

# Противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении возбудителя ротавирусной инфекции человека *in vitro*

Е. Б. ФАЙЗУЛОВЕВ<sup>1</sup>, И. А. ЛЕНЁВА<sup>1</sup>, В. С. СМИРНОВ<sup>2</sup>, Д. И. СМИРНОВА<sup>1</sup>,  
А. В. ГРАЧЕВА<sup>1</sup>, Е. Р. КОРЧЕВАЯ<sup>1</sup>, Д. М. ХОХЛОВА<sup>1</sup>, \*Т. А. КУДРЯВЦЕВА<sup>3</sup>,  
С. В. ПЕТЛЕНКО<sup>4</sup>, В. А. ЗАПЛУТАНОВ<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

<sup>2</sup> ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> АННО ВО НИЦ Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

## Резюме

**Введение.** Ротавирусная инфекция ежегодно вызывает более 250 млн эпизодов острых гастроэнтеритов, из которых примерно 130 000 случаев у детей в возрасте до 5 лет заканчиваются летально. В связи с этим, поиск препаратов для лечения ротавирусной инфекции представляется крайне актуальным. **Цель работы** — оценить противовирусную активность препарата «Цитовир®-3» в отношении ротавируса человека на клеточной модели инфекции. **Материал и методы.** Объектами исследования являлись смесь активных действующих веществ и отдельных компонентов, идентичных по составу и соотношению, содержащиеся в лекарственном препарате «Цитовир®-3». Исследование проводилось с использованием культуры клеток почки обезьяны MA-104 и лабораторного штамма ротавируса группы А человека — 568, генотип G3P. При выполнении работы были использованы культуральные, вирусологические, молекулярно-биологические и статистические методы. **Результаты и обсуждение.** Анализ выживаемости клеток MA-104 в присутствии препарата «Цитовир®-3» показал, что в диапазоне концентраций от 100 до 200 мкг/мл препарат воспроизводимо проявлял противовирусную активность, что выразилось в повышенной, по сравнению с вирусным контролем, выживаемости клеток. «Цитовир®-3» в нетоксичной концентрации 150 мкг/мл на всех сроках наблюдения подавлял репродукцию ротавируса на 1,0–2,0 Ig ТЦД<sub>50</sub>/мл при различных схемах внесения в культуру клеток, что сопровождалось достоверным снижением концентрации вирусной РНК и цитопротекторным действием.

**Ключевые слова:** ротавирус; Цитовир®-3; альфа-глутамил-триптофан; аскорбиновая кислота; бендазол; противовирусная активность; цитопротекторное действие; *in vitro*

**Для цитирования:** Файзулов Е. Б., Ленёва И. А., Смирнов В. С., Смирнова Д. И., Грачева А. В., Корчевая Е. Р., Хохлова Д. М., Кудрявцева Т. А., Петленко С. В., Заплутанов В. А. Противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении возбудителя ротавирусной инфекции человека *in vitro*. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (3–4): 31–41. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-31-41>. EDN: ESBYBY.

## Antiviral Activity of Cytovir®-3 Against Human Rotavirus Infection Agent *in vitro*

EVGENY B. FAIZULOEV<sup>1</sup>, IRINA A. LENEVA<sup>1</sup>, VYACHESLAV S. SMIRNOV<sup>2</sup>,  
DARIA I. SMIRNOVA<sup>1</sup>, ANASTASIIA V. GRACHEVA<sup>1</sup>, EKATERINA R. KORCHEVAYA<sup>1</sup>,  
DARIA M. KHOKHLOVA<sup>1</sup>, \*TATYANA A. KUDRYAVTSEVA<sup>3</sup>,  
SERGEY V. PETLENKO<sup>4</sup>, VASILIIY A. ZAPLUTANOV<sup>5</sup>

<sup>1</sup> I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

<sup>5</sup> Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint-Petersburg, Russia

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: tatyana@kudryavcev.info



EDN: ESBYBY

\*Correspondence to:  
E-mail: tatyana@kudryavcev.info



## Abstract

**Introduction.** Rotavirus infection causes more than 250 million episodes of acute gastroenteritis annually, of which approximately 130,000 cases in children under 5 years of age are fatal. In this regard, the search for drugs for the treatment of rotavirus infection seems extremely relevant. **The aim of the research** was to evaluate the antiviral activity of Cytovir®-3 against human rotavirus on a cellular infection model. **Material and methods.** The objects of the study were a mixture of active ingredients and individual components, identical in composition and ratio, contained in Cytovir®-3. The study was carried out using a monkey kidney cell culture MA-104 and a laboratory strain of human group A rotavirus — 568, genotype G3P. Cultural, virological, molecular biological and statistical methods were used during the study. **Results and discussion.** Analysis of the survival of MA-104 cells in the presence of Cytovir®-3 showed that in the concentration range from 100 to 200 µg/ml, the drug reproducibly exhibited antiviral activity, which was expressed in increased cell survival compared to the viral control. Cytovir®-3 in a non-toxic concentration of 150 µg/ml suppressed the reproduction of rotavirus by 1.0-2.0 lg CC<sub>50</sub>/ml with various schemes of introduction into cell culture at all periods of observation, which was accompanied by a significant decrease in the concentration of viral RNA and a cytoprotective effect.

**Keywords:** rotavirus; Cytovir®-3; alpha-glutamyl-tryptophan; ascorbic acid; bendazole; antiviral activity; cytoprotective effect; *in vitro*

**For citation:** Faizuloev E. B., Leneva I. A., Smirnov V. S., Smirnova D. I., Gracheva A. V., Korchevaya E. R., Khokhlova D. M., Kudryavtseva T. A., Petlenko S. V., Zaplutanov V. A. Antiviral activity of Cytovir®-3 against human rotavirus infection agent *in vitro*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (3–4): 31–41. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-31-41>. EDN: ESBYBY.

## Введение

В странах с низким охватом вакцинацией против ротавирусной инфекции именно ротавирусы группы А (РВА) являются основной причиной острых гастроэнтеритов и госпитализации детей с данной нозологией в возрасте до 5 лет. Ежегодно в мире ротавирусная инфекция вызывает более 250 млн эпизодов диареи, из которых примерно 130 000 случаев у детей в возрасте до 5 лет заканчиваются летально [1].

Патогенные для человека ротавирусы относятся к виду *Rotavirus A*, рода *Rotavirus*, семейства *Sedoreoviridae*. Геном этих возбудителей представлен 11 сегментами двухцепочечной РНК, кодирующих синтез 12 белков [2]. Большинство циркулирующих РВА человека относятся к трём эволюционным линиям, которые отличаются констелляциями генома: Wa — DS-1 и AU-1-подобные штаммы [3].

В настоящее время специфические антиротавирусные препараты отсутствуют. Лечение ротавирусного энтерита проводится преимущественно симптоматическими средствами и включает комплекс мероприятий, где, помимо основных процедур по восстановлению водно-электролитного баланса и детоксикации, назначаются диета и биологические препараты на основе пробиотиков и пребиотиков для коррекции нарушений биоценоза кишечника в случаях присоединения вторичной бактериальной инфекции [4]. Потенциальные лекарственные препараты, описанные в научной литературе, являются противовирусными препаратами широкого спектра действия и не являются специфичными для ротавирусов [5]. В связи с этим, поиск препаратов для лечения ротавирусного энтерита остаётся актуальным.

**Цель исследования** — оценка противовирусной активности препарата «Цитовир®-3» в отно-

шении ротавируса человека на клеточной модели инфекции.

### Задачи:

1. Оценка цитотоксичности препарата «Цитовир®-3» и препарата сравнения/положительного контроля Умифеновир с определением максимально переносимой концентрации (МПК) и ЦТД<sub>50</sub> в культуре клеток MA-104 *in vitro*.

2. Оценка противовирусной активности смеси действующих веществ, используемой в готовых лекарственных формах препарата «Цитовир®-3» и препарата сравнения/положительного контроля Умифеновир.

## Материал и методы

При выполнении исследования были использованы методы культивирования клеток млекопитающих, оценка выживаемости клеток в тесте МТТ, титрование вируса по цитопатогенному действию (ЦПД), количественное определение ротавирусной РНК методом ОТ-ПЦР-РВ, статистические методы.

**Образцы исследуемых препаратов и их приготовление.** Образец смеси активных действующих веществ препарата «Цитовир®-3» — альфа-глутамил-триптофан, аскорбиновая кислота и бендазола гидрохлорида, а также отдельные компоненты этих препаратов были предоставлены АО «МБНПК «Цитомед» (Санкт-Петербург, Россия). Препаратом сравнения при оценке противовирусной активности являлась субстанция препарата Умифеновир (синтезирован в ЦХЛС-ВНИХФИ Москва, Россия).

**Приготовление раствора препарата «Цитовир®-3».** Сухую субстанцию препарата растворяли в стерильной воде до концентрации 10 мг/мл (сток-раствор) и далее разводили до необходимых концентраций с использованием поддерживающей среды.

**Приготовление раствора препарата Умифеновир.** К 5 мг субстанции Умифеновира добавляли 0,5 мл этилового спирта и оставляли при 37°C на 30 мин до полного растворения. К полученному раствору добавляли 4,5 мл дистиллированной воды. Итоговый раствор с концентрацией 1 мг/мл и далее разводили до необходимых концентраций с использованием поддерживающей среды.

**Приготовление раствора аскорбиновой кислоты (АК).** Сухую субстанцию препарата растворяли в стерильной воде

до концентрации 2,9 мг/мл (сток-раствор, соответствующий концентрации «Цитовир®-3» 10 мг/мл) и далее разводили до необходимых концентраций с использованием поддерживающей среды. Приготовление раствора «Цитовир®-3» без АК. Сухую субстанцию препарата, предоставленную АО «МБНПК «Цитомед» (смесь альфа-глутамил-триптофан натрия 0,5 мг и бендазола гидрохлорида 20 мг), растворяли в стерильной воде до концентрации 7,1 мг/мл (сток-раствор, соответствующий концентрации «Цитовир®-3» 10 мг/мл) и далее разводили до необходимых концентраций с использованием поддерживающей среды.

**Культура клеток.** Исследование выполняли на клетках почки обезьяны МА-104. Клетки культивировали при 37°C в питательной среде Игла MEM на основе буфера Эрла («ПанЭко», Россия) с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки («Gibco»), 300 мкг/мл L-глутамин («ПанЭко»), 40 мкг/мл гентамицина («ПанЭко») в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>.

Клетки МА-104, достигшие полного монослоя, трипсицизировали, разводили питательной средой до концентрации 100 тыс. клеток/мл и за три дня до постановки эксперимента засеивали в 12-луночные, 24-луночные или 96-луночные планшеты.

**Оценка цитотоксичности препаратов в тесте МТТ с определением МПК и ЦТД<sub>50</sub> в культуре клеток МА-104.** Из полученных препаратов готовили разведения для определения МПК и цитотоксической дозы 50 (ЦТД<sub>50</sub>) в клетках МА-104. Для препаратов, исследуемых на наличие противовирусной активности («Цитовир®-3» и Умифеновир), при приготовлении разведений использовали поддерживающую среду с трипсином с последующей инкубацией в поддерживающей среде в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 4 суток (без смены среды). По окончании срока инкубации оценивали выживаемость клеток (проявление цитотоксичности препаратов) с использованием теста МТТ.

На 3-и сутки после внесения исследуемых образцов проводили микроскопическое исследование монослоя клеток на наличие признаков токсичности. Далее в колориметрическом тесте МТТ спектрофотометрически оценивали выживаемость клеток. В лунки 96-луночного планшета с клетками добавляли по 20 мкл раствора МТТ (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) («ПанЭко», Россия) с концентрацией 5 мг/мл и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в течение 2 ч. Культуральную жидкость отбирали и добавляли в лунки по 100 мкл ДМСО («Sigma-Aldrich», кат.номер D4540-1L) в каждую лунку. С помощью планшетного спектрофотометра определяли оптическую плотность каждой лунки при 530 нм с учётом фоновых значений при 620 нм. Выживаемость клеток рассчитывали по формуле:

$$\text{Выживаемость} = \frac{\text{ОП}_{530} \text{ опытной пробы}}{\text{ОП}_{530} \text{ клеточного контроля}} \times 100\%, \text{ где}$$

ОП<sub>530</sub> опытной пробы — среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с исследуемым препаратом; ОП<sub>530</sub> клеточного контроля — среднее значение оптической плотности в лунках с клеточной культурой без препарата. Далее оценивали разведение препарата, соответствующее МПК, то есть разведение, достоверно не изменяющее значение ОП по сравнению с контролем клеток. Полулетальные концентрации (ЦТД<sub>50</sub>) рассчитывали с помощью онлайн-калькулятора Quest Graph™ IC<sub>50</sub> Calculator [6].

**Вирус.** Для проведения исследования использовали ротавирус человека, штамм 568, генотип G3P [3], полученный из Государственной коллекции вирусов (номер в ГКВ — 2288). Ротавирус выращивали в культуре клеток МА-104. Для активации к вирусному материалу добавляли трипсин до концентрации 5 мкг/мл. Инкубировали смесь 1 ч при 37°C. После активации разбавляли вирус поддерживающей средой с трипсином 2 мкг/мл. Удаляли ростовую среду из флакона и трижды промывали монослой клеток поддерживающей средой (5 мл среды на флакон). Вносили вирус при желаемой МОИ, инкубировали 1 ч в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. После инкубации с вирусом добавляли необходимый объём поддерживающей среды с трипсином. Инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37°C до появления ЦПД (от 3 до 5 сут). Состав поддерживающей среды: среда Игла MEM на основе буфера Эрла («ПанЭко», Россия), 300 мкг/мл L-глутамин («ПанЭко»), 40 мкг/мл гентамицина («ПанЭко»), 2 мкг/мл трипсина («Sigma»).

**Титрование вируса по цитопатогенному действию (ЦПД).** Титр ротавируса определяли по конечной точке проявления ЦПД в культуре клеток МА-104. Перед началом титрования вирусный материал размораживали при комнатной температуре, проводили его активацию добавлением трипсина до конечной концентрации 5 мкг/мл и инкубировали смесь 1 ч при 37°C. После активации, готовили последовательные десятикратные разведения вируса в поддерживающей среде с трипсином. Далее из лунок планшета удаляли ростовую среду, трёхкратно промывали монослой поддерживающей средой (чтобы избавиться от следов сыворотки) и вносили разведения вируса с последующей инкубацией в течение 4 сут в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37°C. Учёт результатов титрования проводили визуально путём микроскопического исследования клеточного монослоя на наличие характерного ЦПД на 4-е сутки после заражения (округление и открепление клеток от монослоя). Титр вируса рассчитывали, как описано в работе М. А. Ramakrishnan и соавт. [7], и выражали в lg ТЦД<sub>50</sub>/мл.

**Количественное определение ротавирусной РНК методом обратной транскрипции (ОТ)-ПЦР-РВ.** Выделение вирусной РНК из культуральной жидкости проводили набором реагентов «МагноСорб» («ООО «НекстБио», Россия), согласно инструкции производителя. Идентификацию ротавируса и количественное определение вирусной РНК проводили методом ПЦР-РВ с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ). Для выявления вирусной РНК методом ОТ-ПЦР-РВ были использованы праймеры и зонды к гену NSP3 [8] (табл. 1).

Образец в объёме 9 мкл, смешанный с праймерами RA1 и RA3, в объёме 1 мкл и с концентрацией 6 пмоль/мкл, предварительно прогревался при температуре 95°C в течение 5 мин. К полученному образцу добавляли 15 мкл реакционной смеси для обратной транскрипции, которая содержала 10 мкл «2,5x реакционной смеси для ПЦР-РВ -Taq» («Синтол», Россия), 0,6 мкл «Обратной транскриптазы MMLV» (50 ед.; «Синтол», Россия) и 4,4 мкл деионизованной воды. Обратная транскрипция ставилась по следующему температурно-временному режиму: 10 мин — 45°C, 2 мин — 95°C. К полученной ДНК добавлялось 25 мкл реакционной смеси, содержащей по 6 пмоль каждого праймера и 5 пмоль зонда; 10 мкл реакционной смеси с Taq-полимеразой; 11 мкл воды. Температурно-временной режим: 95°C — 90 с (1 цикл); 95°C — 20 с, 59°C — 35 с (45 циклов).

**Таблица 1. Последовательность праймеров и зонда для выявления РНК**

**Table 1. Sequence of primers and a probe for RNA detection**

Праймер	Последовательность
RA1	ACC ATC TWC ACA TGA CCC TC
RA2	ACC ATC TTC ACG TAA CCC TC
RA3	GGT CAC ATA ACG CCC CTA TA
ROTAz	ROX -TGAGCACAATAGTTAAAAGCTAACACTGTCAAp- RTQ-21
RaC-f	ACCATCTACACATGACCCTCTATGAGCACAATAGTTAAAAGCTAACACTGTCAAAAAC
RaC-r	GGTCACATAACGCCCTATAGCCATTTAGGTTTTTGACAGTGTTAGCTTTT

**Таблица 2. Определение цитотоксичности препарата Цитовир-3 в МТТ-тесте****Table 2. Determination of the cytotoxicity of Cytovir-3 using the MTT assay**

Концентрация Цитовир-3, мкг/мл	КК	10	50	75	100	150	200	300	400	500
Выживаемость, %	100±6	77±7*	67±22*	64±11*	86±12*	61±17*	60±10*	47±6	33±8	30±3

**Примечание.** Здесь и в табл. 3–5: КК — клеточный контроль; \* — диапазон концентраций до достижения ЦТД<sub>50</sub>.  
**Note.** Here and tables 3–5: КК — cell control; \* — concentration range until CC<sub>50</sub> (50% cytotoxic concentration) is reached.

**Таблица 3. Определение цитотоксичности препарата Цитовир-3 (без АК\*) в МТТ-тесте****Table 3. Determination of cytotoxicity of Cytovir-3 (without AA\*) in the MTT assay**

Концентрация Цитовир-3 (без АК), мкг/мл	КК	2.9	14.5	21.8	29	43.5	58	87	116	145
Выживаемость, %	100±14	79±20*	76±16*	76±17*	71±12*	79±14*	77±15*	60±17*	44±13	41±11

**Примечание.** АК — аскорбиновая кислота.

**Note.** АК — ascorbic acid (AA).

Реакцию ПЦР-РВ проводили в амплификаторе ДТ-prime-4 («ДНК-технология», Россия). Значение порогового цикла в ПЦР-РВ (ПЦ) определяли автоматически с помощью программы RealTime\_PCR v.7.7 («ДНК-Технология») на основании математического анализа формы кривой амплификации (метод геометрический, Ср). Все праймеры и зонды синтезированы в ООО «Синтол» (Россия).

Для количественного определения вирусной РНК в качестве калибратора использовали разведения синтетических олигонуклеотидов RaC-f и RaC-r с известной концентрацией, соответствующих по координатам амплифицируемому фрагменту генома (см. табл. 1). Калибровочные образцы готовились следующим образом: каждый олигонуклеотид был разбавлен до разведения 10<sup>-4</sup>, после чего они были смешаны в равных объёмах. Далее готовилась реакционная смесь: 20 мкл реакционной смеси с Taq-полимеразой, 20 мкл воды и 10 мкл смеси олигонуклеотидов, и ставилась реакция при следующем температурно-временном режиме: 2 мин — 95°C; 10 мин — 55°C. Далее полученный дуплекс ДНК использовали для приготовления ряда последовательных десятикратных разведений.

**Оценка противовирусной активности препаратов по выживаемости клеток.** Для изучения противовирусной активности в клетках МА-104 исследуемые препараты использовали в различных разведениях. Эксперименты проводили по двум схемам применения: 1) Лечебно-профилактическая: внесение препарата за 2 ч до вирусного инфицирования; 2) Лечебная: внесение препарата одновременно с вирусным инфицированием (0 ч);

Противовирусную активность препаратов исследовали при двух дозах заражения — 100 и 20 ТЦД<sub>50</sub>/лунку.

Эти разведения вносили в клетки согласно схеме эксперимента с последующей инкубацией в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 4 сут. По окончании срока инкубации оценивали проявление лечебной и лечебно-профилактической активности препаратов по выживаемости клеток с использованием теста МТТ.

**Оценка противовирусной активности препаратов по репродуктивной активности вируса.** «Цитовир®-3», отдельные компоненты препарата «Цитовир®-3» и препарат сравнения в наиболее эффективной концентрации вносили в лунки 12-луночного планшета по двум схемам: 1) Лечебно-профилактическая: внесение препарата за 2 ч до вирусного инфицирования; 2) Лечебная: внесение препарата одновременно с вирусным инфицированием (0 ч);

Противовирусную активность препаратов исследовали при дозе заражения 100 ТЦД<sub>50</sub>/лунку. Исследуемые разведения препаратов вносили в трёх повторах в лунки 12-луночного планшета с клетками с последующей инкубацией в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 4 сут (опционально: через 3 ч проводили замену смеси препаратов с вирусом на поддерживающую среду с трипсином, содержащую препараты в исследуемых концентрациях в объёме 1 мл, и инкубировали в течение 4 сут).

Ежедневно проводили микроскопическое исследование клеток. Отбор культуральной среды проводили на 1-, 2-е и

3-и сутки после внесения смеси: по 30 мкл культуральной жидкости каждого повтора объединяли в одной пробирке для титрования вируса и по 100 мкл в 4 повторах для определения концентрации вирусной РНК методом ОТ-ПЦР-РВ. Отбранные образцы хранили при температуре минус 80°C до регистрации результатов исследования.

**Статистическая методология и обработка данных.** Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Graphpad Prism v.5.03. Достоверность разницы между оцениваемыми параметрами проводили с использованием *t*-теста при 95% доверительном интервале. Полулетальные концентрации (ЦТД<sub>50</sub> и ИК<sub>50</sub>) рассчитаны с помощью онлайн-калькулятора Quest Graph™ IC<sub>50</sub> Calculator [6]. При выполнении математического анализа различия считали статистически значимыми при *p* < 0,05.

## Результаты

**Оценка цитотоксичности исследуемых препаратов по результатам МТТ-теста.** Данные по выживаемости клеток, полученные в МТТ-тесте, хорошо согласовались с микроскопическим исследованием монослоя на 4-е сутки после внесения препарата. Результаты представлены в табл. 2.

Из полученных результатов следует, что МПК для препарата «Цитовир®-3» составила 150 мкг/мл. Данные по выживаемости клеток, полученные в МТТ-тесте, хорошо согласовались с микроскопическим исследованием монослоя на 4-е сутки после внесения препарата. Значение ЦТД<sub>50</sub> для препарата «Цитовир®-3» в культуре клеток МА-104 составило 281,5 мкг/мл.

В эксперименте были изучены следующие концентрации препарата «Цитовир®-3» без АК: 2.9, 14.5, 21.8, 29, 43.5, 58, 87, 116, 145 мкг/мл (соответствуют концентрациям «Цитовир®-3»: 10, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500 мкг/мл). Результаты определения выживаемости клеток в присутствии препарата «Цитовир®-3» в МТТ-тесте представлены в табл. 3.

Полученные результаты свидетельствуют, что в повторном эксперименте МПК «Цитовир®-3» без АК составила 58 мкг/мл, что соответствует концентрации 200 мкг/мл для препарата «Цитовир®-3». Значение ЦТД<sub>50</sub> для препарата «Цитовир®-3» без АК в культуре клеток МА-104 составило 88 мкг/мл, что примерно соответствует концентрации полной

**Таблица 4. Определение цитотоксичности препарата Умифеновир в МТТ-тесте**

**Table 4. Determination of the cytotoxicity of Umifenovir in the MTT test**

Концентрация Умифеновира, мкг/мл	КК	7,5	10	12,5	15	17,5	20	25	30	50
Выживаемость, %	100±11	59±9*	58±7*	56±17*	51±17*	57±19*	62±20*	44±19	4±1	3±0

**Таблица 5. Противовирусная активность препарата Цитовир-3 в отношении ротавируса группы А, штамм 568, в культуре клеток МА-104 (внесение препарата за 2 ч до вирусного инфицирования)**

**Table 5. Antiviral activity of Cytovir-3 against group A rotavirus, strain 568, in MA-104 cell culture (the drug was administered 2 hours prior to viral infection)**

Доза вируса	Выживаемость клеток, %									
	КК	10*	50*	75*	100*	150*	200*	300*	400*	ВК
100 ТЦД <sub>50</sub> /лунку	108±6	76±58 <sup>#</sup>	13±8	42±28	93±16**	116±32**	109±20**	107±26**	40±11	18±20
20 ТЦД <sub>50</sub> /лунку		82±70 <sup>#</sup>	105±17 <sup>#</sup>	45±18	94±6**	81±17**	69±6	25±6	26±6	42±43

**Примечание.** Здесь и в табл. 6–9: КК — клеточный контроль; ВК — вирусный контроль; \* — концентрации препарата Цитовир-3; \*\* — диапазон выживаемости клеток на фоне применения препарата; <sup>#</sup> — необъяснимо высокая выживаемость клеток.

**Note.** Here and tables 6–9: КК — cellular control; ВК — viral control; \* — concentrations of Cytovir-3; \*\* — range of cell survival during the use of the drug; <sup>#</sup> — inexplicably high cell survival.

**Таблица 6. Противовирусная активность препарата Цитовир-3 в отношении ротавируса группы А, штамм 568, в культуре клеток МА-104 (внесение одновременно с вирусным инфицированием)**

**Table 6. Antiviral activity of Cytovir-3 against group A rotavirus, strain 568, in MA-104 cell culture (administered simultaneously with viral infection)**

Доза вируса	Выживаемость клеток, %									
	КК	10*	50*	75*	100*	150*	200*	300*	400*	ВК
100 ТЦД <sub>50</sub> /лунку	103±8	33±34	52±33	41±25	70±29**	66±18**	60±6**	21±2	18±2	20±13

**Примечание.** КК — клеточный контроль; ВК — вирусный контроль; \* — концентрации препарата Цитовир-3; \*\* — диапазон выживаемости клеток на фоне применения препарата.

**Note.** КК — cellular control; ВК — viral control; \* — concentrations of Cytovir-3; \*\* — range of cell survival during the use of the drug.

композиции «Цитовир®-3» равной 300 мкг/мл. Данные по выживаемости клеток, полученные в МТТ-тесте, хорошо согласовались с микроскопическим исследованием культуры клеток на 4-е сутки после внесения препарата.

Сопоставление результатов оценки цитотоксичности полной композиции препарата и Цитовира-3 без АК показало, что основной вклад в индукцию цитотоксичности композиции, наиболее вероятно, вносит бендазола гидрохлорид, так как доклиническое изучение отдельных компонентов не показало наличия токсических свойств у α-глутамил-триптофана натрия.

Были изучены следующие концентрации препарата сравнения Умифеновир: 7,5, 10, 12,5, 15, 17,5, 20, 25, 30, 50 мкг/мл. Результаты определения выживаемости клеток в присутствии препарата Умифеновир в МТТ-тесте представлены в табл. 4.

МПК препарата Умифеновир составила примерно 20 мкг/мл. Данные по выживаемости клеток, полученные в МТТ-тесте, также согласовались с микроскопическим исследованием монослоя на 4-е сутки после внесения препарата. Точное значение ЦТД<sub>50</sub> для препарата Умифеновир в культуре клеток МА-104 составило 28,5 мкг/мл.

**Оценка противовирусной активности Цитовир-3 по выживаемости клеток.** Первоначально противоротавирусное действие препарата «Цитовир®-3» в культуре клеток МА-104

было изучено с использованием метода ингибирования цитопатического действия. В культуру клеток добавляли препарат «Цитовир®-3» в диапазоне концентраций, включая МПК, — 10, 50, 75, 100, 150, 200, 300 и 400 мкг/мл и на 4-е сутки, после развития ЦПД в лунках вирусного контроля эффект ингибирования оценивался количественно с помощью МТТ-теста. Препарат сравнения Умифеновир использовали в диапазоне концентраций, включая МПК, — 7,5, 10, 12,5, 15, 17,5, 20, 25, 30, 50 мкг/мл. Для заражения клеточной культуры применяли две дозы — 100 и 20 ТЦД<sub>50</sub>/мл. Препараты суспендировали с двумя разными дозами вируса и вносили в культуру клеток МА-104 согласно схемам:

1. Лечебно-профилактическая: внесение препарата за 2 ч до вирусного инфицирования.
2. Лечебная: внесение препарата одновременно с вирусным инфицированием (0 ч).

Анализ выживаемости клеток в присутствии препарата «Цитовир®-3» в культуре клеток МА-104 показал, что в диапазоне концентраций от 100 до 200 мкг/мл (концентрации, сопоставимые с МПК, близкие к ЦТД<sub>50</sub>) препарат воспроизводимо проявляет противовирусную активность, что выражается в повышенной в сравнении с вирусным контролем выживаемости клеток (табл. 5, 6). Наиболее выраженная защита от ЦПД проявилась при лечебно-профилактической схеме внесения препарата.

**Таблица 7. Противовирусная активность препарата Цитовир-3 без АК в отношении ротавируса группы А, штамм 568, в культуре клеток МА-104 (внесение препарата за 2 ч до вирусного инфицирования)**

**Table 7. Antiviral activity of Cytovir-3 without AA against group A rotavirus, strain 568, in cell culture MA-104 (the drug was administered 2 hours prior to viral infection)**

Доза вируса	Выживаемость клеток, %									
	КК	2,9*	14,5*	21,8*	29*	43,5*	58*	87*	116*	ВК
100 ТЦД <sub>50</sub> /лунку	104±17	8±0	10±5	29±5	26±10	44±11	68±10**	38±7	54±20**	7±1
20 ТЦД <sub>50</sub> /лунку		6±1	36±36	28±22	52±15**	51±10**	100±7**	48±11	55±18**	13±6

**Таблица 8. Противовирусная активность препарата Цитовир-3 без АК в отношении ротавируса группы А, штамм 568, в культуре клеток МА-104 (внесение одновременно с вирусным инфицированием)**

**Table 8. Antiviral activity of the drug Cytovir-3 without AA against group A rotavirus, strain 568, in MA-104 cell culture (administered simultaneously with viral infection)**

Доза вируса	Выживаемость клеток, %									
	КК	2,9*	14,5*	21,8*	29*	43,5*	58*	87*	116*	ВК
100 ТЦД <sub>50</sub> /лунку	108±13	9±0	12±1	19±9	32±11	55±11**	62±3**	44±5	56±4**	12±4
20 ТЦД <sub>50</sub> /лунку		31±24	37±37	39±19	60±7**	63±9**	61±14**	56±6***	60±6**	43±28

**Таблица 9. Противовирусная активность препарата Умифеновир в отношении ротавируса группы А, штамм 568, в культуре клеток МА-104 (внесение одновременно с вирусным инфицированием)**

**Table 9. Antiviral activity of the drug Umifenovir against group A rotavirus, strain 568, in MA-104 cell culture (administered simultaneously with viral infection)**

Доза вируса	Выживаемость клеток, %									
	КК	7,5*	10*	12,5*	15*	17,5*	20*	25*	30*	ВК
100 ТЦД <sub>50</sub> /лунку	100±6	6±1	7±1	29±13	51±10**	42±6	41±7	37±22	9±2	17±1
20 ТЦД <sub>50</sub> /лунку		15±3	22±7	31±8	55±2**	46±11	35±8	16±3	7±1	12±2

Концентрация полумаксимального ингибирования (ИК<sub>50</sub>) «Цитовир®-3» при лечебно-профилактической схеме составила 83,06 мкг/мл при дозе заражения 100 ТЦД<sub>50</sub>/лунку.

Примечательно, что повышенная выживаемость клеток проявилась также в присутствии «Цитовир®-3» без АК при дозах заражения 20 и 100 ТЦД<sub>50</sub>/лунку (табл. 7, 8).

Таким образом, анализ выживаемости клеток МА-104 в присутствии препарата «Цитовир®-3» показал, что в диапазоне концентраций от 100 до 200 мкг/мл (концентрации, сопоставимые с МПК и близкие к ЦТД<sub>50</sub>) препарат воспроизводимо проявляет признаки противовирусной активности, сопоставимые с препаратом сравнения (Умифеновир, табл. 9), что выражается в повышенной по сравнению с вирусным контролем выживаемости клеток. Изучение противовирусной активности «Цитовир®-3» без АК позволило обнаружить, что решающая роль в индукции противовирусных свойств комплексного препарата принадлежит двум другим компонентам «Цитовир®-3» — бендазолу и альфа-глутамил-триптофану.

**Оценка противовирусной эффективности препарата Цитовир-3 по влиянию на уровень репродукции ротавируса.** Была исследована способность препарата «Цитовир®-3» и его отдельных компонентов в нетоксичных концентрациях подавлять вирусную репродукцию в культуре клеток.

В лунки, содержащие монослой модельной культуры клеток, вносили композицию «Цитовир®-3», а так же её отдельные компоненты и препарат сравнения в наиболее эффективной неток-

сичной концентрации и вирусную суспензию по двум схемам: 1) Лечебно-профилактическая: внесение препарата за 2 ч до вирусного инфицирования; 2) Лечебная: внесение препарата одновременно с вирусным инфицированием (0 ч).

Первоначально противовирусную активность препаратов исследовали с использованием одной дозы заражения 100 ТЦД<sub>50</sub>/лунку, поскольку в предыдущих экспериментах при данной дозе стабильно срабатывал вирусный контроль. Отбор культуральной среды проводили на 1-е, 2-е и 3-и сутки после заражения для титрования вируса и определения концентрации вирусной РНК методом ОТ-ПЦР-РВ.

В табл. 10 представлены результаты оценки вирусной репродукции в присутствии композиции «Цитовир®-3» и препарата сравнения (концентрация вирусной РНК и титр вируса) в разные периоды наблюдения.

**Результаты (Опыт 1).** Анализ накопления вирусной РНК выявил снижение концентрации вирусной РНК в присутствии «Цитовир®-3» и Умифеновира на 2-е и 3-и сутки наблюдения. При одновременном внесении препарата и вируса достоверные различия «Цитовир®-3» и Умифеновира с вирусным контролем по концентрации вирусной РНК появляются на 2-е ( $p < 0,05$ ) и на 3-и сутки наблюдения ( $p < 0,001$ ).

Выявленное в ходе исследования негативное влияние «Цитовир®-3» и Умифеновира на накопление ротавирусной РНК согласовалось с накоплением в культуральной жидкости инфекционного ротавируса (табл. 11, 12). Пониженный по сравнению с вирусным контролем уровень ви-

**Таблица 10.** Концентрация вирусной РНК в культуре клеток МА-104 на 1-е, 2-е и 3-и сутки в присутствии Цитовир-3 и Умифеновира при разных схемах внесения препаратов (доза заражения — 100 ТЦД<sub>50</sub>/лунку)  
**Table 10.** Concentration of viral RNA in the MA-104 cell culture on days 1, 2, and 3 in the presence of Cytovir-3 and Umifenovir with different drug administration regimens (infection dose — 100 CC<sub>50</sub>/well)

Препараты	Концентрация РНК, Ig копий РНК/мл		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
<b>Внесение препаратов одновременно с вирусной нагрузкой</b>			
Цитовир-3 150 мкг/мл	7,36±6,52	8,31±7,62*	9,31±8,70**
Умифеновир 17,5 мкг/мл	7,05±6,33	8,43±7,01*	9,08±8,79**
Вирусный контроль	7,52±7,32	9,07±8,60	9,99±9,30
Клеточный контроль	<3,0	<3,0	<3,0
<b>Внесение препаратов за 2 ч до заражения ротавирусом</b>			
Цитовир-3 150 мкг/мл	7,42±6,65	8,40±7,99	9,37±8,74
Умифеновир 17,5 мкг/мл	7,28±6,53	8,21±8,02	9,04±9,12
Вирусный контроль	7,27±7,07	9,20±8,91	9,80±9,18
Клеточный контроль	<3,0	<3,0	<3,0

**Примечание.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — различия достоверны по отношению к вирусному контролю.

**Note.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — differences are significant in relation to viral control.

**Таблица 11.** Титр вируса в культуре клеток МА-104 на 1–3-е сутки в присутствии Цитовир-3 и Умифеновира при одновременном внесении ротавируса  
**Table 11.** Virus titer in MA-104 cell culture on days 1-3 in the presence of Cytovir-3 and Umifenovir with the simultaneous introduction of rotavirus

Препараты	Титр вируса, Ig ТЦД <sub>50</sub> /мл		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Цитовир-3 150 мкг/мл	2,17	5,5	6,5
Умифеновир 17,5 мкг/мл	2,5	4,83	8,5
Вирусный контроль	3,83	7,17	7,5
Клеточный контроль	<1,0	<1,0	<1,0

**Таблица 12.** Титр ротавируса в культуре клеток МА-104 на 1-е, 2-е и 3-и сутки при внесении Цитовир-3 и Умифеновира за 2 ч до заражения  
**Table 12.** Rotavirus titer in MA-104 cell culture on days 1, 2, and 3; Cytovir-3 and Umifenovir were added 2 hours before infection

Препараты	Титр вируса, Ig ТЦД <sub>50</sub> /мл		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Цитовир-3 150 мкг/мл	2,83	6,17	6,17
Умифеновир 17,5 мкг/мл	2,5	5,5	5,5
Вирусный контроль	3,83	7,83	8,17
Клеточный контроль	<1,0	<1,0	<1,0

**Таблица 13.** Концентрация вирусной РНК в культуре клеток МА-104 на 1–3 сутки после внесения Цитовир-3, Цитовир-3 без АК, АК и Умифеновира при одновременном внесении ротавируса  
**Table 13.** Concentration of viral RNA in the MA-104 cell culture on days 1-3 after the addition of Cytovir-3, Cytovir-3 without AA, AA and Umifenovir with the simultaneous addition of rotavirus

Препараты	Концентрация РНК, Ig копий РНК/мл		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Цитовир-3 150 мкг/мл	4,74±4,41	6,57±6,32**	8,29±7,90
Умифеновир 17,5 мкг/мл	5,55±5,03	7,21±7,16	8,20±7,89
Цитовир-3 без АК (соотв. 150 мкг/мл Цитовир-3)	5,38±5,40	6,97±7,10*	8,22±7,26
Вирусный контроль	5,67±5,56	8,10±8,03	9,03±8,70
Клеточный контроль	<3,0	<3,0	<3,0

**Примечание.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,001$  — различия достоверны по отношению к вирусному контролю.

**Note.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,001$  — differences are significant in relation to viral control.

русной репродукции (разница в 1,0–2,0 Ig ТЦД<sub>50</sub>/мл) в присутствии «Цитовир®-3» отмечался при разных схемах эксперимента и на всех сроках наблюдения. В присутствии Умифеновира подавление вирусной репродукции проявилось на 1-е и 2-е сутки при лечебной схеме эксперимента и на всех сроках наблюдения при лечебно-профилактической схеме.

**Результаты (Опыт 2).** Во время выполнения второго независимого эксперимента в методику внесено изменение: введена двукратная отмывка

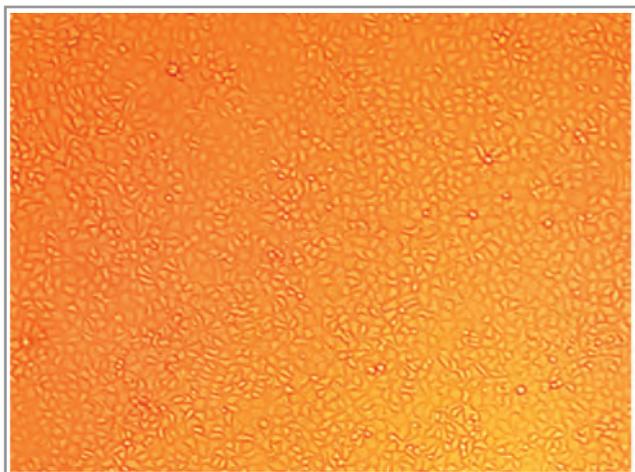
клеток от вируса через 3 ч после заражения. Цель изменений — минимизировать «фон» при оценке вирусной репродукции методом ПЦР-РВ. Кроме того, отмывка могла снизить реальную дозу заражения. Опыт 2 проводили только при одновременном внесении ротавируса (табл. 13, 14).

При оценке концентрации вирусной РНК в первый день, статистически значимых результатов по сравнению с вирусным контролем не наблюдалось. На второй день концентрация вирусной РНК в присутствии композиции «Цитовир®-3»

**Таблица 14.** Титр вируса в культуре клеток МА-104 на 1–3 сутки после внесения Цитовира-3 ГЛС, Цитовира-3 без АК, АК и Умифеновира при одновременном внесении ротавируса

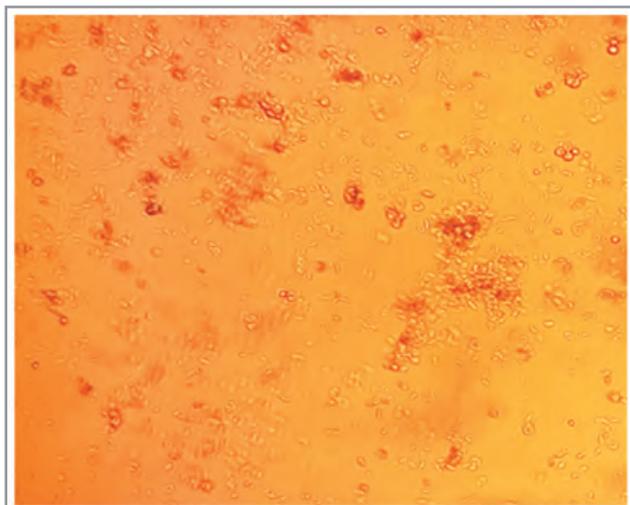
**Table 14.** Virus titer in MA-104 cell culture on days 1-3 after the addition of Cytovir-3 FPP, Cytovir-3 without AA, AA and Umifenovir with simultaneous addition of rotavirus

Препараты	Титр вируса, lg ТЦД <sub>50</sub> /мл		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Цитовир-3 150 мкг/мл	2,5	3,83	6,17
Умифеновир 17,5 мкг/мл	2,5	5,50	6,83
Цитовир-3 без АК (соотв. 150 мкг/мл Цитовир-3)	2,83	4,5	7,5
Вирусный контроль	3,83	6,17	8,17
Клеточный контроль	<1,0	<1,0	<1,0



**Рис. 1.** Культура клеток МА-104 на 4-е сутки (клеточный контроль).

**Fig. 1.** MA-104 cell culture on day 4 (cell control).



**Рис. 2.** Культура клеток МА-104 на 4-е сутки после заражения — вирусный контроль.

**Примечание.** Монослой полностью дезинтегрирован, клетки разрушены и находятся во взвешенном состоянии.

**Fig. 2.** MA-104 cell culture on the 4th day after infection - viral control.

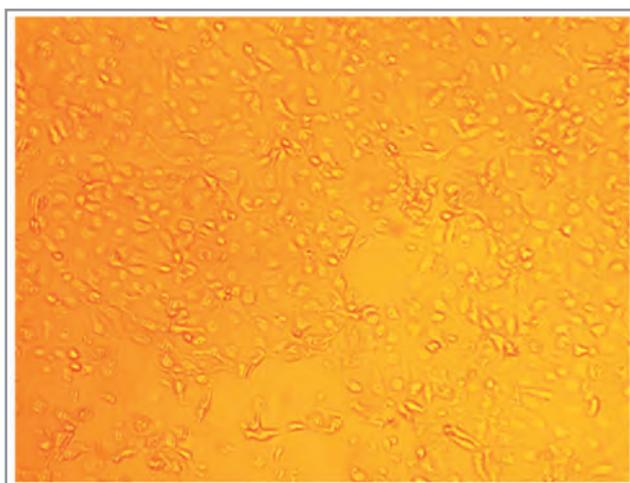
**Note.** The monolayer is completely disintegrated, the cells are destroyed and are in a suspended state.

была достоверно ниже вирусного контроля ( $p < 0,001$ ), так же, как и при использовании композиции «Цитовир®-3» без АК ( $p < 0,05$ ) и только АК ( $p < 0,05$ ). На третий день различия между препаратами и вирусным контролем вновь стали статистически незначимыми (см. табл. 14).

Пониженный по сравнению с вирусным контролем уровень вирусной репродукции (разница в 1,0–2,0 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл) в присутствии «Цитовир®-3» ГЛС и «Цитовир®-3» без АК отмечался на всех сроках наблюдения. В присутствии Умифеновира подавление вирусной репродукции проявилось, но в меньшей степени.

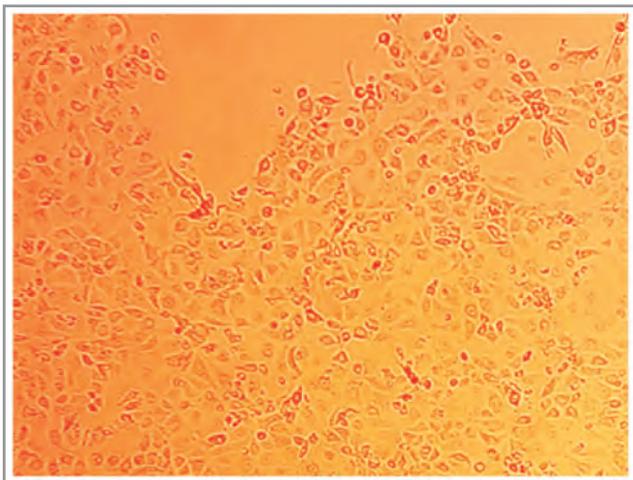
В клеточном контроле монослой клеток полностью сохранен, присутствуют единичные «всплывшие» клетки (рис. 1).

Противовирусная активность полной композиции «Цитовир®-3», а также «Цитовир®-3» без АК и Умифеновира проявилась и при микроскопическом изучении монослоя на 2–4-е сутки наблюдения. Наиболее выраженное ЦПД наблюдалось на 4-е сутки после заражения в лунках с вирусным контролем (рис. 2). Во всех лунках с Умифеновиром, «Цитовир®-3» без АК и «Цитовир®-3» на 2–4-е сутки наблюдалось менее выраженное ЦПД по сравнению с вирусным контролем после зараже-



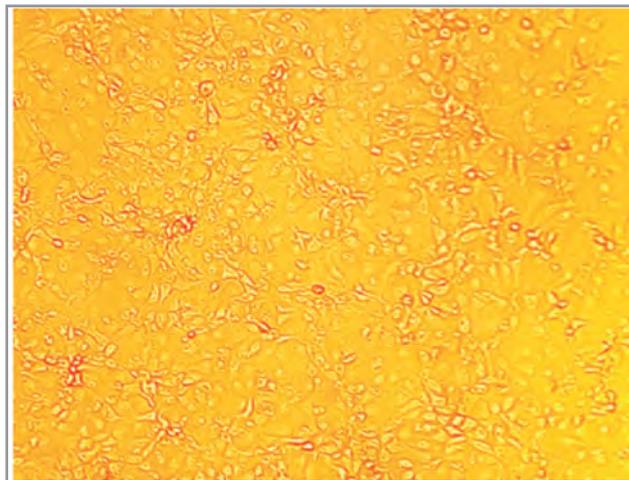
**Рис. 3.** Культура клеток МА-104 в присутствии Цитовира-3 без аскорбиновой кислоты на 4-е сутки после заражения.

**Fig. 3.** Culture of MA-104 cells in the presence of Cytovir-3 without ascorbic acid on the 4th day after infection.



**Рис. 4.** Культура клеток МА-104 в присутствии Умифеновира на 4-е сутки после заражения.

**Fig. 4.** Culture of MA-104 cells in the presence of Umifenovir on the 4<sup>th</sup> day after infection.



**Рис. 5.** Культура клеток МА-104 в присутствии Цитовира-3 на 4-е сутки после заражения.

**Fig. 5.** Culture of MA-104 cells in the presence of Cytovir 3 on the 4<sup>th</sup> day after infection.

ния. Наиболее выраженный цитопротекторный эффект Умифеновира, «Цитовир®-3» без аскорбиновой кислоты и «Цитовир®-3» проявился на 4-е сутки после заражения (см. рис. 3–5).

Как показало выполненное исследование в присутствии Умифеновира, «Цитовир®-3» без АК и полной композиции «Цитовир®-3» монослой клеток сохранял определённую целостность, но часть клеток все же погибла или находилась во взвешенном состоянии (см. рис. 3–5). В наибольшей степени, по сравнению с другими препаратами, монослой сохранился в присутствии препарата, представляющего полную композицию «Цитовир®-3» (см. рис. 5).

## Заключение

В результате изучения противовирусной активности комплексного трехкомпонентного иммуностимулирующего препарата «Цитовир®-3», содержащего аскорбиновую кислоту, бендазол и альфа-глутамил-триптофан, было установлено что его МПК составляет 150 мкг/мл, а ЦТД<sub>50</sub> — 281,5 мкг/мл. Выявлено, что в диапазоне концентраций от 100 до 200 мкг/мл, сопоставимых с МПК и близких к ЦТД<sub>50</sub>, препарат «Цитовир®-3» воспроизводимо проявляет противовирусную активность в отношении ротавируса, которая является путём достоверного повышения выживаемости клеток МА-104, в сравнении с вирусным контролем. Препарат «Цитовир®-3» в концентрации 150 мкг/мл при одновременном (лечебная схема) внесении с возбудителем и за 2 ч до вирусного инфицирования (лечебно-профилактическая схема), на всех сроках наблюдения подавляет репродукцию ротавируса на 1,0–2,0 lg

ТЦД<sub>50</sub>/мл, что сопровождается достоверным снижением концентрации вирусной РНК и цитопротекторным действием. Таким образом, по результатам проведённого исследования можно предположить, что «Цитовир®-3» оказывает противовирусное действие на этапе прилипания вируса к поверхности клеток и последующего его проникновения внутрь энтероцита.

Изучение противовирусной активности композиции «Цитовир®-3» без аскорбиновой кислоты показало, что определяющая роль в проявлении противовирусных свойств препарата принадлежит двум компонентам «Цитовира®-3», а именно: бендазолу гидрохлориду и α-глутамил-триптофану натрия.

Данные, полученные в ходе выполнения данного исследования, могут служить основанием для дальнейшего проведения доклинических и клинических исследований по применению различных лекарственных форм препарата «Цитовир®-3» с целью профилактики и раннего лечения (в первые часы/сутки после инфицирования) ротавирусной инфекции как у детей (лекарственные формы препарата «Цитовир®-3» — сироп (для детей) и порошок для приготовления раствора для приёма внутрь (для детей), так и у взрослых пациентов.

## Дополнительная информация

**Участие авторов.** Файзулов Е. Б. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Ленёва И. А. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Смирнов В. С. — дизайн исследования, редактирование публикации; Смирнова Д. И. — проведение

исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; *Грачёва А. В.* — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; *Корчевая Е. Р.* — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; *Хохлова Д. М.* — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; *Кудрявцева Т. А.* — дизайн исследования, написание публикации; *Петленко С. В.* — дизайн исследования, редактирование публикации; *Заплутанов В. А.* — дизайн исследования, написание публикации.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (Москва, Россия) по заказу и финансовой поддержке АО «Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (Санкт-Петербург, Россия).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература/References

1. Troeger C., Khalil I.A., Rao P.C., Cao S., Blacker B.F., Ahmed T. et al. Rotavirus vaccination and the global burden of rotavirus diarrhea among children younger than 5 years. *JAMA Pediatr.* 2018; 172 (10): 958–965. doi: 10.1001/jamapediatrics.2018.1960.
2. Mathijnsens J., Ciarlet M., Rahman M., Attoui H., Banyai K., Estes M.K. et al. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch Virol.* 2008; 153 (8): 1621–1629. doi: 10.1007/s00705-008-0155-1.
3. Marova A.A., Oksanich A.S., Kaira A.N. et al. Experience of application of multiplex qPCR for differential diagnostics of intestinal viral infections. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2012; 89 (6): 39–45.
4. Stephen C., Hauser M., Pardi D. et al. Mayo clinic gastroenterology and hepatology board review. Oxford University Press. 2011. June 23; 194.
5. Santos-Ferreira, N., Van Dycke, J., Neyts, J., Rocha-Pereira J. Current and future antiviral strategies to tackle gastrointestinal viral infections. *Microorganisms.* 2021; 9 (8): 1599. doi: 10.3390/microorganisms9081599.

## Информация об авторах

*Файзулов Евгений Бахтиерович* — к. б. н., заведующий лабораторией прикладной вирусологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7385-5083

*Ленёва Ирина Анатольевна* — д. б. н., заведующий лабораторией экспериментальной вирусологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7755-2714

*Смирнов Вячеслав Сергеевич* — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБНУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2723-1496

*Смирнова Дарья Ильинична* — младший научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7325-0834

## Additional Information

**Authors' participation.** *Faizuloev E. B.* — design and conduct of research, statistical processing, publication editing; *Leneva I. A.* — design and conduct of research, statistical processing, publication editing; *Smirnov V. S.* — research design, publication editing; *Smirnova D. I.* — conduct of research, statistical processing, publication editing; *Gracheva A. V.* — conduct of research, statistical processing, publication editing; *Korchevaya E. R.* — conduct of research, statistical processing, publication editing; *Kudryavtseva T. A.* — research design, publication writing; *Petlenko S. V.* — research design, publication editing; *Zaplutanov V. A.* — research design, publication writing.

**Acknowledgments.** The study was carried out within the framework of research work at the FSBSI «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera» (Moscow, Russia) on the order and financial support of JSC «CYTOMED» (Saint-Petersburg, Russia).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

6. *Quest Graph™ IC50 Calculator.* AAT Bioquest. Доступно по: <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>. Ссылка активна на 25.04.2024.
7. *Ramakrishnan M.A.* Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World journal of virology.* 2016; 5 (2): 85–86. doi: 10.5501/wjv.v5.i2.85.
8. *Freeman M.M., Kerin T., Hull J., McCaustland K., Gentsch J.* Enhancement of detection and quantification of rotavirus in stool using a modified real-time RT-PCR assay. *Med Virol.* 2008; 80 (8): 1489–1496. doi: 10.1002/jmv.21228.

Поступила / Received 15.04.2024  
Принята в печать / Accepted 21.04.2024

## About the authors

*Evgeny B. Faizuloev* — Ph. D. in Biology, Head of the Laboratory of Applied Virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7385-5083

*Irina A. Leneva* — D. Sc. in Biology, Head of the Laboratory of Experimental Virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7755-2714

*Vyacheslav S. Smirnov* — D. Sc. in Medicine, Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2723-1496

*Daria I. Smirnova* — Junior Researcher at the Laboratory of Applied Virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7325-0834

*Грачева Анастасия Вячеславовна* — научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8428-4482

*Корчевая Екатерина Романовна* — младший научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6417-3301

*Хохлова Дарья Михайловна* — младший научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0003-5745-7589

*Кудрявцева Татьяна Анатольевна* — к. б. н., научный сотрудник лаборатории нанотехнологии и синтеза лекарственных веществ отдела нейрофармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4997-9830

*Петленко Сергей Викторович* — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2752-4598

*Заплутанов Василий Андреевич* — научный сотрудник лаборатории фармакологии пептидов АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5294-6533

*Anastasiia V. Gracheva* — Researcher at the Laboratory of Applied Virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8428-4482

*Ekaterina R. Korchevaya* — Junior Researcher at the Laboratory of Applied Virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6417-3301

*Daria M. Khokhlova* — Junior Researcher at the Laboratory of Applied Virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0003-5745-7589

*Tatyana A. Kudryavtseva* — Ph. D. in Biology, Researcher at the Laboratory of Nanotechnology and Synthesis of Medicinal Substances, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4997-9830

*Sergey V. Petlenko* — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher of the Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2752-4598

*Vasiliy A. Zaplutanov* — Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Peptides, Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5294-6533