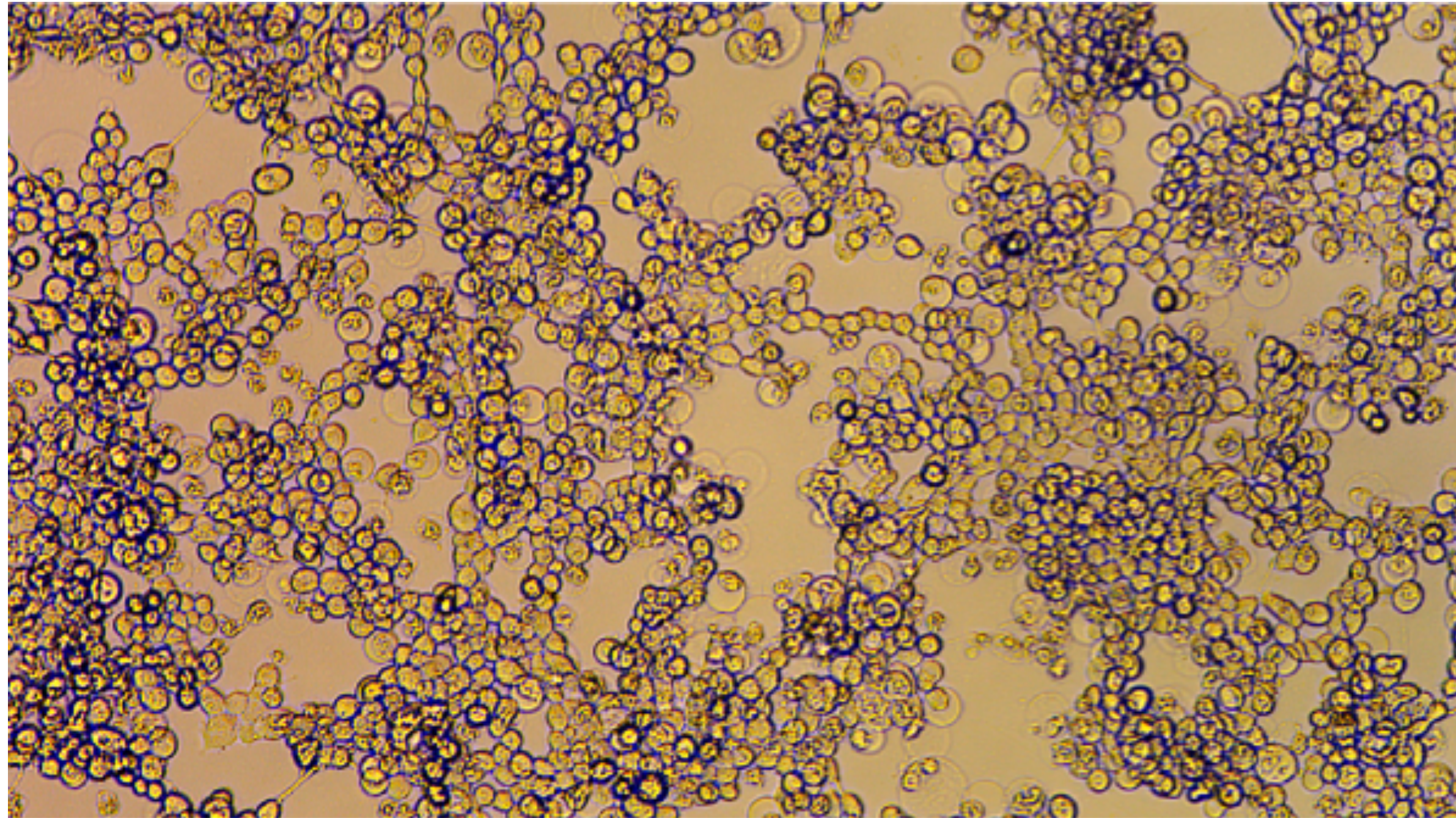


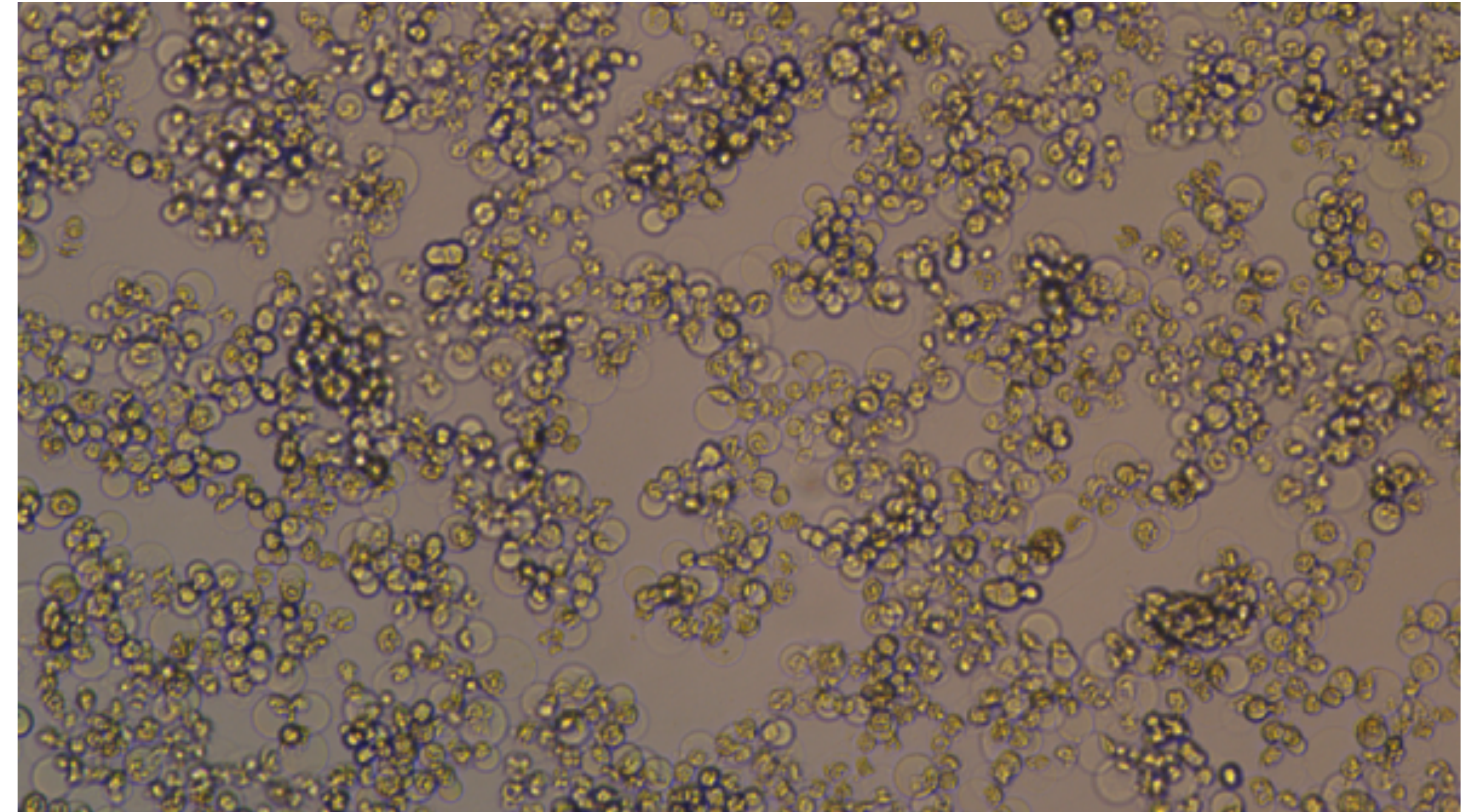
Рисунок 11 –  
Результаты  
исследования  
вирулицидной  
активности  
исследуемого  
раствора в  
отношении  
аденовируса  
сuspensionным  
методом с белковой  
и без белковой  
нагрузки



Рисунок 10 – Воздействие исследуемого раствора на коронавирус  
А – Инфицированная клеточная культура Vero E6, 2 сутки после заражения  
Б - Клеточная культура Vero E6 после инактивации коронавируса исследуемым раствором



А



Б



# Результаты исследования



## *2.7 Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса парагриппа*

В ходе проведения эксперимента оценивали титр вируса непосредственно после смешивания вируса с исследуемым препаратом, а также через 0, 15, 30 и 60 минут после начала инкубации. Результаты представлены в таблице 7, на рисунок 13 и 14.

Из данных, представленных в таблице и на графике, следует, что исследуемый раствор вызывал полную инактивацию вируса парагриппа, начиная с точки 0, независимо от наличия белковой нагрузки.

**Таблица 7 – Результаты исследования вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вируса парагриппа суспензионным методом**

Время воздействия препарата, минут	Белковая нагрузка	Среднее значение титра, IgТИД50	Разница по сравнению с контролем	% снижения инфекционной активности по сравнению с контролем
Контроль вируса	Нет	>7,5	–	–
0		>7,5	0,00	0,00
15		>7,5	0,00	0,00
30		>7,5	0,00	0,00
60		>7,5	0,00	0,00
Контроль вируса		Есть	>7,5	–
0	>7,5		0,00	0,00
15	>7,5		0,00	0,00
30	>7,5		0,00	0,00
60	>7,5		0,00	0,00



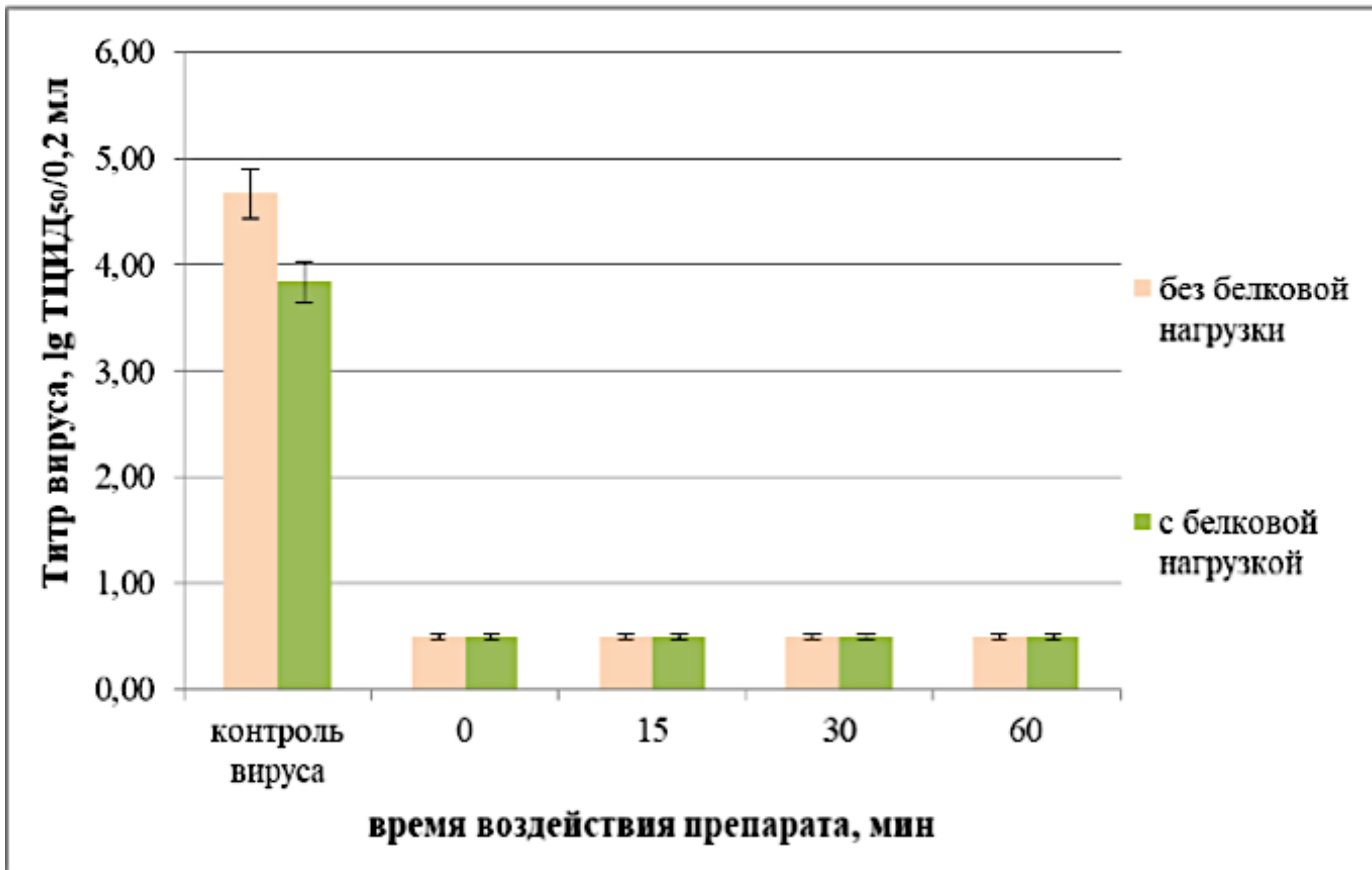
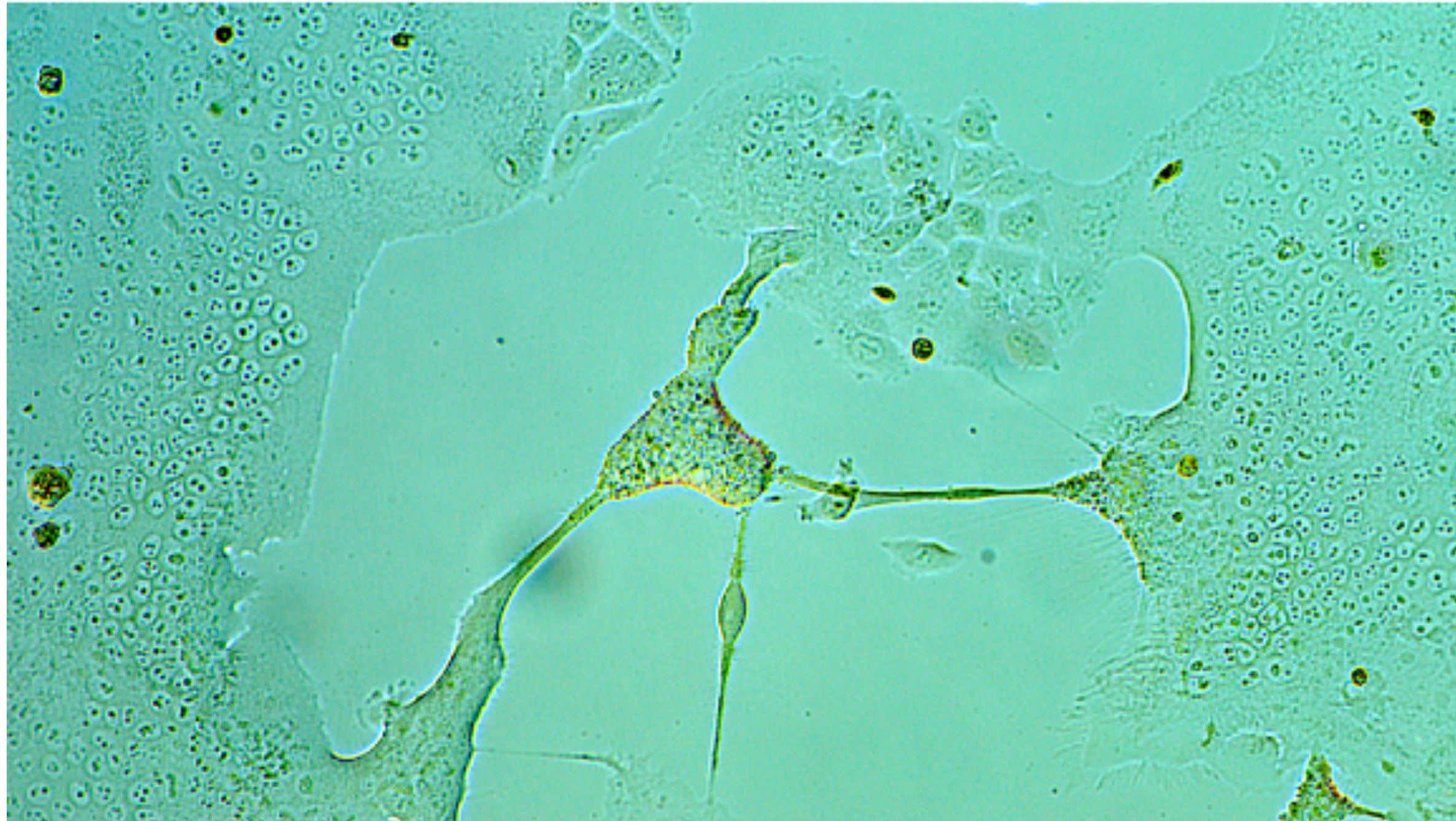


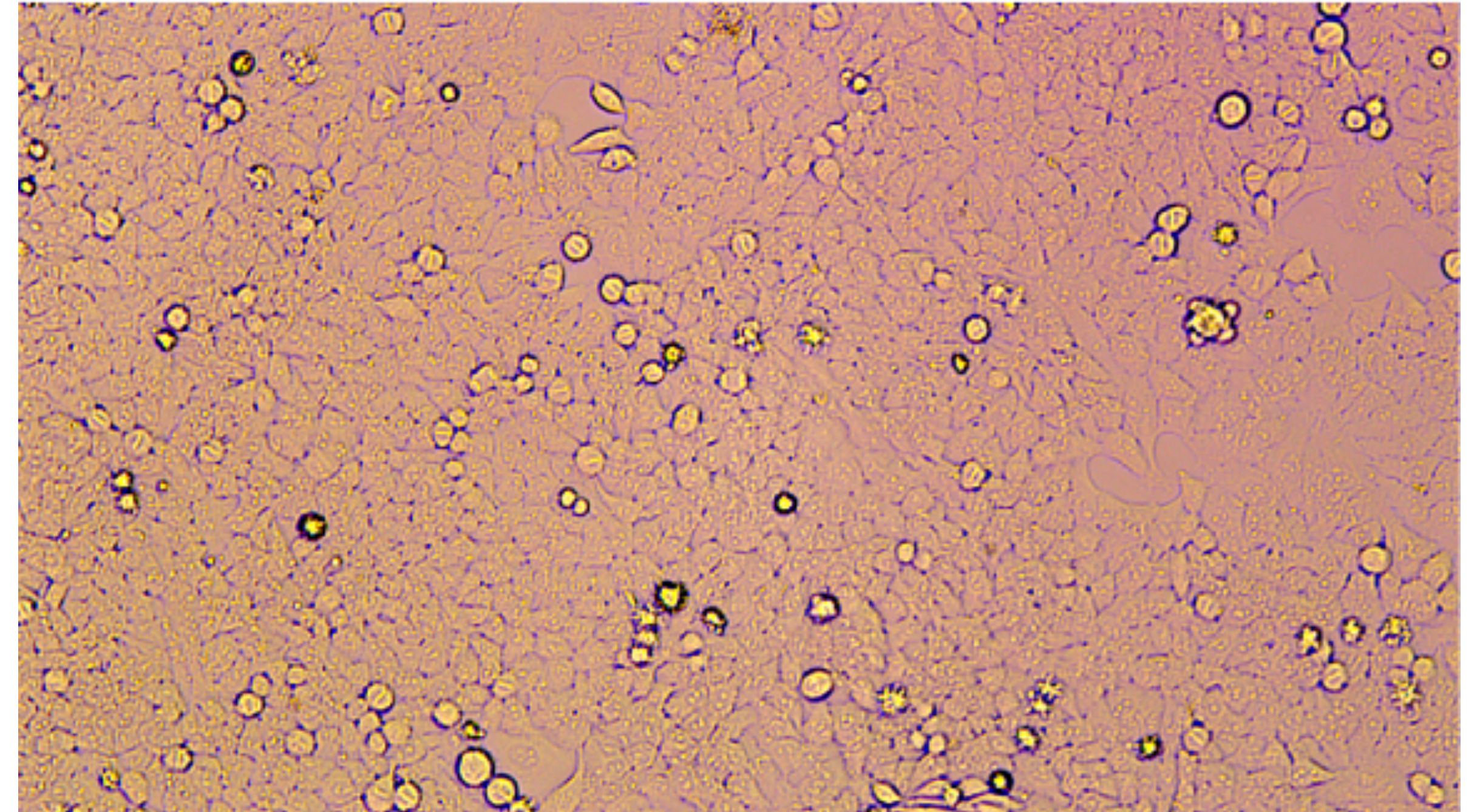
Рисунок 13 –  
 Результаты  
 исследования  
 вирулицидной  
 активности  
 исследуемого  
 раствора в  
 отношении вируса  
 парагриппа  
 суспензионным  
 методом  
 с белковой и без  
 белковой нагрузки



Рисунок 14 – Воздействие исследуемого раствора на Парагрипп 3 типа  
А – Инфицированная клеточная культура Нер-2, 24 часа после заражения  
Б - Клеточная культура Нер-2 после инактивации вируса парагриппа  
исследуемым раствором



А



Б



# Заключение



Было проведено исследование вирулицидной активности раствора для приготовления жевательного мармелада в отношении вирусов гриппа типа А и В, респираторно-синцитиального вируса, риновируса, коронавируса, аденовируса и вируса парагриппа.

Показано, что раствор для приготовления жевательного мармелада обладает выраженной вирулицидной активностью в отношении всех исследуемых вирусов, за исключением аденовируса. В опытах без белковой нагрузки происходила полная инаktivация исследуемых вирусов во всех временных точках забора материала (0, 15, 30 и 60 минут), за исключением аденовируса. В опытах с белковой нагрузкой у риновируса и коронавируса наблюдали отсутствие репликации вируса на культуре клеток, как в контрольных лунках, так и в лунках с исследуемым образцом. В связи, с чем невозможно оценить наличие вирулицидных свойств у данных вирусов при белковой нагрузке. В опытах с белковой нагрузкой у аденовируса было показано отсутствие вирулицидной активности у исследуемого раствора.

# Заключение



Поскольку, согласно методическим указаниям по оценке вирулицидной активности дезинфицирующих средств [9], «эффективным считают средство (субстанцию), обеспечивающее инактивацию вируса при времени воздействия не более 60 мин», то представляется возможным утверждать, что раствор для приготовления жевательного мармелада обладает эффективной вирулицидной активностью в отношении вирусов гриппа типа А и В, респираторно-синцитиального вируса, риновируса, коронавируса, а также вируса парагриппа при исследовании суспензионным методом.



# СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Gasparini R., Amicizia D., Lai P.L., Bragazzi N.L., Panatto D. Compounds with anti-influenza activity: present and future of strategies for the optimal treatment and management of influenza. Part I: influenza life-cycle and currently available drugs// Journal of preventive medicine and hygiene – 2014 - V55(3) - P.69-85.
2. Карпова Л. С., Смородинцева Е. А., Сысоева Т. И., Столярова Т. П., Поповцева Н. М., Столяров К. А., Даниленко Д. М., Цыбалова Л. М. Распространенность РС- вирусной инфекции и других ОРВИ не гриппозной этиологии у детей и взрослых в регионах России в 2014–2016 годах // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика – 2018 - No 2 (99), С.16-26.
3. David A. Jans and Reena Ghildyal (eds.), Rhinoviruses: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1221, DOI 10.1007/978-1-4939-1571-2, © Springer Science+Business Media - New York – 2015.
4. Центр по контролю и профилактике заболеваний: официальный сайт. URL: <https://www.cdc.gov/parainfluenza/symptoms.html> (дата обращения: 04.05.2023).
5. Центр по контролю и профилактике заболеваний: официальный сайт. URL: <https://www.cdc.gov/adenovirus/index.html> (дата обращения: 04.05.2023).
6. Электронный ресурс для врачей и пациентов: официальный сайт. URL: [https:// www.uptodate.com/contents/covid-19-epidemiology-virology-and-prevention](https://www.uptodate.com/contents/covid-19-epidemiology-virology-and-prevention)(дата обращения: 04.05.2023).
7. Острые респираторные заболевания // Дрейзин Р.С., Астафьева Н.В. – М.:Медицина, 1991. – С.52-67.
8. Reed, L.J. A simple method of estimating fifty percent endpoints // L.J. Reed, H. Muench / American Journal of Epidemiology. – 1938. – V.27. – P. 493-497.
9. Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств: Методические указания—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010 – 39 с.

# 1. ОПИСАНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ПРЕПАРАТА, ОПИСАНИЕ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА И СОСТАВ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Описание исследуемого препарата: Пастилки для жевания, рассасывания, проглатывания в целом виде; или другого способа применения местно в полости рта или внутрь, размером 2\*2\*1 см; правильной формы, квадратные по большему размеру и сглаженные с одной стороны, однородные с включениями, темно-зеленого цвета, не прозрачные, Рисунок 15.





# 1. ОПИСАНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ПРЕПАРАТА, ОПИСАНИЕ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА И СОСТАВ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

## Описание образцов для анализа:

Раствор-суспензия однородный с включениями, темно-зеленого цвета, не прозрачный.

Объем образца - 100 мл

## Состав образцов для анализа:

Стевия - 4,5%

Гуммиарабик - 6%

Ксилит - 1%

Сорбитол - 2%

Сок пихты - 4,5%

Имбирь - 0,75%

Кверцетин - 0,15%

Хвойный экстракт - 0,15%

Хлорофилл из шпината - 0,18%

Хлорофилл - 0,07%

Экстракт ламинарии - 0,04%

Паста хвойная - 0,15%

Лимонная кислота - 0,46%

Бензоат натрия - 0,23%

Ароматизатор натуральный ананас - 0,05%

Ароматизатор натуральный клубника - 0,05%

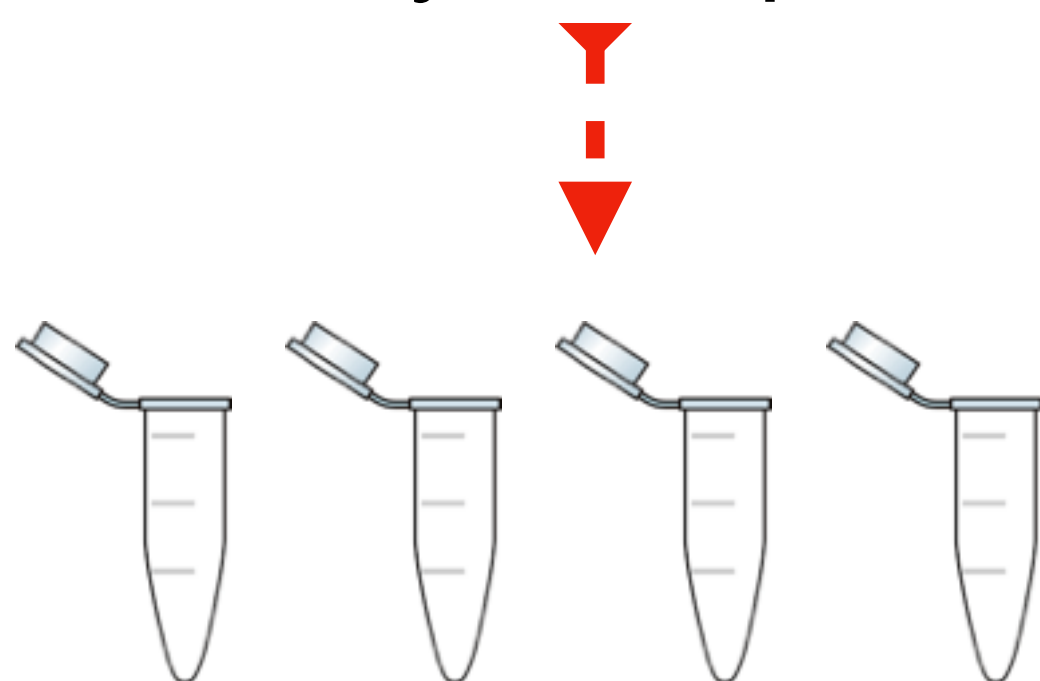
## 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Этап 1. Внесение в пробирки исследуемого раствора

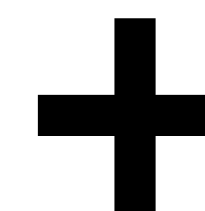
Опыт без белковой нагрузки



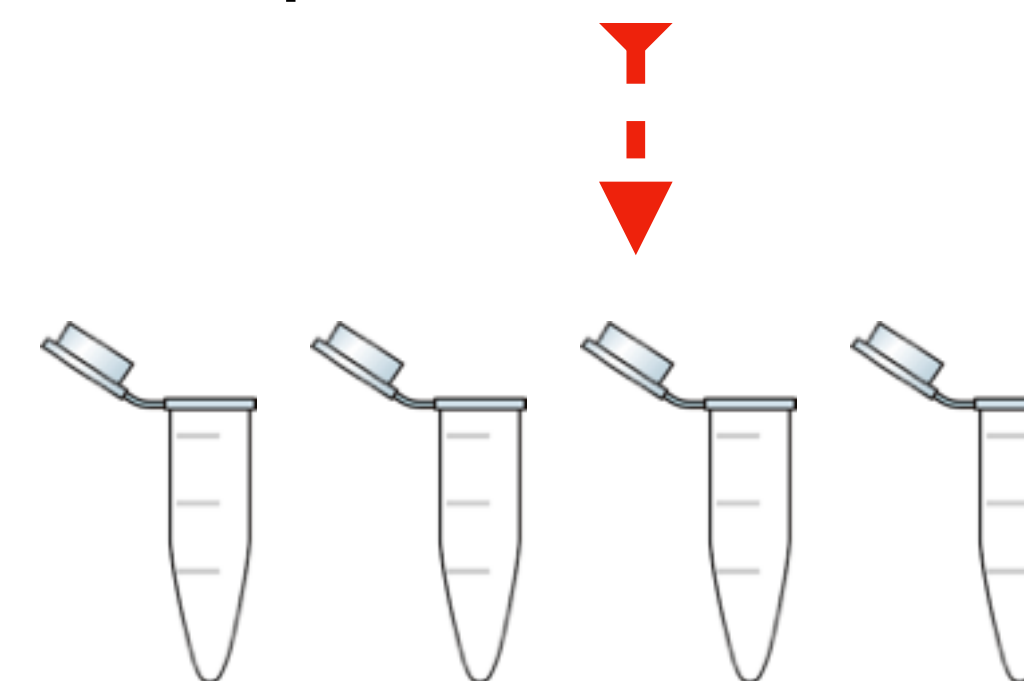
Исследуемый раствор



Опыт с белковой нагрузкой



Исследуемый раствор + инактивированная сыворотка





## 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Этап 2. Последовательное внесение тест-вируса в пробирки и инкубация содержимого пробирок 0, 15, 30 и 60 минут



Вирус + Исследуемый раствор

Вирус + исследуемый раствор + сыворотка

## 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Этап 3. Определение тест-вируса на чувствительной культуре клеток в 96-луночном планшете

3.1 Сброс ростовой среды с 96-луночных планшетов с клетками

3.2 Внесение 270 мкл поддерживающей среды

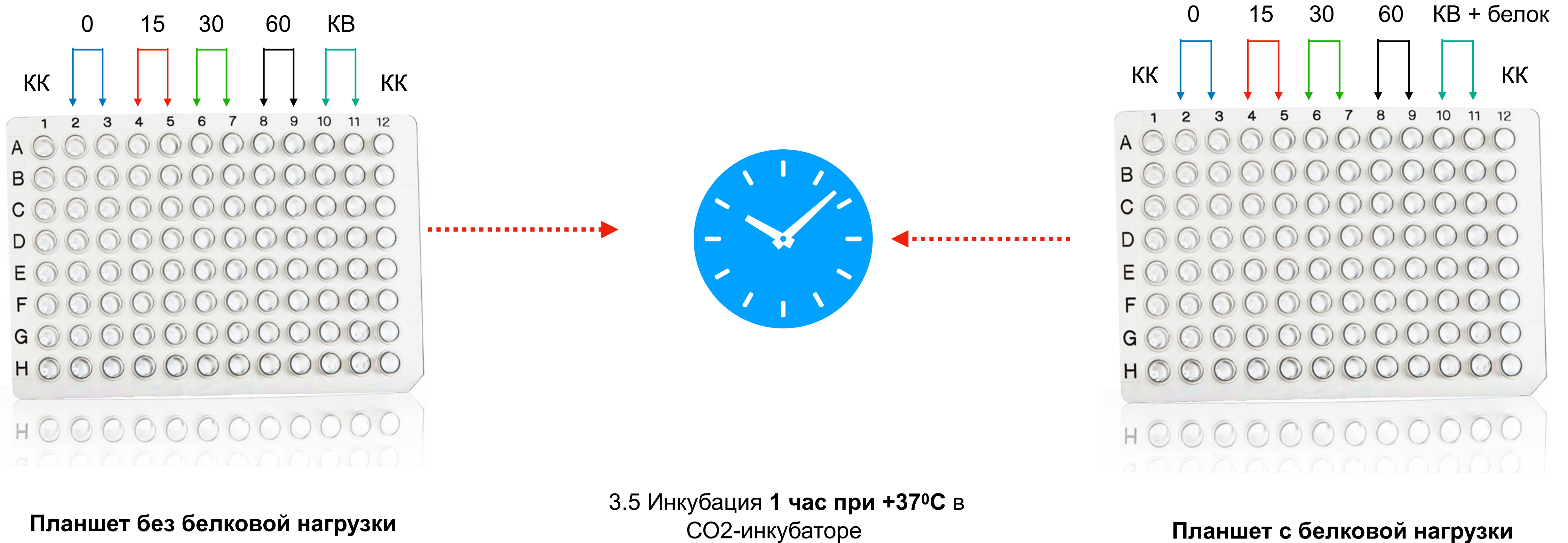
3.3 Внесение 30 мкл из каждого эппендорфа в ряд А1-А12 по 2 повтора на каждую пробирку

3.4 Растворка по 30 мкл с ряда А по ряд Г. Столбцы 1 и 12, а также ряд Н – это все клеточный контроль



## 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Этап 3. Определение тест-вируса на чувствительной культуре клеток в 96-луночном планшете



## 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

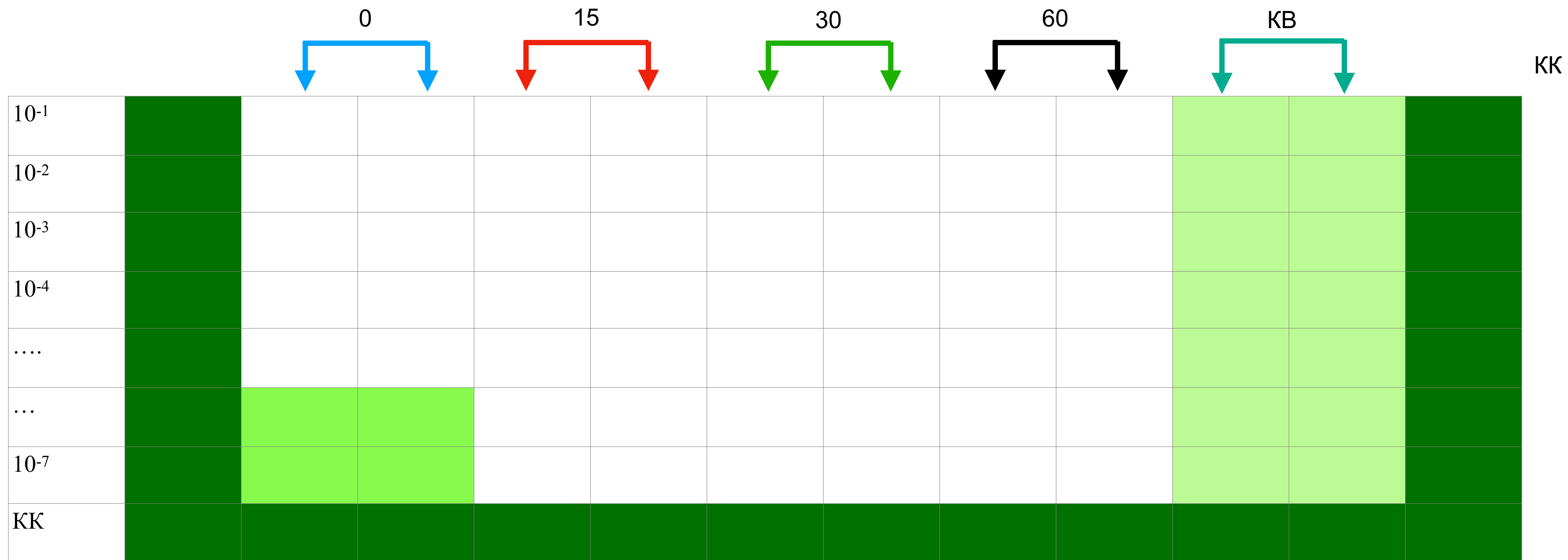
### 3.8 Снятие эксперимента

Тест-вирус	Срок инкубации, сутки	Метод детекции вируса
Грипп А	3	РГА
Грипп В	3	РГА
Аденовирус	5	МТТ
Риновиррус	6	ЦПД
РСВ А2	6	ИФА
Парагрипп 3 типа	6	ИФА
Коронавирус	3	ЦПД



## 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

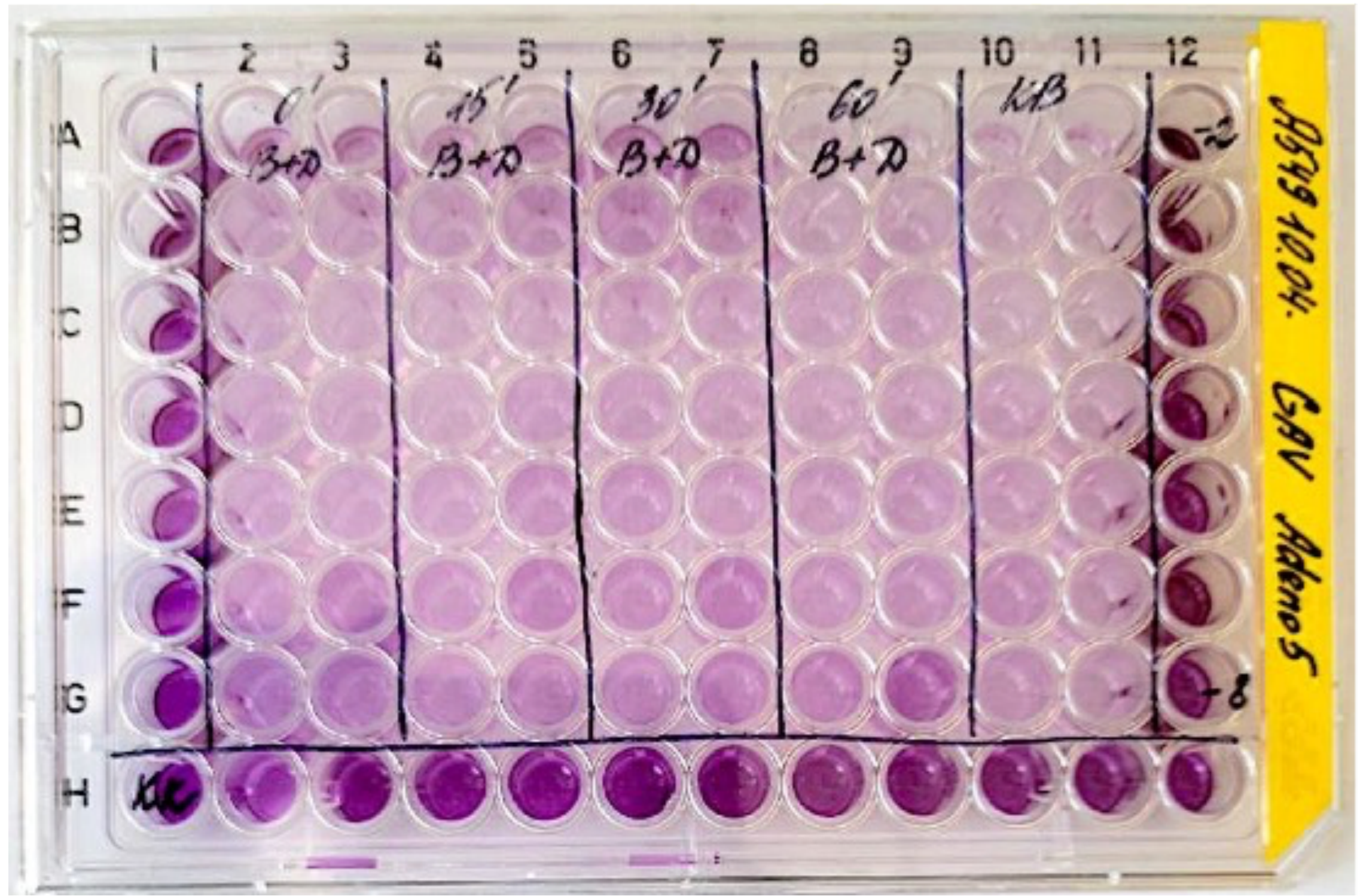
### 3.8 Снятие эксперимента



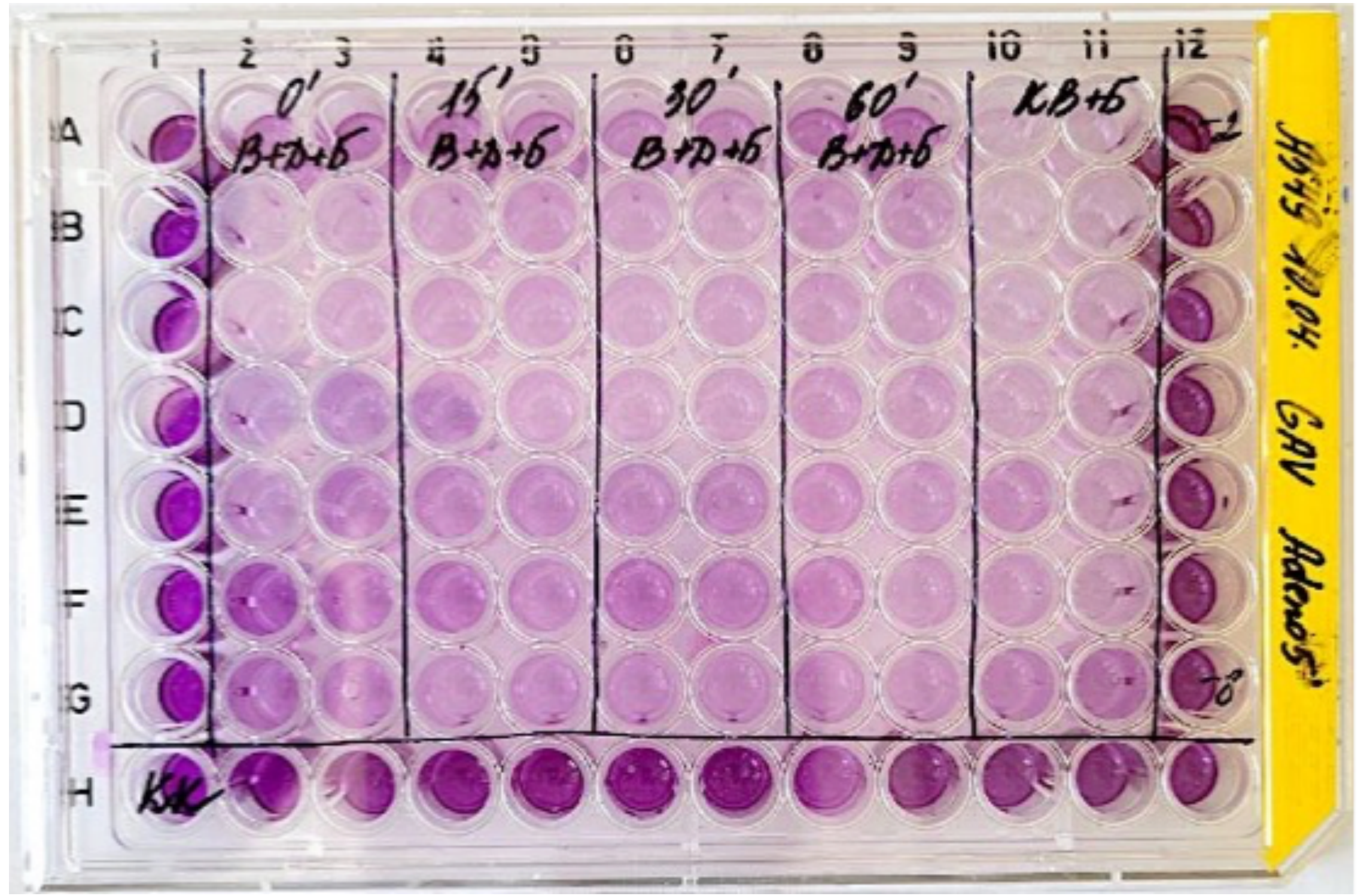
\*КК – контроль клеток (=отрицательный контроль)



**3. ФОТОГРАФИИ РАБОЧИХ ПЛАНШЕТОВ, ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА БЕЗ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ/С БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКОЙ**



А

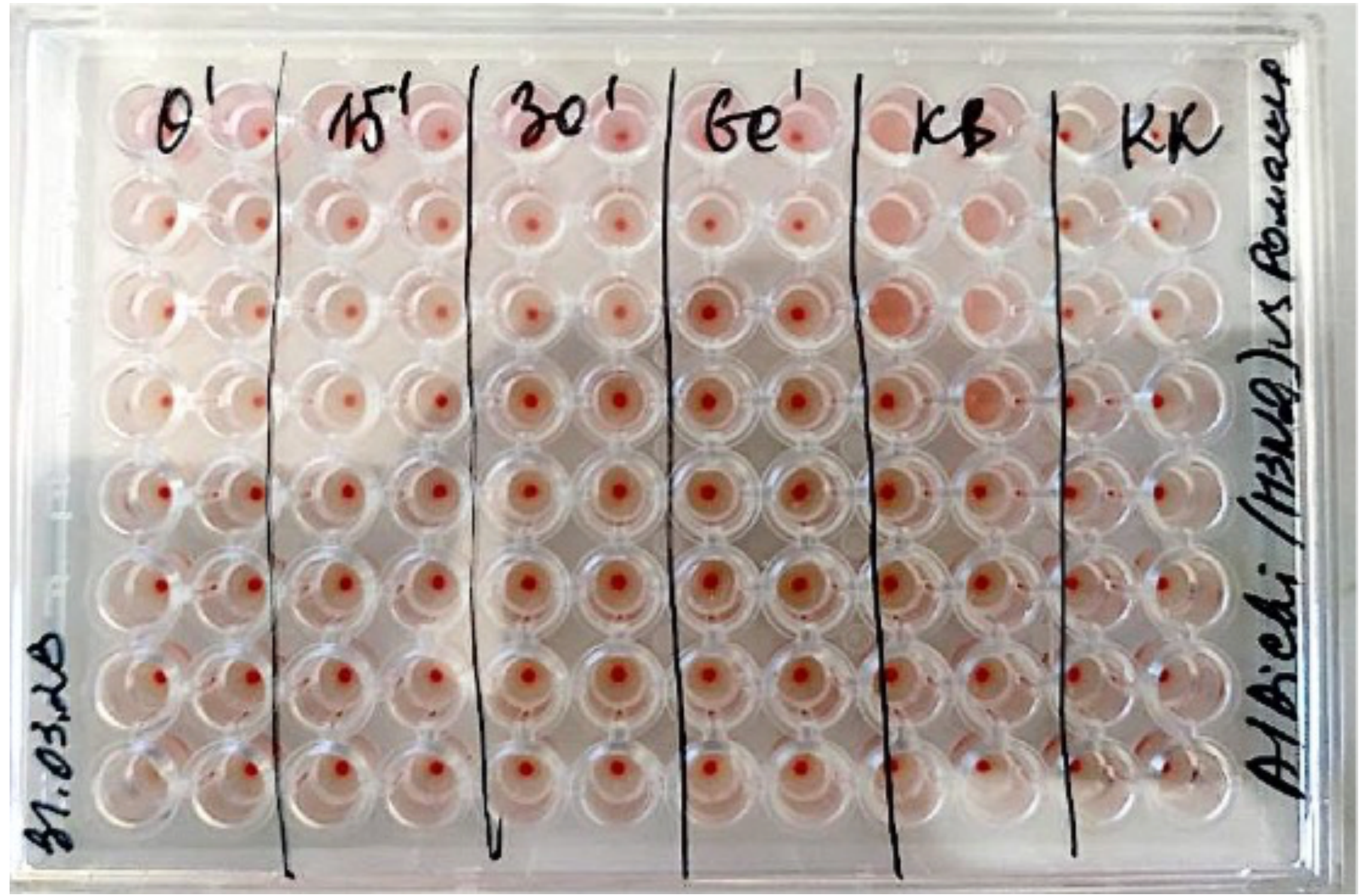


Б

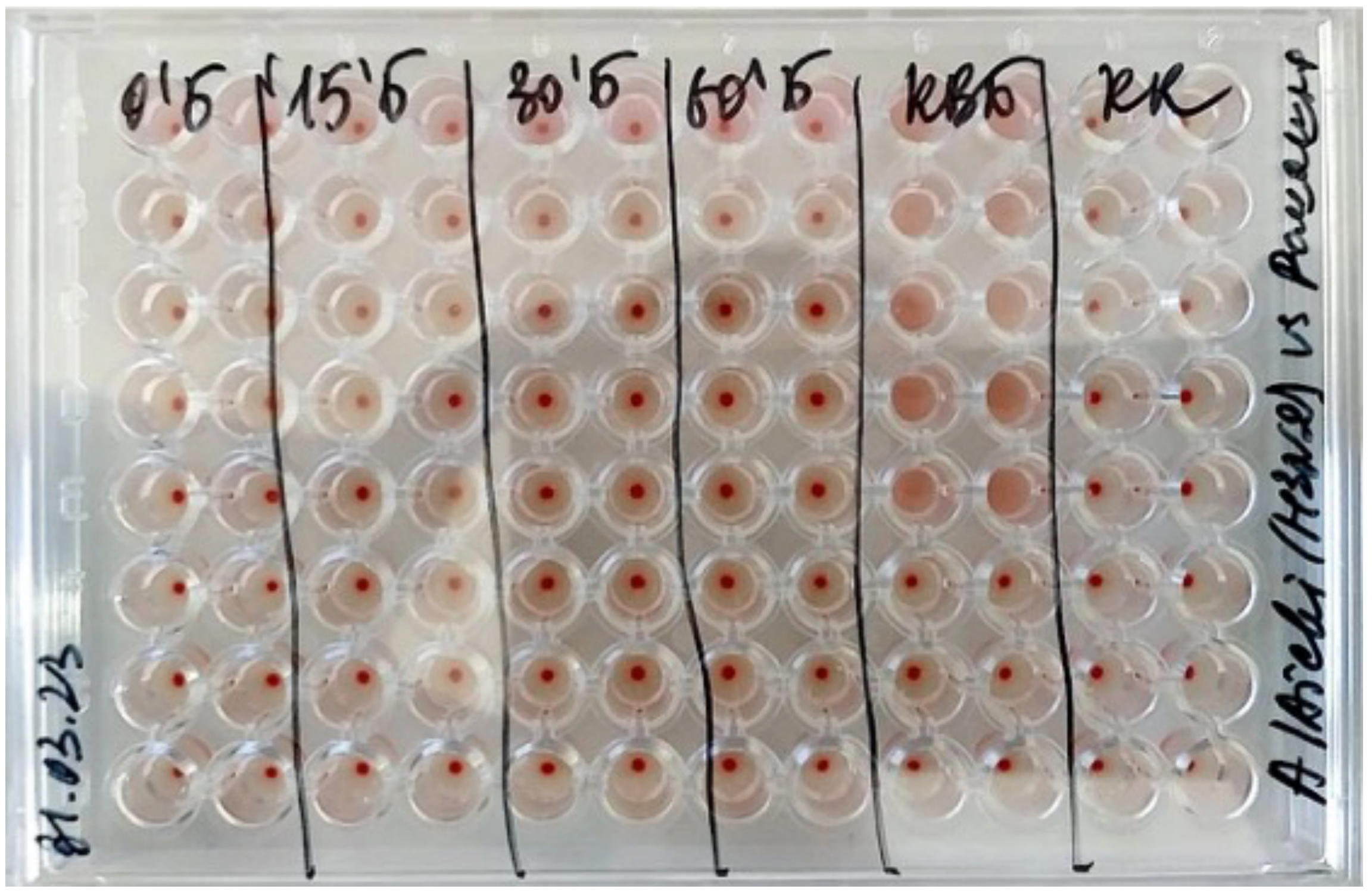
Рисунок 16. Оценка вирулицидной активности в отношении аденовируса 5 типа на культуре клеток А549 методом МТТ. А - без белковой нагрузки, Б - с белковой нагрузкой



**3. ФОТОГРАФИИ РАБОЧИХ ПЛАНШЕТОВ, ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА БЕЗ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ/С БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКОЙ**



А

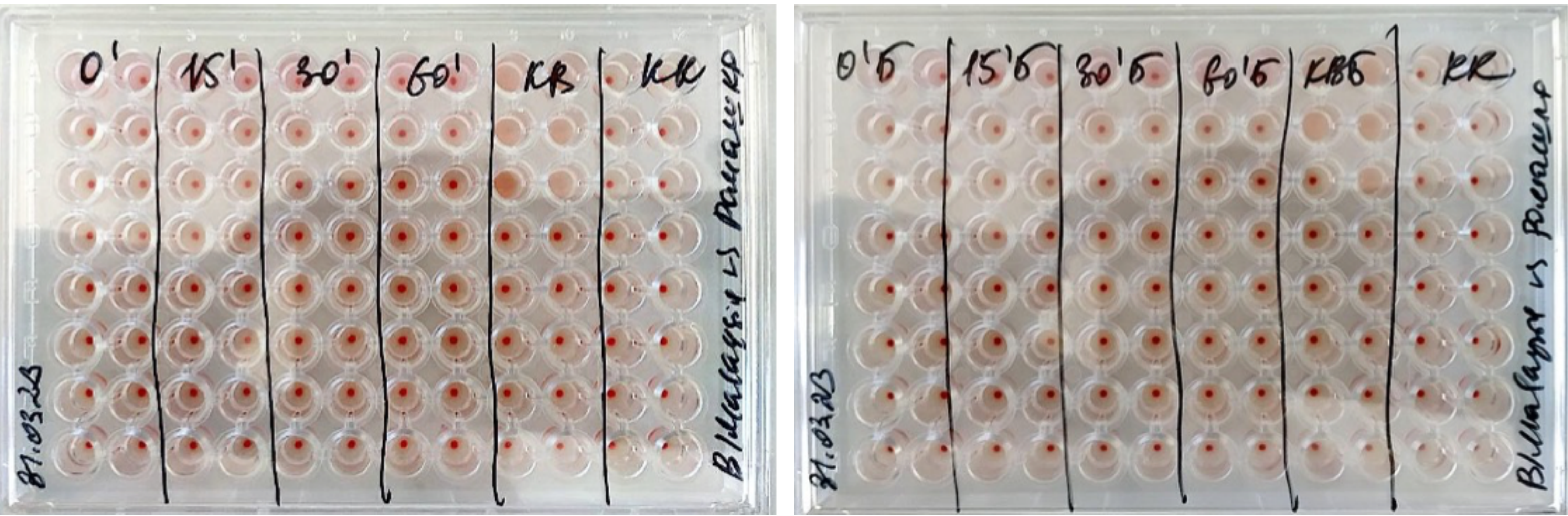


Б

Рисунок 17. Оценка вирулицидной активности в отношении вируса гриппа А на культуре клеток MDCK методом РГА. А - без белковой нагрузки, Б - с белковой нагрузкой



**3. ФОТОГРАФИИ РАБОЧИХ ПЛАНШЕТОВ, ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА БЕЗ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ/С БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКОЙ**



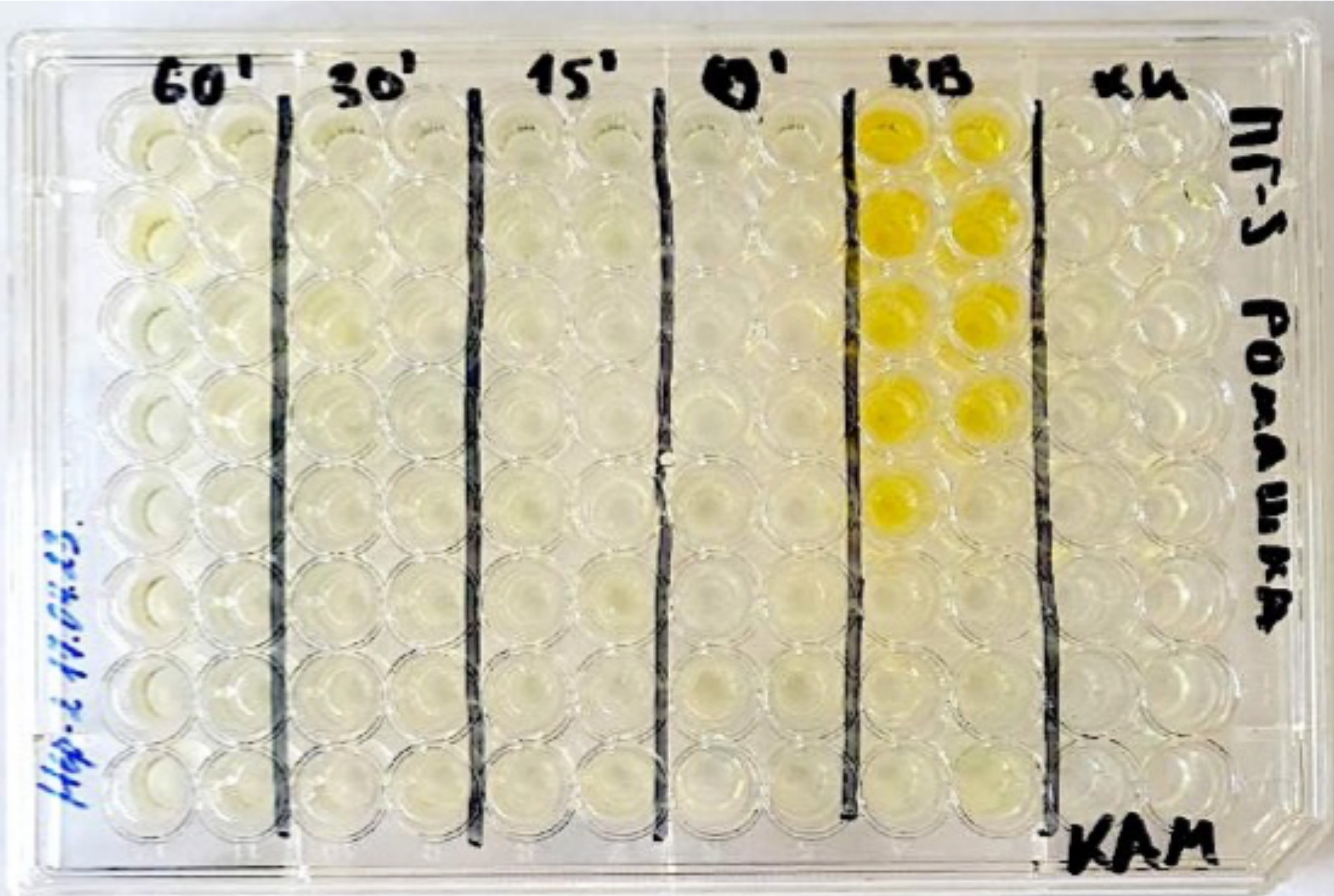
А

Б

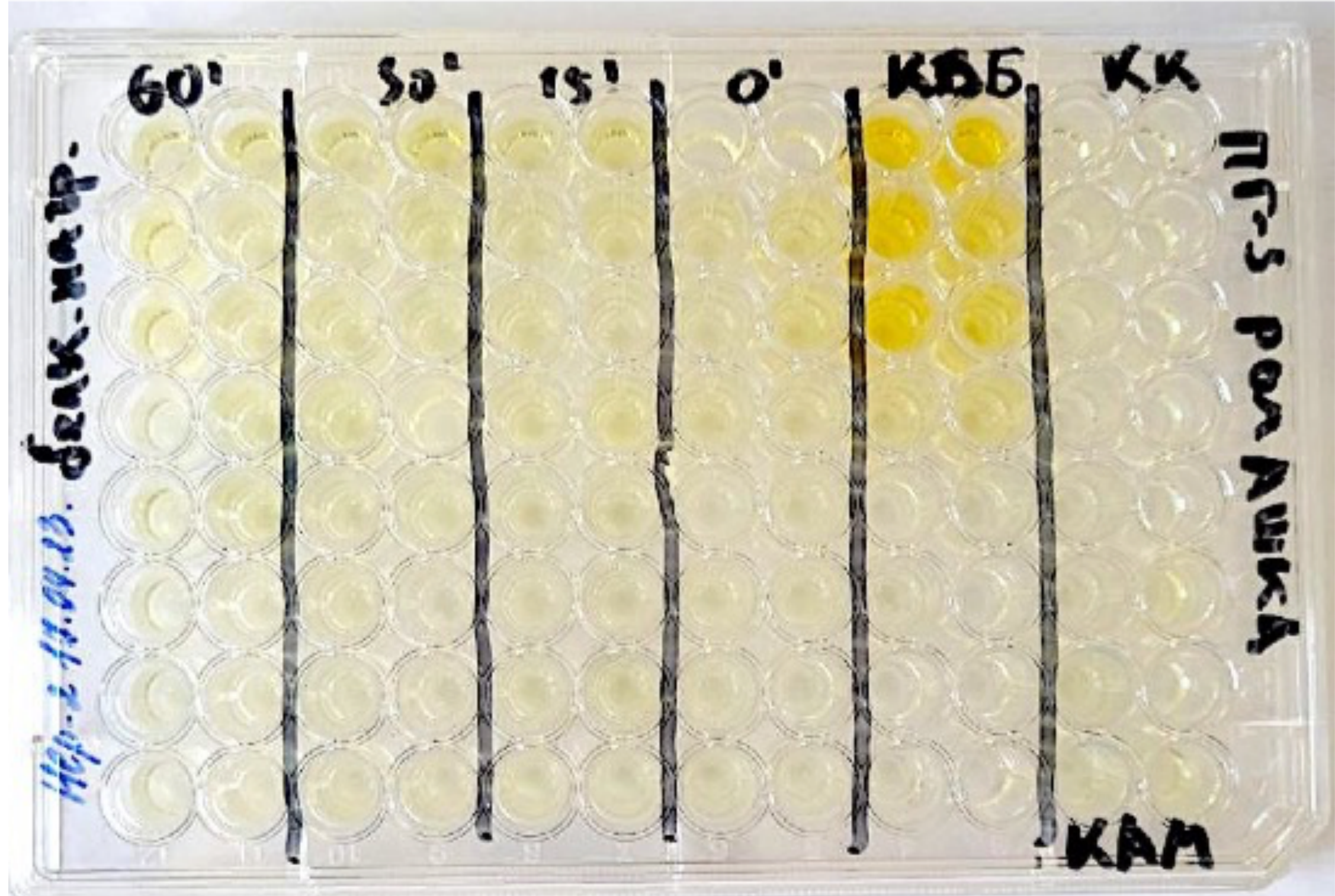
Рисунок 18. Оценка вирулицидной активности в отношении вируса гриппа В на культуре клеток MDCK методом РГА. А - без белковой нагрузки, Б - с белковой нагрузкой



**3. ФОТОГРАФИИ РАБОЧИХ ПЛАНШЕТОВ, ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА БЕЗ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ/С БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКОЙ**



А

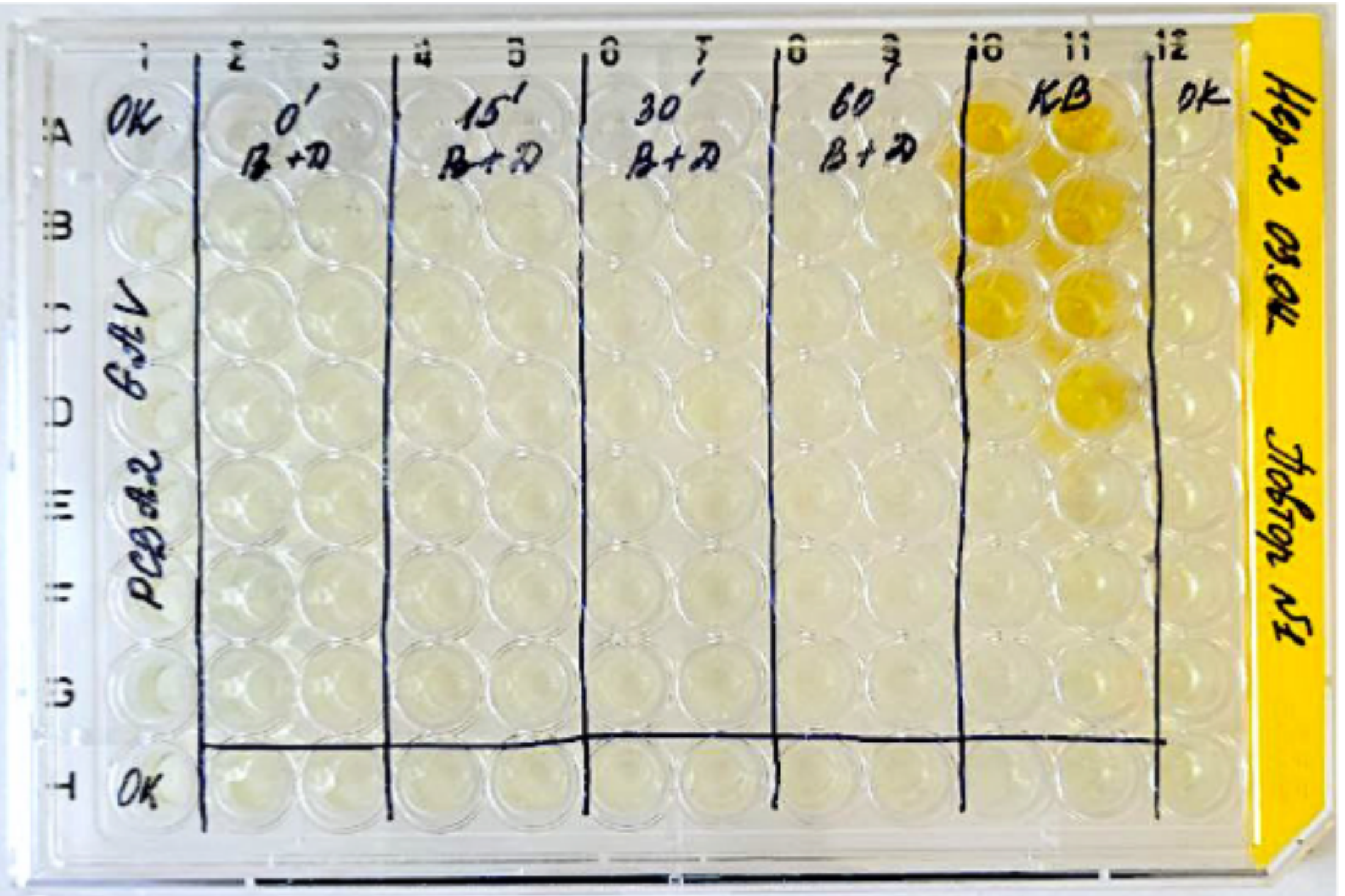


Б

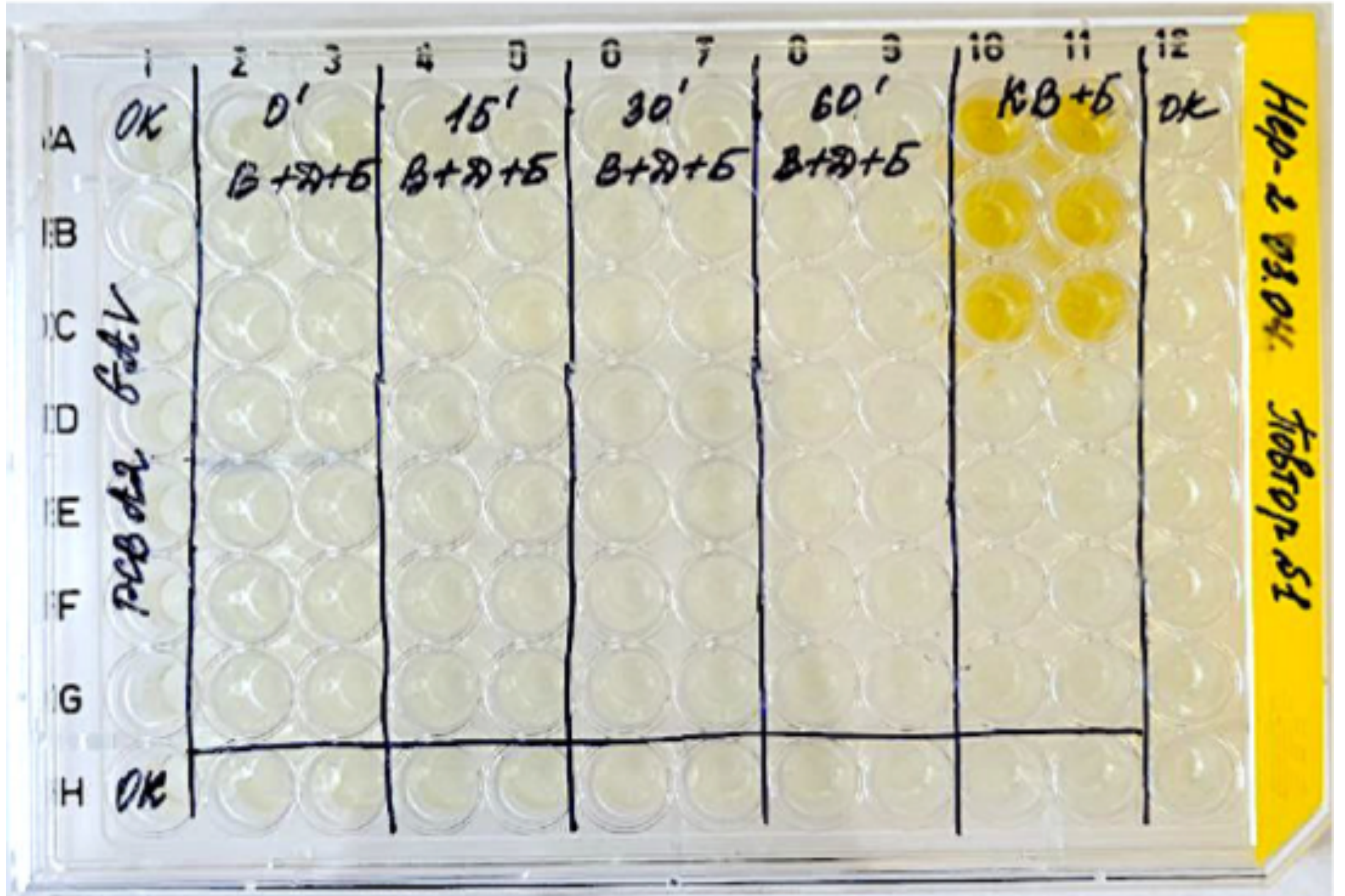
Рисунок 19. Оценка вирулицидной активности в отношении вируса парагриппа типа 3 на культуре клеток Нер-2 методом ИФА. А - без белковой нагрузки, Б - с белковой нагрузкой



### 3. ФОТОГРАФИИ РАБОЧИХ ПЛАНШЕТОВ, ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА БЕЗ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ/С БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКОЙ



А

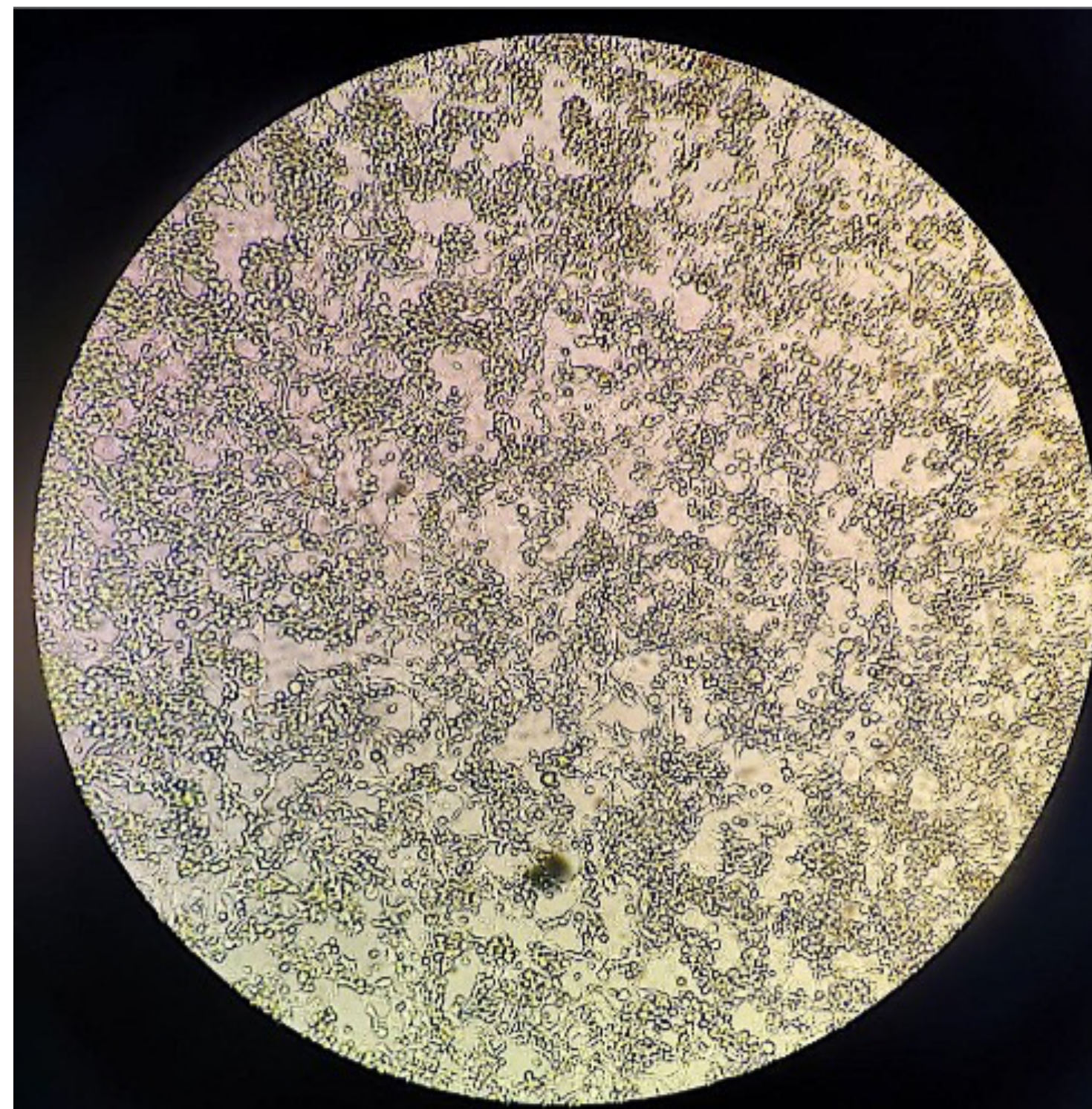


Б

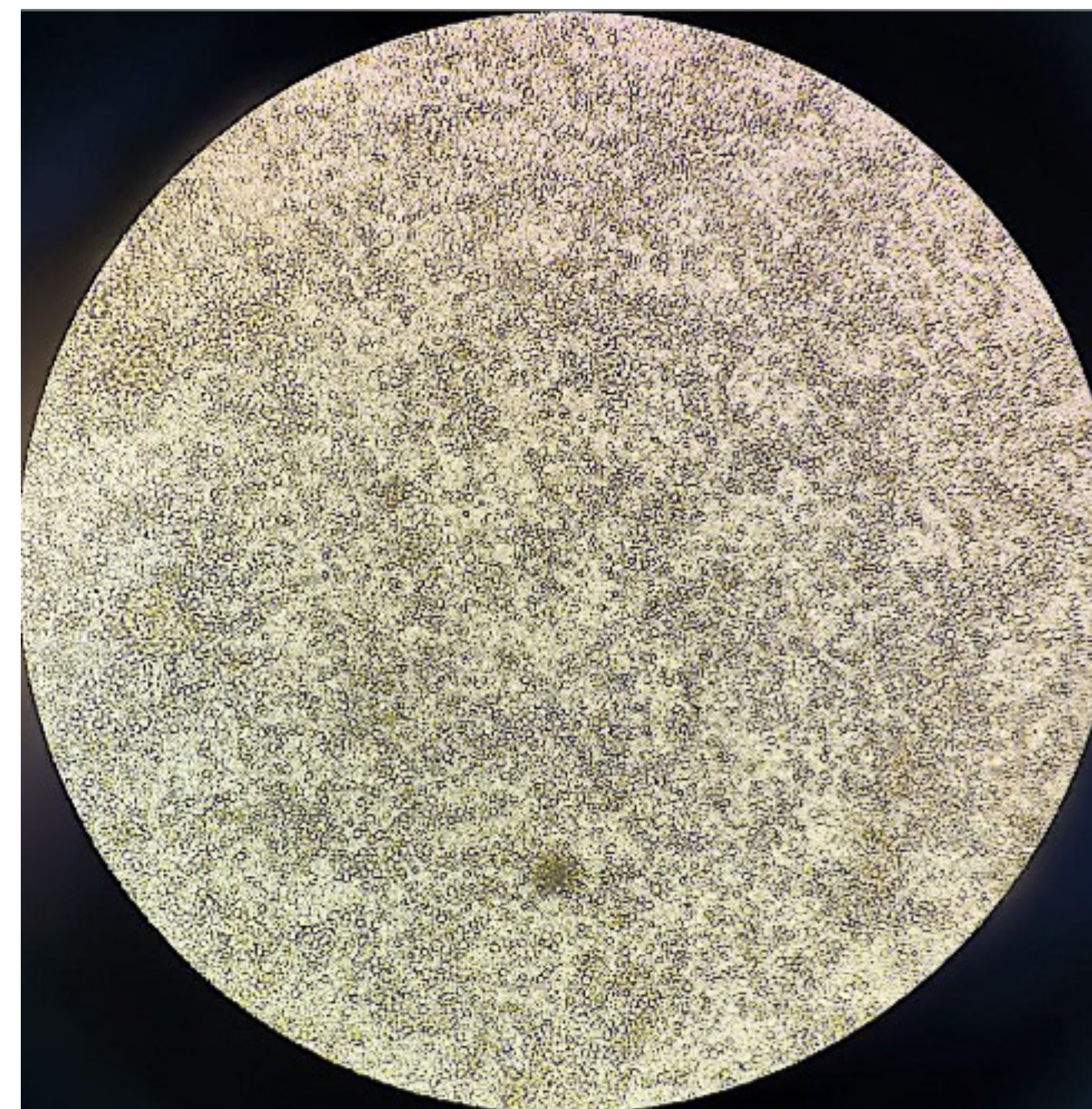
Рисунок 20. Оценка вирулицидной активности в отношении респираторно-синцитиального вируса на культуре клеток Нер-2 методом ИФА. А - без белковой нагрузки, Б - с белковой нагрузкой



### 3. ФОТОГРАФИИ РАБОЧИХ ПЛАНШЕТОВ, ОЦЕНКА ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОГО МАРМЕЛАДА БЕЗ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ/С БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКОЙ



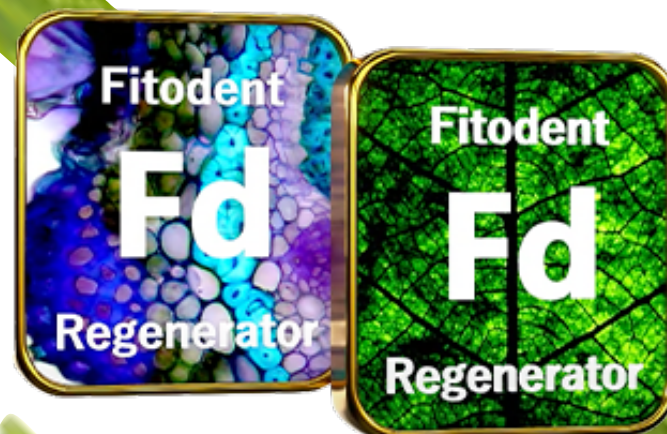
А



Б

Рисунок 20. Визуальная оценка вирулицидной активности исследуемого раствора на культуре клеток Нер-2 в одной из лунок опытного планшета. А - ЦПД риновируса в одной лунке контроля вируса, Б - клеточная культура Нер-2 после инактивации вируса парагриппа исследуемым раствором в одной из лунок





# Спасибо за внимание!