

Министерство здравоохранения Украины  
Киевский научно-исследовательский институт эпидемиологии и  
инфекционных болезней им. Л.В. Госмашевского

ОТЧЕТ

Изучить антивирусную и интерферогенную активность  
препарат КС-1

научный руководитель  
докт. мед. наук С.Л. Рыбалко



Подпись д.м.н. С.Л. Рыбалко

подтверждаю

Зав. отделом кадров КНИИЗИБ

З.А. Слэшук



## Изучить антигерпетическую активность препарата КС-1

Для изучения антигерпетического действия препарата КС-1 была использована модель герпетического менингоэнцефалита. Данная модель удобна для оценки выраженности с имптоматики, отличается 100% воспроизводимостью и не требует применения дополнительных контролей. Развитие клинических симптомов заболевания в контроле начиналось на 5-6 сутки с момента инфицирования, достигало максимума к 13-14 суткам и далее отмечалось уменьшение выраженности симптоматики с последующим клиническим выздоровлением выживших животных. Наличие острой герпетической инфекции подтверждено с помощью иммунофлуоресценций. Так, наиболее интенсивное свечение наблюдалось в тканях головного мозга (особенно в стволовых отделах), которое появлялось через 6-7 суток с момента инфицирования, что соответствует моменту появления клинических признаков заболевания. Менее интенсивное свечение (+ или ++ ) отмечалось в селезенке и отсутствовало в печени и легких. Летальность животных, инфицированных вирусом герпеса простого, составляла 100%.

Для моделирования экспериментальной герпетической инфекции использовали вирус герпеса простого. Вирус прошел в лаборатории 19 пассажей через мозг белых мышей. До использования в опыте вирус сохраняли в 50 % растворе глицерина на фосфатном буферном растворе при температуре - 10 - 15 °С.

В опытах были использованы белые беспородные мыши весом 14-16 г. Вирусосодержащий материал вводили мышам внутрь мозга в объеме 0,03 мл. Величина заражающей дозы в опытах равнялась 1-10 ЛД<sub>50</sub> (мышиных летальных доз).

Препарат КС-1 вводили однократно в разведении 1:100 по 0,25 мл внутримышечно одновременно с вирусом герпеса.

Каждый опыт включал 3 группы мышей:

- 1 - мыши, которым вводили испытуемый препарат + вирус герпеса;
- 2 - мыши, которым вводили виролекс + вирус герпеса;
- 3 - мыши, которым вводили физиологический раствор + вирус герпеса.

В качестве референс-препарата использовали виролекс, производства фирмы KRKA (Словения).

Оценку активности препарата проводили путем сравнения летальности мышей в опытной и контрольной группах. При этом учитывали:

- процент летальности животных;
- кратность защиты (КЗ) - кратность уменьшения количества павших мышей в опытной группе по сравнению с контрольной;
- индекс эффективности (ИЭ) препарата вычисляли по формуле:

$$ИЭ = \frac{\text{кратность защиты} - 1}{\text{кратность защиты}} \times 100$$

Активность препарата была изучена при совместном введении препарата и вируса герпеса. Результаты приведены в таблице 1

Таблица 1

Активированное действие препарата КС-1 при совместном введении мышам с вирусом герпеса

Препарат	Доза	К-во мышей	Из них пали:		КЗ	ИЭ
			всего	%		
КС-1	1:100	14	4	28.5	3.5	71,14
Виролекс	100 мкг/мл	14	4	28.5	3.5	71,14
Плацебо	-	14	14	100	-	-

При совместном введении белым беспородным мышам препарата КС-1 и вируса герпеса препарат оказывал антивирусный эффект на уровне виролекса.

## Интерферогенная активность препарата КС-1

Интерферогенную активность препарата КС-1 исследовали в экспериментах *in vitro*. Для этого были использованы лейкоциты доноров человека. К 3 мл последних добавляли 0,1 мл препарата в определенной концентрации, инкубировали смесь при 37 °С течение 18 часов. Затем в надосадочной жидкости определяли активность интерферона по методу подавления цитопатогенного действия вируса ветряночного стоматита в гомологичной перевиваемой культуре клеток L 41 (лимфобластоидные клетки человека). Культуру клеток выращивали в среде роста, состоящей из питательной среды 199 и Игла (в соотношении 1:1), 10 % инактивированной в течение 30 минут при 56 °С сыворотки крови крупного рогатого скота, антибиотиков.

К монослою выращенных клеток добавляли разведения культуральной жидкости (после инкубации с лейкоцитами), содержащей препарат, и инкубировали при 37 °С в течение 24 часов, после чего надосадочную жидкость удаляли и носили вирус ветряночного стоматита (ВВС) в дозе 100 ТЦД 50/0,1 мл. В качестве контролей служили культуры клеток, обработанные ВВС и клетки, не подвергавшиеся никакой обработке. Опытные и контрольные культуры инкубировали при 37 °С в течение 24 часов. В качестве препарата сравнения использовали препарат поли И; поли Ц. Определение активности интерферона осуществляли через 24 часа, когда доза внесенного ВВС вызывала полную дегенерацию клеток в контроле вируса, при отсутствии дегенерации в контрольной, неинфицированной культуре. За титр интерферона принимали величину, обратную разведению препарата, при котором клеточная культура в 50 % пробирок была полностью защищенной от цитопатогенного действия ВВС.

Результаты изучения интерферогенной активности препарата КС-1 представлены в таблице 2.

## Интерфероногенная активность препарата КС-1

Препарат	Доза препарата	Активность интерферона и ед. акт. мл
КС-1	1:1000	410
полиИ:полиД	10 мкг/мл	2560-5120

Таким образом, препарат КС-1 обладает определенной интерфероногенной активностью.

## Изучение анти-ВИЧ активности препарата КС-1

Для оценки антивирусной активности исследуемого препарата КС-1 использовали традиционную модель первично-инфицированных клеток МТ-4. Штамм ВИЧ-1 получен из института вирусологии им.Д.И.Ивановского РАМН. Инфицирование клеток МТ-4 ВИЧ-1 проводили добавлением к клеточной суспензии с концентрацией  $2 \times 10^6$  клеток/мл и множественностью заражения 1,0 Ig ID50. Ингибирующий эффект препарата оценивали на 5-е сутки культивирования по количеству вирусного антигена иммуноферментным методом (тест-система Vironostika HIV-1 antigen, Organon) и по инфекционному титру ВИЧ.

Исследования проводили с препаратом КС-1 в разведении 1:250 на пробу. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. - Влияние препарата КС-1 на репродукцию ВИЧ в культуре клеток МТ-4

Препараты	Экспрессия ВИЧ, титр	Инфекционный титр в Ig
	p24	ID50
КС-1	60	3,0
Контроль ВИЧ	360	4,0

В результате проведенных исследований было установлено, что препарат КС-1 ингибирует экспрессию генома ВИЧ и несколько снижает его инфекционный титр.

Изучение антимикробной активности препарата  
"Этвозолет натрия" / КС-1 /

Исследование проведено методом двукратных серийных разведений  
в жидкой питательной среде /МПБ/. В качестве тест-микробов исполь-  
зовали эталонные штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Escheri-  
chia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и грибы  
*Candida albicans* № 885.

В результате проведенных исследований установлена следующая ми-  
нимальная ингибирующая концентрация / MIC/мл / препарата КС-1:

для *S. aureus* - 1:1024

для *E. coli* - 1:128

для *P. aeruginosa* - 1:128

для *C. albi-  
cans* - 1:256

Гл. н. с. лаборатории общей  
микробиологии КНИИЭИБ  
доктор мед. наук

*А. В. Шапиро*

А. В. Шапиро

4 февраля 1999 г.