Российская Академия Медицинских Наук

Северо- Западное отделение

Научно- Исследовательский Институт гриппа

(НИИ гриппа СЗО РАМН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор НИИ гриппа СЗО РАМН
акад. РАМН, д.б.н.,
О.И.Киселев

« 15 » октября 2009 г.

Испытание протективной активности респираторов АЛИНА-106, АЛИНА-116, АЛИНА-206, АЛИНА-216, АЛИНА-316 в отношении вируса гриппа

Отчет о НИР

Санкт-Петербург

2009

Введение.

С целью оценки протективных свойств респираторов класса Алина с различными степенями защиты (FFP-1, FFP-2, FFP-3) как средств индивидуальной защиты от воздушно- капельных вирусных инфекций было проведено исследование их пропускающей способности в аэрозольной камере с распыленным вируссодержащим аэрозолем.

Материалы и методы.

Вирусы. В работе использовали вирус гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) из коллекции вирусных штаммов НИИ гриппа РАМН. Вирус культивировали в течение 48 часов при 36°С в аллантоисной полости 10-12 дневных куриных эмбрионов. В качестве заражающего материала использовалась аллантоисная жидкость.

Подготовка материала масок для тестирования. Из материала респираторов вырезали круглые участки (фильтры) диаметром 50 мм и закрепляли их в держателях для фильтров, соединенных с силиконовым шлангом. Держатели с закрепленными образцами подключали к аэрозольной камере. Шланги подсоединяли к системе для отбора проб воздуха, включающей насос, измеритель скорости потока и микроциклон, предназначенный для улавливания частиц аэрозоля, прошедших сквозь фильтр, и содержащий 10 мл физиологического раствора.

Подготовка инфекционного материала. Вируссодержащую аллантоисную жидкость центрифугировали в течение 30 минут при 4°С и 4000 об./мин. После осаждения фрагментов мембран и крупных контаминирующих частиц надосадок центрифугировали при 20 000 об./мин и 4°С в течение 1 часа. Осажденные вирионы ресуспендировали в физиологическом растворе, равном по объему исходному количеству аллантоисной жидкости. Полученная вирусная суспензия имела физические характеристики, близкие к таковым для воды. Это позволило использовать ее для создания аэрозоля, что было затруднительно при использовании аллантоисной жидкости с высоким содержанием белков и, как следствие, большой вязкостью.

Исследование защитных свойств масок. 1,5 мл суспензии вируса (5×10^7 EID_{50}/мл) распыляли в камере объемом 0,4 $м^3$ с помощью вихревого пневматического генератора аэрозоля типа ВАГ-2, расположенного в центре

камеры и обеспечивающего получение аэрозоля с расчетной концентрацией 4×10^7 $EID_{50}/м^3$ с массовым медианным диаметром частиц 3,0 мкм. Для равномерного распределения аэрозоля в объеме камеры использовали постоянно работающий вентилятор. Отбор проб воздуха в микроциклоны (МЦ) для определения концентрации вируса, находящегося в воздушной фазе объема камеры проводили через держатели для фильтров с закрепленными образцами материала масок. В качестве положительного контроля использовали пустой держатель для фильтра. Отбор воздуха проводили в течение 10 минут при скорости потока 7 л/мин, что приблизительно соответствует режиму дыхания человека.

В отдельном эксперименте по той же схеме проводили тестирование материала масок, предварительно выдержанных в течение 3 суток при влажности воздуха 100%, чтобы оценить влияние влажности на защитные свойства материала.

Титрование инфекционной активности вируса. Аликвоты физиологического раствора отбирали из микроциклонов и готовили из них серию десятикратных разведений на фосфатном буфере. 10-12 дневные куриные эмбрионы заражали серийными десятикратными разведениями вирусного материала от 10^0 до 10^{-6} по 0,2 мл на эмбрион и инкубировали в термостате при 36°С в течение 48 часов. По окончании срока инкубации эмбрионы охлаждали, вскрывали и переносили аллантоисную жидкость (0,1 мл) в лунки планшета для иммунологических реакций, после чего добавляли равный объем 1% куриных эритроцитов физиологическом растворе.

Уровень репродукции вируса в эмбрионах оценивали по реакции гемагглютинации (РГА) эритроцитов. За титр вируса принимали величину, противоположную десятичному логарифму наибольшего разведения вируса, способного вызвать положительную реакцию гемагглютинации и выражали в логарифмах 50% экспериментальной инфекционной дозы вируса (lg $ЭИД_{50}$).

Результаты

Данные по титрованию проб воздуха на инфекционную активность вируса гриппа суммированы в табл. 1 и на для наглядности представлены на рис.1.

Таблица 1. Защитные свойства респираторов в отношении вируссодержащего аэрозоля.

Марка респиратора по степени защиты	Инфекционный титр вируса гриппа в пробах воздуха, lg $ЭИД_{50}$/мл	
	Сухой фильтр	Влажный фильтр
FFP-1	0,5±0,0	0,0±0,0
FFP-2	0,0±0,0	0,0±0,0
FFP-3	0,0±0,0	0,0±0,0
Контроль без фильтра	2,5±0,0	3,0±0,5
Распыляемый вирус	7,0±0,5	

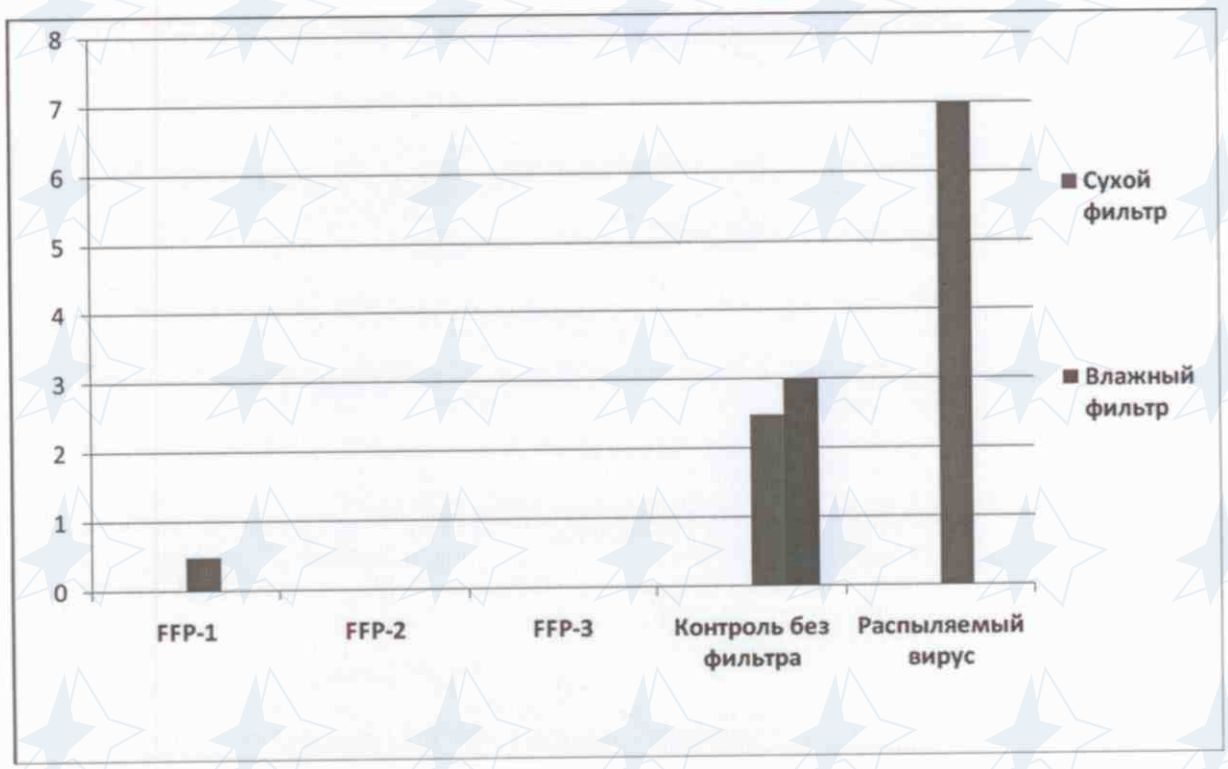

Рис.1. Защитные свойства респираторов в отношении вируссодержащего аэрозоля.

Как следует из представленных данных, все исследованные респираторы задерживали вируссодержащий аэрозоль, снижая концентрацию вируса в воздухе до значений ниже порога чувствительности метода. Несколько меньшей активностью обладал респиратор класса FFP-1, после фильтрации через который воздух содержал минимальные улавливаемые количества инфекционного вируса.

Влажный материал респираторов обладал более выраженной фильтрационной способностью по сравнению с сухим. В этом случае ни один из образцов фильтрующего материала не пропускал аэрозоль с детектируемыми количествами инфекционного вируса.

Таким образом, на основании полученных данных, респираторы серии «Алина» классов защиты FFP-1, FFP-2 и FFP-3 можно рекомендовать как эффективное средство индивидуальной защиты при работе в условиях повышенного риска инфицирования воздушно- капельными инфекциями.

Заведующий лабораторией
молекулярных основ
химиотерапии вирусных инфекций
канд. биол. наук В.В. Зарубаев