

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор НИИ Вирусологии

Минздрава РУз

Профессор

МУСАБАЕВ Э.И.

« 26 » _____ 2011 г.

ПРОТОКОЛ

Испытаний противовирусной эффективности
«Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском
инструментарии», разработанной в ООО «New Medical Technologies»

Согласно Договоров от 28 апреля 2010 года и от 18 мая 2011 года между ООО «New Medical Technologies» (генеральный директор Арифбаев Р.С.) в НИИ Вирусологии МЗ РУз (директор - проф. Мусабаев Э.И.) проведены испытания инактивирующей эффективности «Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии», разработанной и созданной ООО «New Medical Technologies». Испытания Установки проводились в Референс лаборатории МЗ Руз (Руководитель – проф. Мусабаев Э.И., заместитель директора – к.м.н. Алиева Л.Е.) врачом-лаборантом Кан Н.Г.

Цель проведения исследований:

отсасывается Оценить инактивирующую эффективность и целесообразность внедрения в массовое производство «Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» с монохроматическим излучателем с длиной волны в 590 нм (далее Установка I) на жизнеспособность и патогенность вирусов заболеваний человека гепатита В, гепатита С и ВИЧ.

Задачи исследования:

Оценить влияние «Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» на жизнеспособность и патогенные свойства вирусов заболеваний человека - гепатита В, гепатита С и ВИЧ.

Оборудование:

Установка для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии с монохроматическим излучателем с длиной волны в 590 нм;
Шкаф биобезопасности;
Термостат;
Центрифуги;
Вертекс;
Ламинарные боксы;
ПЦР-лаборатория;
Карусель для ПЦР-капилляров;

Аппарат Лайт-циклер;

Инструменты:

Дозаторы автоматические 20-200мкл;

Дозаторы автоматические 100-1000мкл;

Дозаторы электронные для пипеток;

Шприцы одноразовые на 5 мл, 10 мл, 20 мл;

Ареометры;

Материалы и реактивы:

Наборы одноразовых вакуумных пробирок с ЭДТА на 10-50мл;

Фиколл;

Верографин;

Стерильные планшеты на 6 лунок;

Стерильные одноразовые пипетки 1мл, 5 мл, 10 мл, 25 мл;

Штативы с наконечниками 100-1000мкл;

Штативы с наконечниками 20-200мкл;

Штативы с наконечниками 20-200мкл;

Перчатки одноразовые;

Наборы для выделения РНК вирусов;

Краситель метиленовый синий сухой;

Дистиллированная вода;

Стерильный физиологический раствор;

Плазма крови больных с содержанием высоких титров вируса гепатита В;

Плазма крови больных с содержанием высоких титров вируса гепатита С;

Плазма крови больных с содержанием высоких титров ВИЧ;

Лимфоциты крови здоровых лиц.

Введение.

Характеристика вирусов гепатита В, гепатита С и ВИЧ.

Вирус гепатита В (HBV) является ДНК содержащим вирусом, его репликация происходит преимущественно в гепатоцитах человека. Вирус гепатита В также обладает лимфотропными свойствами - способностью поражать и реплицироваться в лимфоцитах человека.

Для HBV известно 8 генотипов (HBV-A, HBV-B, HBV-H) и 24 подгенотипа (A1 - 5, B1 - 5, C1 - 5, D1 - 5, F1 - 4). Эти вирусы поражают только человека. Различия в геномах вирусов, принадлежащих к различным генотипам, составляет не менее 8%, а к подгенотипам - не менее 4%. Клетками-мишенями для HBV считаются гепатоциты человека, хотя и антигены, и геном вируса могут быть обнаружены и в других органах (поджелудочной железе, селезенке, почке, белых кровяных клетках). Репликация вируса обычно не сопровождается цитопатическим эффектом. При поражении людей HBV приводит к развитию острого и хронического гепатита, первичной гепатокарциномы, полиартериита, гломерулонефрита, детского акродермита, апластической анемии, а также асимптоматического носительства, сопровождающегося серьезными биохимическими нарушениями. Вирион

HBV имеет сферическую форму диаметром 42-50 нм. Липидная оболочка содержит три типа поверхностных белков - S-HBs-Ag, M- HBs-Ag и L- HBs-Ag. Внутри нуклеокапсида находится также вирусная ДНК-полимераза. Геном HBV представлен кольцевой двунитевой ДНК-полимеразы.

Вирус гепатита С (HCV) является РНК содержащим вирусом и относится к роду *Hepacivirus* семейства флаовирусов. В настоящее время идентифицированы 6 генотипов и 10 подтипов HCV.

Вирионы HCV имеют сферическую форму, состоят из оболочки (50 нм) и нуклеокапсида (30 нм). В условиях *in vitro* вирионы устойчивы к щелочной среде. РНК HCV представляет собой полноразмерную одноцепочечную РНК длиной 9600 н.о. HCV обладает свойством поражать и реплицироваться как в гепатоцитах, так и в мононуклеарах и полинукларах человека.

Вирус иммунодефицита человека (HIV) (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) относится к оболочечным ретровирусам и является РНК-содержащим вирусом. HIV обладает способностью осуществлять обратную транскрипцию вирусной РНК с интеграцией его в геном клетки человека. Характерной особенностью этой группы вирусов является их значительная изменчивость, связанная с высокой частотой ошибок, происходящих в ходе обратной транскрипции.

HIV формирует сферические вирусные частицы с диаметром 80-120 нм, которые имеют оболочку, состоящую из белково-липидного слоя - производного мембраны хозяйской клетки. Внутренняя электронно-плотная часть (нуклеокапсид) вириона имеет форму усеченного конуса и содержит ферменты, необходимые для репликации вируса, а также геномную РНК. HIV обладает преимущественно лимфотропными свойствами - способностью поражать и реплицироваться в мононуклеарах человека. Основными рецепторами для проникновения HIV в клетку является CD4, присутствующий на поверхности Th-клеток, макрофагов, дендритных клеток, клеток Купфера, микроглиальных клеток и других.

То есть все эти вирусы обладают, хотя в различной степени, лимфотропными свойствами.

Метод контроля функциональности «Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» относительно вирусов HBV, HCV и HIV.

Поиск и принцип метода для оценки жизнеспособности вирусов HBV, HCV и HIV.

Вирусы гепатита В, гепатита С и ВИЧ являются антропонозными вирусами - поражают клетки только организма человека и, поэтому, вызывают заболевание только у человека. Экспериментальные модели этих инфекций, адекватные болезням у человека, не существуют. Также нет долго живущих и культивируемых клеточных культур, на которых *in vitro* можно было бы адекватно изучить цитопатогенные свойства этих вирусов. Хотя лимфотропные свойства у этих вирусов выражены в различной степени, они все обладают

способностью проникать, персистировать и реплицироваться внутриклеточно в лимфоцитах *in vivo* в организме человека.

Исходя из изложенного выше для оценки влияния «Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» нами использованы лимфотропные - способность проникновения и внутриклеточного персистирования HBV, HCV и HIV в лимфоциты здорового человека *in vitro* при их совместной инкубации.

Описание опытов по оценке влияния «Установки для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» на способность HBV, HCV и HIV поражать и персистировать внутриклеточно в лимфоцитах человека *in vitro*.

1. Получение взвеси лимфоцитов здорового человека.

1. Здоровые люди - добровольцы методом ИФА тестируются на предмет зараженности HBV, HCV и HIV. В испытаниях используются лимфоциты здоровых людей только с отрицательными результатами тестирования.

2. Для получения достаточного количества взвеси лимфоцитов кровь забирается у здорового человека утром натощак из локтевой вены в количестве 60-80 мл. Далее кровь по 7-8 мл переносится в центрифужные пробирки, содержащие 2-3 мл физиологического раствора с 2-3 каплями гепарина. Смесь в пробирке тщательно перемешивается.

3. Из крови лимфоциты выделяются в градиенте плотности фиколл-верографин по общепринятой методике путем центрифугирования при 1500 об. в мин.

4. Далее проводится 2х-3х кратное промывание лимфоцитов в физиологическом растворе с последующим центрифугированием.

5. После последнего центрифугирования удаляется надосадочная жидкость. Осадок, содержащий лимфоциты, разбавляется 600 мкл физиологического раствора и перемешивается.

3. Проведение инактивации и оценка способности вирусов HBV, HCV или HIV проникать в лимфоциты человека *in vitro*.

1. Для проведения исследований по оценке влияния Установки на вирусы от больных с моно- HBV, HCV или HIV инфекцией отбираются плазмы крови, содержащие соответственно в высоких установленных заранее методом ПЦР HBV, HCV или HIV. Вирусосодержащая плазма разделяется по объему на две равные части (1-я и 2-я часть) каждая на 2 пробирки (пробирка №1 и пробирка №2).

2. 1-я часть вирусосодержащей плазмы переносится в лунку стерильного шестилуночного пластикового планшета, туда же добавляется в равном

объеме 0,02% раствора метиленового синего (при двухкратном разведении 0,02% раствора метиленового синего получается 0,01% раствор). Планшет устанавливается в камеру Установки для инактивации, открывается крышка планшета и включается монохроматический излучатель. Экспозиция длится 45 - 90 минут.

3. После экспозиции закрывается крышка планшета, планшет вынимается из камеры установки.
4. Содержимое лунки планшета (смесь 1-ой части инактивированной вирусодержащей плазмы с метиленовым синим) переносится в пробирку с 1-ой частью взвеси лимфоцитов (пробирка №1 – опытная). 2-я часть вирусодержащей плазмы (не подвергшаяся инактивации) переносится в пробирку со 2-ой частью взвеси лимфоцитов (пробирка №2 - контрольная).
5. Содержимое обеих пробирок тщательно перемешивается и ставится в термостат при 37°C на 6-8 часов (Инкубация вирусов с лимфоцитами). Каждые 1,5-2 часа пробирки встряхиваются и содержимое перемешивается.
6. Далее Пробирки №1 и №2 вынимаются из термостата. В них добавляется 6-8 мл физиологического раствора, перемешивается и центрифугируется при 1500 об./мин. в течение 15 минут. Происходит осаждение лимфоцитов на дно пробирок. Надосадочная жидкость удаляется полностью. Далее таким же образом производится 2х-3х кратное промывание в физиологическом растворе и осаждение лимфоцитов.
7. После последнего центрифугирования и удаления надосадочной жидкости взвесь лимфоцитов в обеих пробирках разбавляется равным объемом (300 мкл) физиологического раствора.
8. После этого для разрушения лимфоцитов обе пробирки ставятся в морозильную камеру бытового холодильника на ночь. При медленном замораживании происходит разрушение мембран лимфоцитов.
9. На следующий день пробирки вынимаются из морозильника и оттаиваются при комнатной температуре. Далее, для удаления из взвеси мембранных структур разрушенных лимфоцитов пробирки подвергаются центрифугированию при 3000 об/мин. в течение 30 минут. На дно пробирки осаждаются мембранные структуры, в надосадочной жидкости остается содержимое цитоплазмы лимфоцитов.
10. Надосадочная жидкость из обеих пробирок отсасывается и подвергается количественному ПЦР-исследованию на предмет выявления в содержимом цитоплазмы лимфоцитов ДНК либо РНК вирусов, которые содержались ранее в плазме крови от больных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ «УСТАНОВКИ ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ РНК И ДНК ВИРУСОВ НА МЕДИЦИНСКОМ ИНСТРУМЕНТАРИИ».

I. Оценка инактивирующего эффекта Установки на РНК HCV.

Испытания от 07.07.2010 г.

Постановка ПЦР от 07.07.2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий РНК HCV / мл
Вирусосодержащая плазма	--	$1,8 \times 10^3$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$9,7 \times 10^2$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%
	Образец 2	0,01%

Оценка результатов опыта от 07.07.2010 г.

После экспозиции в Установке в течение 45 минут HCV содержащей (плазмы как с 0,02%, так и 0,01% раствором метиленового синего HCV инактивировался и полностью утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР был отрицательным. В то же время при инкубации лимфоцитов с не инактивированной HCV содержащей плазмой (контроль) было констатировано проникновение HCV в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР показал наличие $9,7 \times 10^2$ частиц вируса в 1 мл. содержимого цитоплазмы лимфоцитов.

Оценка: В результате воздействия в течение 45 минут в Установке фотоактивированного 0,02% и 0,01% растворов метиленового синего в течение 45 минут отмечена полная потеря проникающей в лимфоциты человека способности вируса, то есть инактивация HCV.

Испытания от 21. 12. 2010 г.

Постановка ПЦР от 22. 12. 2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий РНК HCV / мл	
Вирусосодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$8,0 \times 10^2$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	Отрицательный
	Образец 2	0,01%	Отрицательный

Оценка результатов опыта от 12. 12. 2010 г.

После экспозиции в Установке в течение 45 минут HCV содержащей (плазмы как с 0,02%, так и 0,01% раствором метиленового синего HCV инактивировался и полностью утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР был отрицательным. В то же время при инкубации лимфоцитов с не инактивированной HCV содержащей плазмой (контроль) было констатировано проникновение HCV в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР показал наличие $8,0 \times 10^2$ частиц вируса в 1 мл. содержимого цитоплазмы лимфоцитов.

Оценка: В результате воздействия в течение 45 минут в Установке фотоактивированного как 0,02%, так и 0,01% растворов метиленового синего в течение 45 минут отмечена полная потеря проникающей в лимфоциты человека способности вируса, то есть инактивация HCV.

Испытания от 02.04.2011 г.

Постановка ПЦР от 04.04.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 минут

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий РНК HCV / мл	
Вирусосодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$1,5 \times 10^3$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	Отрицательный
	Образец 2	0,02%	Отрицательный
	Образец 1	0,01%	Отрицательный
	Образец 2	0,01%	Отрицательный

Оценка результатов опыта от 12.12.2010 г.

После экспозиции в Установке в течение 90 минут HCV содержащей (плазмы как с 0,02%, так и 0,01% раствором метиленового синего HCV инактивировался и полностью утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР был отрицательным. В то же время при инкубации лимфоцитов с не инактивированной HCV содержащей плазмой (контроль) было констатировано проникновение HCV в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР показал наличие $1,5 \times 10^3$ частиц вируса в 1 мл. содержимого цитоплазмы лимфоцитов.

Оценка: В результате воздействия в течение 90 минут в Установке фотоактивированного как 0,02%, так и 0,01% растворов метиленового синего отмечена полная потеря проникающей в лимфоциты человека способности вируса, то есть инактивация HCV.

Заключение по оценке инактивирующего эффекта Установки на РНК HCV.

После экспозиции в «Установке для инактивации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» эффект воздействия на HCV фотоактивированного метиленового синего выразился в инактивации HCV - в полной утрате HCV способности проникать в лимфоциты человека. Данный эффект был получен при 0,02% и 0,01% концентрациях раствора метиленового синего, а также при длительности экспозиции как в 90 минут, так и в 45 минут.

II. Оценка инактивирующего эффекта Установки на РНК HIV.

Испытания от 16. 11. 2010 г.

Постановка ПЦР от 17.11. 2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования		Концентрация МС	Количество копий РНК HIV / мл
Вирусодержащая плазма			$1,4 \times 10^5$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)			$3,8 \times 10^2$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	Отрицательный
	Образец 2	0,01%	Отрицательный

Оценка результатов опыта от 16. 11. 2010 г.

После экспозиции в Установке в течение 45 минут HIV содержащей (плазмы как с 0,02%, так и 0,01% раствором метиленового синего HIV инактивировался и полностью утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР был отрицательным. В то же время при инкубации лимфоцитов с не инактивированной HIV содержащей плазмой (контроль) было констатировано проникновение HIV в цитоплазму лимфоцитов человека – результат ПЦР показал наличие $3,8 \times 10^2$ частиц вируса в 1 мл содержимого цитоплазмы лимфоцитов.

Оценка: В результате воздействия в течение 45 минут в Установке фотоактивированного как 0,02%, так и 0,01% растворов метиленового синего отмечена полная потеря проникающей в лимфоциты человека способности вируса, то есть инактивация HIV.

III. Оценка инактивирующего эффекта Установки на ДНК HBV.

Испытания от 13.11.2010 г.

Постановка ПЦР от 16.11.2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования		Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусосодержащая плазма		--	----
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивирующей вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)			$4,2 \times 10^4$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивирующей в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,01%	$1,5 \times 10^4$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 45 минут в 0,01% растворе метиленового синего HBV не утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов. Но получено, что после инкубации в Установке HBV содержащей плазмы количество частиц HBV, обнаруженных в содержимом цитоплазмы лимфоцитов было существенно меньше ($1,5 \times 10^4$ частиц), чем в контроле ($4,2 \times 10^4$ частиц). Установке не проявила инактивирующий эффект на HBV.

Испытания от 30.11.2010 г.

Постановка ПЦР от 1.12.2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования		Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусосодержащая плазма		--	----
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)			
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,01%	Положительно
	Образец 2		Положительно
	Образец 3		Положительно
	Образец 4		Положительно

Оценка результата опыта. Было осуществлено повторение опыта от 13.11.2010 г. Параллельно с 4-мя образцами. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 45 минут в 0,01% растворе метиленового синего во всех образцах ПЦР исследованиями было констатировано наличие HBV в содержимом лимфоцитов, то есть HBV не утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов. Установка не проявила инактивирующий эффект на HBV.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Изменение концентрации раствора метиленового синего.

Испытания от 04. 12. 2010 г.

Постановка ПЦР от 6. 12. 2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования		Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусодержащая плазма		--	$9,9 \times 10^7$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)			$1,7 \times 10^5$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	$2,9 \times 10^3$
	Образец 2	0,04%	$2,7 \times 10^3$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 45 минут в 0,02% и 0,04% растворах метиленового синего во всех образцах ПЦР исследованиями было констатировано наличие соответственно $2,9 \times 10^3$ и $2,7 \times 10^3$ частиц HBV в содержимом лимфоцитов, то есть HBV не утратил способность проникать в цитоплазму лимфоцитов. При повышении концентрации метиленового синего до 0,04% установка не проявила инактивирующий эффект на HBV.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Изменение концентрации раствора метиленового синего.

Испытания от 17. 12. 2010 г.

Постановка ПЦР от 18. 12. 2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590±5 nm. Время экспозиции в Установке 45 минут

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусосодержащая плазма	--	$7,2 \times 10^6$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$6,6 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,04%	$1,6 \times 10^3$
	Образец 2	0,06%	Отрицательный

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 45 минут в 0,04% растворе метиленового синего ПЦР исследованиями было констатировано наличие $1,6 \times 10^3$ частиц HBV в содержимом лимфоцитов. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 45 минут в 0,06% растворе метиленового синего ПЦР исследованиями было констатировано отсутствие частиц HBV в содержимом лимфоцитов.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Изменение времени экспозиции в Установке.

Испытания от 25. 12. 2010 г.

Постановка ПЦР от 27. 12. 2010 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 45 мин. и 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$1,6 \times 10^5$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1 (45 мин)	0,02%	$6,0 \times 10^3$
	Образец 2 (90 мин)	0,02%	$3,0 \times 10^3$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 45 минут и 90 минут было констатировано наличие соответственно $6,0 \times 10^3$ и $3,0 \times 10^3$ частиц HBV в содержимом лимфоцитов. То есть, увеличение времени экспозиции способствовало лишь уменьшению количества HBV, проникших в цитоплазму лимфоцитов. Увеличение времени экспозиции в Установке не обеспечило полной инактивации HBV.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Увеличение времени экспозиции в Установке и концентрации раствора метиленового синего.

Испытания от 04. 01. 2011 г.

Постановка ПЦР от 05. 01. 2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	$3,7 \times 10^5$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$4,2 \times 10^5$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,04%	$8,3 \times 10^3$
	Образец 2	0,06%	$8,1 \times 10^3$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,04% и 0,06% растворах метиленового синего было констатировано наличие соответственно $8,3 \times 10^3$ и $8,1 \times 10^3$ частиц HBV в содержимом лимфоцитов. То есть, увеличение времени экспозиции и концентрации раствора не обеспечило полной инактивации HBV в Установке.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Увеличение времени экспозиции в Установке и концентрации раствора метиленового синего.

Испытания от 11.01.2011 г.

Постановка ПЦР от 14.01.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	$1,6 \times 10^7$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивирующей вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$3,0 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивирующей в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,04%	$3,7 \times 10^2$
	Образец 2	0,06%	$9,8 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,04% и 0,06% растворах метиленового синего было констатировано наличие соответственно $3,7 \times 10^2$ и $9,8 \times 10^2$ частиц HBV в содержимом лимфоцитов. То есть, между увеличением времени экспозиции и концентрации раствора не выявлено закономерной связи с инактивирующим эффектом установки.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Увеличение времени экспозиции в Установке и понижение концентрации раствора метиленового синего.

Испытания от 19.01.2011 г.

Постановка ПЦР от 19.01.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусосодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивирующей вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$1,4 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивирующей в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	Отрицательный
	Образец 2	0,04%	$9,4 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе метиленового синего было констатировано отсутствие HBV в содержимом цитоплазмы лимфоцитов. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,04% растворе метиленового синего было констатировано наличие $9,4 \times 10^2$ частиц HBV в содержимом лимфоцитов. То есть, между увеличением времени экспозиции и уменьшением концентрации раствора не выявлено закономерной связи с инактивирующим эффектом установки.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Применение различных концентраций раствора метиленового синего.

Испытания от 19.01.2011 г.

Постановка ПЦР от 19.01.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$8,9 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,005%	$1,2 \times 10^3$
	Образец 2	0,01%	$1,4 \times 10^3$
	Образец 3	0,02%	$9,6 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,005%, 0,01% и 0,02% растворах метиленового синего было констатировано наличие в содержимом цитоплазмы лимфоцитов соответственно $1,2 \times 10^3$, $1,4 \times 10^3$ и $9,6 \times 10^2$ частиц HBV в 1 мл. Применение различных концентраций метиленового синего не способствовало полной инаktivации вирусов HBV.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Применение различных концентраций раствора метиленового синего.

Испытания от 01.02.2011 г.

Постановка ПЦР от 02.02.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$2,9 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,01%	$9,3 \times 10^2$
	Образец 2	0,02%	$1,6 \times 10^2$
	Образец 3	0,04%	$4,6 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,01%, 0,02% и 0,04% растворах метиленового синего было констатировано наличие в содержимом цитоплазмы лимфоцитов соответственно $9,3 \times 10^2$, $1,6 \times 10^2$ и $4,6 \times 10^2$ частиц HBV в 1 мл. Применение различных концентраций метиленового синего не способствовало полной инаktivации вирусов HBV.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Применение 0,02% раствора метиленового синего.

Испытания от 08. 02. 2011 г.

Постановка ПЦР от 09. 02. 2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	---	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$3,1 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	Отрицательный
	Образец 2	0,02%	$1,9 \times 10^3$
	Образец 3	0,02%	$7,5 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 3 образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе метиленового синего было получено: в образце 1 в содержимом лимфоцитов частицы ДНК HBV обнаружены не были; в образцах 2 и 3 в содержимом цитоплазмы лимфоцитов были обнаружены соответственно $1,9 \times 10^3$, и $7,5 \times 10^2$ частиц HBV в 1 мл. То есть, при применении параллельно в нескольких образцах 0,02% раствора метиленового синего инактивирующий эффект Установки на HBV не был выявлен.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Повторение испытаний от 08. 02. 2011 г.

Испытания от 22. 02. 2011 г.

Постановка ПЦР от 24. 02. 2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	----	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$1,0 \times 10^4$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	$9,9 \times 10^2$
	Образец 2	0,02%	Отрицательный
	Образец 3	0,02%	$1,4 \times 10^3$
	Образец 3	0,02%	Отрицательный

Оценка результата опыта. В опытах применяли 0,02% раствор метиленового синего. После инкубации в Установке параллельно 4-х образцов HBV содержащей плазмы, 0,02% раствором метиленового синего получены следующие результаты: в первом образце выявлено $9,9 \times 10^2$ частиц ДНК HBV, во втором образце частицы ДНК HBV обнаружены не были, в третьем образце выявлено $1,4 \times 10^3$ частиц ДНК HBV, в четвертом образце частицы ДНК HBV обнаружены не были. То есть, закономерные результаты об инактивирующем эффекте Установки на HBV получены не были.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Повторение испытаний от 22. 02. 2011 г.

Испытания №1 от 18. 03. 2011 г.

Постановка ПЦР от 23. 03. 02. 2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусодержащая плазма	--	$9,9 \times 10^7$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивирующей вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)			
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивирующей в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	$1,9 \times 10^2$
	Образец 2	0,02%	$9,7 \times 10^2$
	Образец 3	0,02%	$9,3 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 3 образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе метиленового синего было получено: в образце 1 в содержимом лимфоцитов были обнаружены $1,9 \times 10^2$ частиц ДНК HBV, в образцах 2 и 3 в содержимом цитоплазмы лимфоцитов были обнаружены соответственно $9,7 \times 10^2$ и $9,3 \times 10^2$ частиц ДНК HBV в 1 мл. Результаты об инактивирующем эффекте Установки на HBV получены не были.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Испытания №2 от 18. 03. 2011 г.

Постановка ПЦР от 23. 03. 02. 2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования		Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусодержащая плазма		--	$9,9 \times 10^7$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивирующей вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)			
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивирующей в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 4	0,02%	$4,6 \times 10^2$
	Образец 5	0,02%	$1,6 \times 10^2$
	Образец 6	0,02%	$3,6 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 3 образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе метиленового синего было получено: в образце 1 в содержимом лимфоцитов были обнаружены $4,6 \times 10^2$ частиц ДНК HBV, в образцах 2 и 3 в содержимом цитоплазмы лимфоцитов были обнаружены соответственно $1,6 \times 10^2$ и $3,6 \times 10^2$ частиц ДНК HBV в 1 мл.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Применение различных концентраций метиленового синего.

Испытания №1 от 01.04.2011 г.

Постановка ПЦР от 02.04.02.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования		Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусодержащая плазма		--	$4,6 \times 10^6$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)			
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	$1,1 \times 10^3$
	Образец 2	0,02%	Отрицательный
	Образец 3	0,02%	$6,6 \times 10^2$
	Образец 4	0,01%	$4,9 \times 10^2$
	Образец 5	0,01%	$1,1 \times 10^3$
	Образец 6	0,01%	$7,3 \times 10^3$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 3 образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе и 3 образцов в 0,01% растворе метиленового синего было получено: при инактивации вирусов плазмы в 0,02% растворе метиленового синего в образце 1 в содержимом лимфоцитов были обнаружены $1,1 \times 10^3$ частиц ДНК HBV в 1 мл, в образце 2 частицы ДНК HBV обнаружены не были, в образце 3 в содержимом цитоплазмы лимфоцитов были обнаружены $6,6 \times 10^2$ частиц ДНК HBV в 1 мл. При инактивации вирусов плазмы в 0,01% растворе метиленового синего в образцах 4, 5 и 6 содержимого лимфоцитов были обнаружены соответственно $4,9 \times 10^2$, $1,1 \times 10^3$ и $7,3 \times 10^3$ частиц ДНК HBV в 1 мл.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Дублирование испытаний от 01. 04. 2011 г. с применением 0,02% раствора метиленового синего.

Испытания от №2 01. 04. 2011 г.

Постановка ПЦР от 02.04. 02. 2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл	
Вирусосодержащая плазма	--	$2,9 \times 10^6$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивирующей вирусосодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$3,1 \times 10^3$	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивирующей в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	0,02%	Отрицательный
	Образец 2	0,02%	$2,2 \times 10^3$
	Образец 3	0,02%	$4,7 \times 10^2$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 3 образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе метиленового синего было получено: в образце 1 в содержимом лимфоцитов частиц ДНК HBV обнаружены не были, в образцах 2 и 3 содержимого лимфоцитов были обнаружены соответственно $2,2 \times 10^3$ и $4,7 \times 10^2$ частиц ДНК HBV в 1 мл.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Применение 0,02% и 0,01% растворов метиленового синего.

Испытания от 05.04.2011 г.

Постановка ПЦР от 06.04.02.2011 г.

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590 ± 5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусодержащая плазма	--	
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль) (без МС)		$4,7 \times 10^5$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	Образец 1	$3,5 \times 10^4$
	Образец 2	$1,5 \times 10^4$
	Образец 3	$1,2 \times 10^4$
	Образец 4	$1,2 \times 10^4$
	Образец 5	$4,2 \times 10^4$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 3 образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе и 2 образцов HBV содержащей плазмы в 0,01% растворе метиленового синего было получено: при инактивации вирусов плазмы в 0,02% растворе метиленового синего в образце 1 в содержимом лимфоцитов были обнаружены $3,5 \times 10^4$ частиц, в образце 2 - $1,5 \times 10^4$ частиц и в образце 3 было обнаружено $1,2 \times 10^4$ частиц ДНК HBV в 1 мл. В образцах 4 и 5 содержимого лимфоцитов, инкубированных с HBV содержащей плазмой, инкубированной в 0,01% растворе метиленового синего были обнаружены соответственно $1,2 \times 10^4$ и $4,2 \times 10^4$ частиц ДНК HBV в 1 мл.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Применение 0,02% и 0,01% растворов метиленового синего.

Испытания 26.04.2011

Постановка ПЦР 27.04.2011

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590±5 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусосодержащая плазма		$9,9 \times 10^7$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с неинактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль)		$1,5 \times 10^5$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	0,01%	$3,6 \times 10^3$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	0,02%	$5,5 \times 10^3$

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке 1 образца HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% растворе и 1 образца HBV содержащей плазмы в 0,01% растворе метиленового синего было получено: при инактивации вирусов плазмы в 0,02% растворе метиленового синего в содержимом лимфоцитов были обнаружены $3,6 \times 10^3$ частиц ДНК HBV в 1 мл, а при инактивации вирусов плазмы в 0,01% растворе метиленового синего в содержимом лимфоцитов были обнаружены $5,5 \times 10^3$ частиц ДНК HBV в 1 мл.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Изменение параметров монохроматического излучателя.

Испытания 26.04.2011

Постановка ПЦР 27.04.2011

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения **590±2 nm**. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусодержащая плазма		$9,9 \times 10^7$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с не инактивированной вирусодержащей плазмой (контроль)		$1,5 \times 10^5$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	0,01%	Отрицательно
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	0,02%	Отрицательно

Оценка результата опыта. Монохроматические излучатели с диапазоном излучения в 590 ± 5 nm были заменены на излучатели с диапазоном излучения в 590 ± 2 nm. После инкубации в Установке образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% и 0,01% растворах метиленовой сини в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации в Установке HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

Итак, при использовании монохроматического излучателя с диапазоном излучения в 590 ± 2 nm Установка оказала полный инактивирующий эффект на HBV при его инактивации как в 0,02% растворе, так и в 0,01% растворе метиленового синего.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Повторение условий опыта от 24.04.2011.

Испытания 03.05.2011

Постановка ПЦР 05.05.2011

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения **590±2 nm.** Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусосодержащая плазма		$5,05 \times 10^7$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с неинактивированной вирусосодержащей плазмой (контроль)		$1,2 \times 10^4$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	0,01%	Отрицательно
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусосодержащей плазмой (опыт)	0,02%	Отрицательно

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,02% и 0,01% растворах метиленовой сини в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации в Установке HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

Установка оказала полный инактивирующий эффект на HBV при его инактивации в 0,02% и в 0,01% растворах метиленового синего.

Поиск и устранение причин отсутствия инактивирующего эффекта Установки на HBV.

Повторение условий опыта от 24.04.2011 с применением различных концентраций раствора метиленового синего.

Испытания 03.05.2011

Постановка ПЦР 05.05.2011

Характеристика монохроматических излучателей Установки: диапазон длины волны излучения 590±2 nm. Время экспозиции в Установке 90 мин.

Объект количественного ПЦР-исследования	Концентрация МС	Количество копий ДНК HBV / мл
Вирусодержащая плазма		$5,05 \times 10^7$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с неинактивированной вирусодержащей плазмой (контроль)		$1,2 \times 10^4$
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	0,01%	Отрицательно
Содержимое цитоплазмы лимфоцитов после инкубации с инактивированной в Установке вирусодержащей плазмой (опыт)	0,005%	Отрицательно

Оценка результата опыта. После инкубации в Установке образцов HBV содержащей плазмы в течение 90 минут в 0,01% и 0,005% растворах метиленовой сини в содержимом лимфоцитов методом ПЦР частицы ДНК HBV обнаружены не были. Это указывало, что после инактивации в Установке HBV полностью утратил способность проникать в лимфоциты человека.

Результаты, полученные от 24.04.2011 и 03.05.2011 г. были полностью подтверждены: при применении монохроматических излучателей с диапазоном длины волны излучения в 590±2 nm Установка оказала полный инактивирующий эффект на HBV при его инактивации как в 0,01% растворе, так и в 0,005% растворе метиленового синего.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам испытаний эффективности
«Установки для инаktivации РНК и ДНК вирусов на медицинском
инструментарии», разработанной в ООО «New Medical Technologies» на
жизнеспособность и патогенные свойства вирусов заболеваний
человека - гепатита В, гепатита С и ВИЧ.

1. При испытаниях для оценки функциональности «Установки для инаktivации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» группой разработчиков был разработан и применен Метод контроля функциональности Установки – инаktivации HCV, HIV и HBV, на определении способности HCV, HIV и HBV проникать в лимфоциты человека *in vitro*, с последующим ПЦР исследованием содержимого цитоплазмы лимфоцитов. Данный метод научно обоснован и признаётся вполне адекватным для решения задачи по определению жизнеспособности и патогенности HCV, HIV и HBV.

2. «Установка для инаktivации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» с монохроматическими излучателями с диапазоном излучения в 590±2 nm обеспечивает полную инаktivацию HCV, HIV и HBV в 0,02%, 0,01% и 0,005% растворах метиленового синего. Эффект инаktivации в Установке выражается в полном лишении HCV, HIV и HBV способности проникать и заражать лимфоциты человека.

3. Считаю целесообразным внедрение «Установки для инаktivации РНК и ДНК вирусов на медицинском инструментарии» в массовое производство для широкого практического использования в учреждениях здравоохранения.

Заместитель директора
Референс - лаборатории Минздрава Руз,
кандидат медицинских наук

АЛИЕВА Л. Е.

Врач-лаборант
референс лаборатории

КАН Н. Г.

