

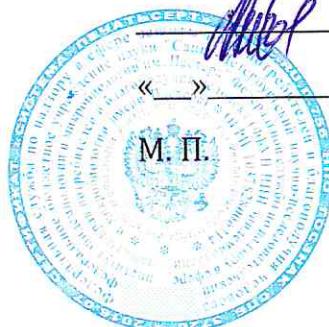
Федеральное бюджетное учреждение науки
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера

 А.А. Тотолян

« » 2020 г.



М.П.

Изучение противовирусной активности материала защитных масок
Заказчика

Руководитель
исследований, к.б.н.


подпись, дата 10.04.2020

В.В. Зарубаев

Санкт-Петербург

2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель
исследования,
д.б.н.


подпись, дата

В.В. Зарубаев

(введение, заключение,
материалы и методы,
результаты)

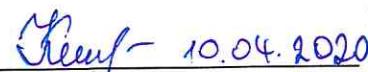
Младший научный
сотрудник


подпись, дата

Я.Л. Есаулкова

(проведение
экспериментальной
части работ)

Научный сотрудник


подпись, дата

Р.А. Кадырова

(проведение
экспериментальной
части работ)

Оглавление

1. Введение.....	4
2. Материалы и методы.....	4
2.1. Реактивы и приборы	4
2.2. Дизайн исследования.....	4
2.3. Титрование вируса.....	5
2.4. Реакция гемагглютинации (РГА).....	5
2.5. Статистическая обработка результатов.....	5
3. Результаты исследования.....	6
4. Заключение.	6

1. Введение.

Целью настоящего исследования было изучение противовирусных свойств образцов масок «САЙВЕР», с вирулицидным компонентом в отношении вируса гриппа. Производитель: ООО «Второе дыхание ТМ», г. Челябинск. Назначение: защита от воздушно-капельных инфекций.".

2. Материалы и методы.

2.1. Реактивы и приборы

Культура клеток MDCK, почка собаки (ATCC; Кат. № CCL-34);

Вирус гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)

Полная среда MEM, содержащая 2 mM L-глутамина, 250 мг/л гентамицина, 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (PAA, Австрия Кат. №E15-825);

Физиологический раствор (0.9% раствор NaCl в дистиллированной воде, стерильный, Биолот, Санкт-Петербург, Кат. № 1.2.1.3);

Флаконы для клеточных культур 25 мл (Corning, США)

96-луночные планшеты (Corning, США, Кат. № 3585);

Наконечники для автоматических пипеток 20-200 мкл;

Ламинарный бокс, второго класса защиты (БОВ-001-АМС, Миасс, Россия);

CO₂- инкубатор МСО-175 (Panasonic, Япония);

2.2. Дизайн исследования.

Клетки MDCK сеяли во флаконы для клеточных культур или в 96-луночные планшеты и инкубировали 24 часа в атмосфере 5% CO₂ при 36°C до формирования монослоя. Вирус наращивали в монослое клеток во флаконах для клеточных культур в течение 48 ч при 36°C.

В работе использовали образцы материала масок, предоставленные Заказчиком:

- N 1.30

- N1.40

- N 1.40C

- N 1.50

- N 1.60.

Образцы материала масок размером 1×1 см помещали в пластиковые пробирки, куда затем вносили 1 мл вируссодержащей жидкости. Пробирку закрывали и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. По истечении этого срока в вируссодержащей жидкости определяли

инфекционную активность вируса как описано ниже. В каждой группе образцов использовали три параллели.

2.3. Титрование вируса.

Из исследуемой вирусодержащей жидкости готовили серию 10 кратных разведений ($10^{-1} - 10^{-7}$) на среде МЕМ. Этими разведениями заражали клетки и инкубировали в термостате в течение 72 часов. По окончании срока инкубации наличие вируса в лунках определяли при помощи реакции гемагглютинации (РГА, см. ниже).

2.4. Реакция гемагглютинации (РГА).

Для определения наличия вируса гриппа в культуральной жидкости проводили реакцию гемагглютинации. Для этого культуральную жидкость переносили в лунки планшета для иммунологических реакций, после чего добавляли равный объем 1% куриных эритроцитов в физиологическом растворе. Планшеты инкубировали при 20°C в течение 1 ч, после чего визуально проводили учет результатов. За титр вируса принимали наибольшее разведение вирусодержащего материала, при котором наблюдалась положительная реакция гемагглютинации. Положительным считают результат реакции, при котором эритроциты равномерно покрывали всё дно лунки. При отрицательной реакции эритроциты в виде маленького диска или «пуговки» располагаются в центре дна анализируемой лунки планшета. За титр вируса принимали величину наибольшего разведения вируса, способного вызвать положительную РГА. Титр выражали в логарифмах 50% инфекционной дозы вируса ($\lg \text{TCID}_{50}$).

2.5. Статистическая обработка результатов.

Результаты измерения инфекционного титра вирусов представляли в виде $M \pm SE$, где M – среднее значение, SE – ошибка эксперимента. Полученные данные сравнивали между собой в парах «вирус с материалом – вирус без материала» с помощью критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

3. Результаты исследования.

Результаты определения инфекционного титра вируса гриппа до и после инкубации с образцами материала масок суммированы в табл.1.

Таблица 1. Влияние инкубации с образцами материала масок на инфекционную активность вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1).

Образец	Инфекционный титр вируса (lg TCID ₅₀ /0.2 мл) после инкубации с материалом масок
Контроль вируса	6,8±0,5
N 1.30	0,8±0,5
N 1.40	0,5±0,6
N 1.40C	4,8±0,5
N 1.50	0,5±0,6
N 1.60	1,3±0,5

Как видно из представленных результатов, инкубация вируса со всеми образцами материала масок в течение 20 минут приводила к резкой потере инфекционной активности вируса. Степень ее снижения составила 5,5 – 6,3 порядка, что является показателем высокой эффективности материала. Исключением явился образец N 1.40C, инкубация с которым привела к снижению вирусного титра лишь на 2 порядка.

4. Заключение.

В экспериментах *in vitro* проведено тестирование вирулицидной активности образцов материала масок, предоставленных Заказчиком. Показано, что предоставленные материалы масок в модельных условиях продемонстрировали высокую вирулицидную активность в отношении вируса гриппа, снижая его инфекционную активность за 20 минут на 5,5 – 6,3 порядка. Основываясь на полученных данных и учитывая неспецифический характер противовирусного действия представленных образцов, можно с высокой вероятностью предполагать их эффективность также и в отношении других вирусных патогенов.