

Министерство здравоохранения Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА ИМЕНИ
А.А. СМОРОДИНЦЕВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБУ «НИИ ГРИППА ИМ. А.А. СМОРОДИНЦЕВА» МИНЗДРАВА РОССИИ)

УДК 615.218.8

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по научной работе

ФГБУ «НИИ гриппа

им. А.А.Сморозинцева»

Минздрава России

канд. биол. наук

Д.М. Даниленко

2020 г.



ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ № НИР-ЛХТ-СА-015/2020 ПО
ДОГОВОРУ №07092020 ОТ 7.09.2020

ИССЛЕДОВАНИЕ ВИРУЛИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ УСТАНОВОК NTL-
ADVANSYS-15.2U И NTL-ADVANSYS-30U (БАКТЕРИЦИДНЫЙ РЕЦИРКУЛЯТОР-
ОБЛУЧАТЕЛЬ ВОЗДУХА ЗАКРЫТОГО/ОТКРЫТОГО ТИПА) В ОТНОШЕНИИ
ВИРУСА ГРИППА АЭРОЗОЛЬНЫМ МЕТОДОМ

Руководитель НИР:
Зав. лабораторией
химиотерапии вирусных инфекций
канд.биол.наук

А.А. Широ

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель НИР, заведующий лабораторией химиотерапии вирусных инфекций, кандидат биологических наук

 9.10.2020

подпись, дата

А.А. Штро
(все разделы)

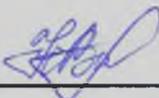
Научный сотрудник

 9.10.2020

подпись, дата

А.В. Гаршинина
(раздел 2)

Младший научный сотрудник

 9.10.2020

подпись, дата

В.А. Федорова
(раздел 2)

РЕФЕРАТ

Отчет 12 с, 2 рис., 1 табл., 3 источ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ВИРУС ГРИППА, ВИРУЛИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ.
АСПИРАЦИОННЫЙ МЕТОД, АЭРОЗОЛЬНЫЙ МЕТОД

Объектами исследования являются бактерицидные рециркуляторы закрытого/открытого типа HTL-Advansys-15.2 U и HTL-Advansys-30U.

Цель работы – исследовать вирулицидную активность установок HTL-Advansys-15.2 U и HTL-Advansys-30U в отношении вируса гриппа аэрозольным методом.

В работе использовали следующие методы: метод аэрозольной дезинфекции, титрование на куриных эмбрионах, реакция гемагглютинации.

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ	2
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	7
1. Материалы и методы, используемые при изучении вирулицидной активности	7
1.1. Исследуемый прибор	7
1.2. Помещение	7
1.3. Вирусы.....	7
1.4. Распыление вирусов.....	7
1.5. Метод отбора проб	9
1.6. Количественное определение вируса в пробах	10
2. Результаты исследования вирулицидной активности установок НТЛ-Advansys-15.2 U и НТЛ-Advansys-30U	10
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	11
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	12

ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие термины с соответствующими определениями, сокращения и обозначения:

КЭ – куриные эмбрионы

НИР – научно-исследовательская работа

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

50 % клеток

РГА – реакция гемагглютинации

УФ – ультрафиолет

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные заболевания являются острой медико-социальной проблемой, приводя к ежегодным эпидемиям, вовлекающим большую часть человеческой популяции. Наиболее распространенной инфекцией данной группы является грипп, которым ежегодно переболевают до 15% населения Земли, причем для нескольких сотен тысяч человек это заболевание заканчивается летальным исходом [1].

Высокая скорость накопления мутаций дает вирусу гриппа возможность ускользать от иммунной системы хозяина, что приводит к необходимости ежегодно изменять состав вакцин, предназначенных для защиты населения в текущий эпидемический сезон [2].

Одним из важных способов профилактики респираторных инфекций являются мероприятия по обеззараживанию воздуха, в котором вирусы обычно находятся не изолированно, а в составе более крупных частиц пыли или аэрозоля.

Целью настоящего исследования является исследование вирулицидной активности установок НТЛ-Advansys-15.2 U и НТЛ-Advansys-30U в отношении вируса гриппа аэрозольным методом.

Задачей исследования являлось

1. Провести тестирование вирулицидной активности рециркуляторов бактерицидных НТЛ-Advansys-15.2 U и НТЛ-Advansys-30U в отношении вируса гриппа A/PuertoRico/8/34 (H1N1) аэрозольным методом

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Материалы и методы, используемые при изучении вирулицидной активности

1.1. Исследуемый прибор

Рециркуляторы бактерицидные закрытого/открытого типа HTL-Advansys-15.2 U и HTL-Advansys-30U, оснащенные безозоновыми УФ лампами. Приборы предназначены для обеззараживания воздуха помещения и могут работать в присутствии людей в помещении длительное время при неснятом кожухе. Предоставлены Заказчиком.

1.2. Помещение

Обеззараживание воздуха бактерицидным рециркулятором HTL-Advansys-30U осуществляли в отдельном боксовом помещении площадью 15м², окруженном с двух сторон стерильными боксами и предбоксником. Перед каждым новым экспериментом боксовое помещение обрабатывали 0,3% дезинфицирующим раствором «Мистраля» и облучали стационарными потолочными бактерицидными лампами открытого типа в течение 60 минут.

Обеззараживание воздуха бактерицидным рециркулятором HTL-Advansys-15.2 U проводили в отдельном боксовом помещении в шкафу биологической безопасности III класса защиты КСIII. Перед каждым новым экспериментом шкаф обрабатывали 0,3% дезинфицирующим раствором «Мистраля» и облучали УФ в течение 60 минут.

1.3. Вирусы

1.3.1. Вирус гриппа

В работе использовали вирус гриппа А, штамм A/PuertoRico/8/34(H1N1), полученный из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А.Смординцева».

Вирус гриппа был размножен в аллантоисной полости 10-дневных развивающихся куриных эмбрионов, после чего аллантоисная жидкость из эмбрионов была собрана, осветлена при помощи центрифугирования на скорости 7000 об/мин и сконцентрирована центрифугированием при 20000 об/мин.

1.4. Распыление вирусов

В эксперименте по изучению вирулицидного действия прибора HTL-Advansys-30U концентрированный вирус разводили в бессывороточной питательной среде ДМЕМ («Биолот», Россия), содержащей 0,2 мкг/мл ципрофлоксацина. Вирусосодержащую суспензию распыляли в стерильном боксовом помещении с помощью генератора холодного тумана ULV в течение 5-7мин. С целью замедления оседания аэрозоля вируса на стены и пол помещения использовали второй генератор холодного тумана ULV.

меняемый без использования жидкости. Схема расположения приборов в эксперименте представлена на рисунке 1.

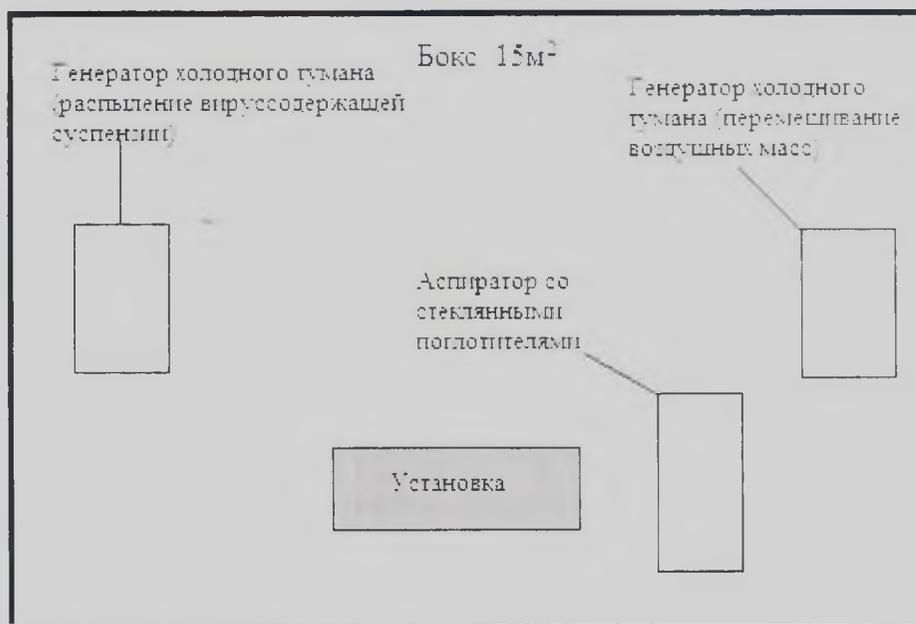


Рисунок 1 – Схема расположения приборов в стерильном боксовом помещении

В эксперименте по изучению вирулицидного действия рециркулятора ПТЦ-Advansys-15.2 U в концентрированный вирус добавляли пептон и распыляли в шкафу биологической безопасности III класса защиты КСIII с помощью медицинского небулайзера Microlife NEB-10 при использовании режима №3 (размер частиц 10-14 мкм) в течение 15 мин. Для замедления оседания аэрозоля вируса на поверхности использовали вентилятор Orient F2035. Для поддержания необходимого уровня влажности в ламинарном шкафу параллельно с вирусосодержащей суспензией осуществляли распыление дистиллированной воды с помощью компрессорного небулайзера Omron. Схема расположения приборов в ламинарном шкафу представлена на рисунке 2.

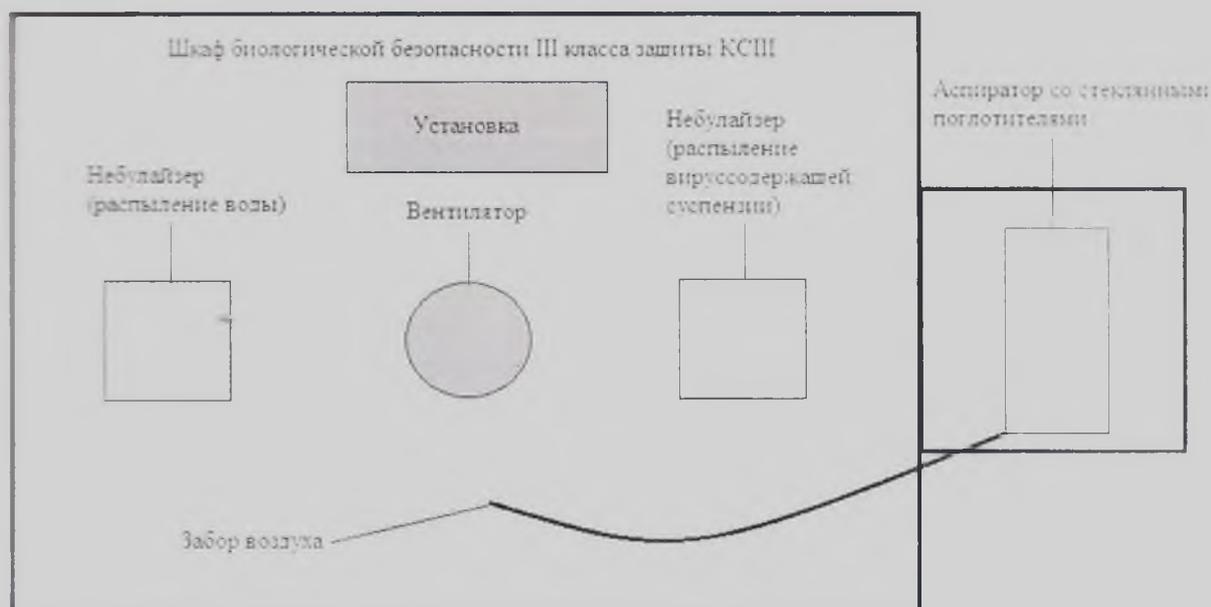


Рисунок 2 – Схема расположения приборов в шкафу биологической безопасности III класса защиты КСIII

1.5. Метод отбора проб

Для определения количественного содержания в воздухе обследуемого помещения вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) использовали аспиратор ПУ-4Э. Этот прибор обеспечивает одновременный забор 4-х проб воздуха (2 пробы с расходом от 0,2 до 2 л/мин и 2 пробы с расходом от 2 до 20 л/мин). Стеклоаннные поглотители были заполнены 6,5% раствором пептона на питательной среде ДМЕМ, содержащей 0,2 мкг/мл пипрофлоксацина. Пептон применяли в качестве стабилизатора вируса. Для большего захвата вируса из объема прокачиваемого воздуха поглотитель с расходом 2-20 л/мин снабжали раструбом (стеклянная воронка диаметром 10 см). Скорость прокачки воздуха устанавливали 20 л/мин.

В эксперименте по изучению вирулицидного действия рециркулятора HTL-Advansys-30U отбор проб воздуха производили через 10 минут после распыления вирусной суспензии. Время отбора проб аспиратором составляло 30 мин. Далее осуществляли обработку помещения в течение 60 минут. Затем снова распыляли вирусную суспензию и включали прибор на 10 минут при неснятом кожухе. Пробы воздуха отбирали сразу после выключения рециркулятора. Время отбора составляло 30 минут.

При изучении вирулицидного действия прибора HTL-Advansys-15.2 U отбор проб воздуха проводили через 30 мин после распыления вирусной суспензии. Пробы отбирали 12 мин. Затем осуществляли обработку ламинарного шкафа УФ и дезинфицирующим раствором (60 мин). После обработки снова распыляли вирусную суспензию и включали

прибор при закрытом кожухе на 30 минут. Пробы воздуха отбирали сразу после включения рециркулятора в течение 12 минут.

1.6. Количественное определение вируса в пробах

После прокачивания воздуха через стеклянные поглотители содержимым проб заражали 10-дневные куриные эмбрионы. Материал, полученный после распыления вируса (до и после обработки помещения/ламинарного шкафа бактерицидными рециркуляторами закрытого/открытого типа), вводили в аллантоисную полость КЭ по 0,2 мл – цельный (не разведенный) и в разведениях 1:10 и 1:100. Далее проводили инкубацию КЭ 3 суток при 37⁰С. Каждой пробой заражали по 2 КЭ. После инкубации в термостате эмбрионы охлаждали в холодильнике (+4-5⁰С) и стерильно отбирали образцы аллантоисной жидкости. Наличие/отсутствие вируса в образцах определяли с помощью реакции гемагглютинации (РГА) с 1% суспензией куриных эритроцитов.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [3] и выражали в 50 % тканевых инфекционных дозах (ТИД₅₀) на 200 мкл объема.

2. Результаты исследования вирулицидной активности установок НТЛ-Advansys-15.2 U и НТЛ-Advansys-30U

Результаты, полученные в ходе испытания бактерицидных рециркуляторов закрытого/открытого типа, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты исследования вирулицидного действия установок НТЛ-Advansys-15.2 U и НТЛ-Advansys-30U в отношении вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1)

Установка	Время обработки, мин	Количество вируса в пробах воздуха, lg ЭИД ₅₀ / 0,2мл		Количество вируса после обработки. % от контроля
		До обработки	После обработки	
НТЛ-Advansys-30U	10	3±0,5	0,83±0,29	0.32
НТЛ-Advansys-15.2 U	30	3,17±0,57	0,67±0.29	0.68

Из данных, представленных в таблице, видно, что при обработке обоими приборами наблюдалось существенное снижение вирусного титра – на 2,17 lg ЭИД₅₀/0.2мл при использовании прибора НТЛ-Advansys-30U и на 2,5 lg ЭИД₅₀/0.2мл при использовании прибора НТЛ-Advansys-15.2 U.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено тестирование дезинфицирующей активности рециркуляторов бактерицидных закрытого/открытого типа HTL-Advansys-15.2 U и HTL-Advansys-30U, оснащенных безозоновыми УФ лампами в отношении вируса гриппа аэрозольным способом.

Показано, что при обработке обоими приборами наблюдалось существенное снижение вирусной нагрузки в воздушной среде – на 2,17 lg ЭИД₅₀/0,2мл при использовании прибора HTL-Advansys-30U и на 2,5 lg ЭИД₅₀/0,2мл при использовании прибора HTL-Advansys-15.2 U.

В процентном соотношении количество жизнеспособного вируса гриппа в воздушной среде составило менее 1% при использовании обоих приборов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Gasparini R., Amicizia D., Lai P.L., Bragazzi N.L., Panatto D. Compounds with *anti-influenza* activity: present and future of strategies for the optimal treatment and management of influenza. Part I: influenza life-cycle and currently available drugs// *Journal of preventive medicine and hygiene* – 2014 - V55(3) - P.69-85.
2. Острые респираторные заболевания // Дрейзин Р.С., Астафьева Н.В. – *М. Медицина*. 1991. – С.52-67.
3. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints *American Journal of Epidemiology*. – 1938. – V.27. – P. 493-497.