

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 вирусосодержащим аэрозодем.

## **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°C 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.** Вирусосодержащую аллантоисную жидкость центрифугировали в течение 30 минут при 4°C и 4000 об./мин. После осаждения фрагментов мембран и крупных контаминирующих частиц надосадов центрифугировали при 20 000 об./мин и 4°C 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 ( $5 \times 10^7$  EID<sub>50</sub>/мл) распыляли в камере объемом 0,4 м<sup>3</sup> с помощью вихревого пневматического генератора аэрозоля типа ВАГ-2, расположенного в центре

камеры и обеспечивающего получение аэрозоля с расчетной концентрацией  $4 \times 10^7$  ЕИД<sub>50</sub>/м<sup>3</sup> 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°C 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<sub>50</sub>).

## 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 вирусосодержащего аэрозоля.

Марка респиратора по степени защиты	Инфекционный титр вируса гриппа в пробах воздуха, lg ЭИД <sub>50</sub> /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	

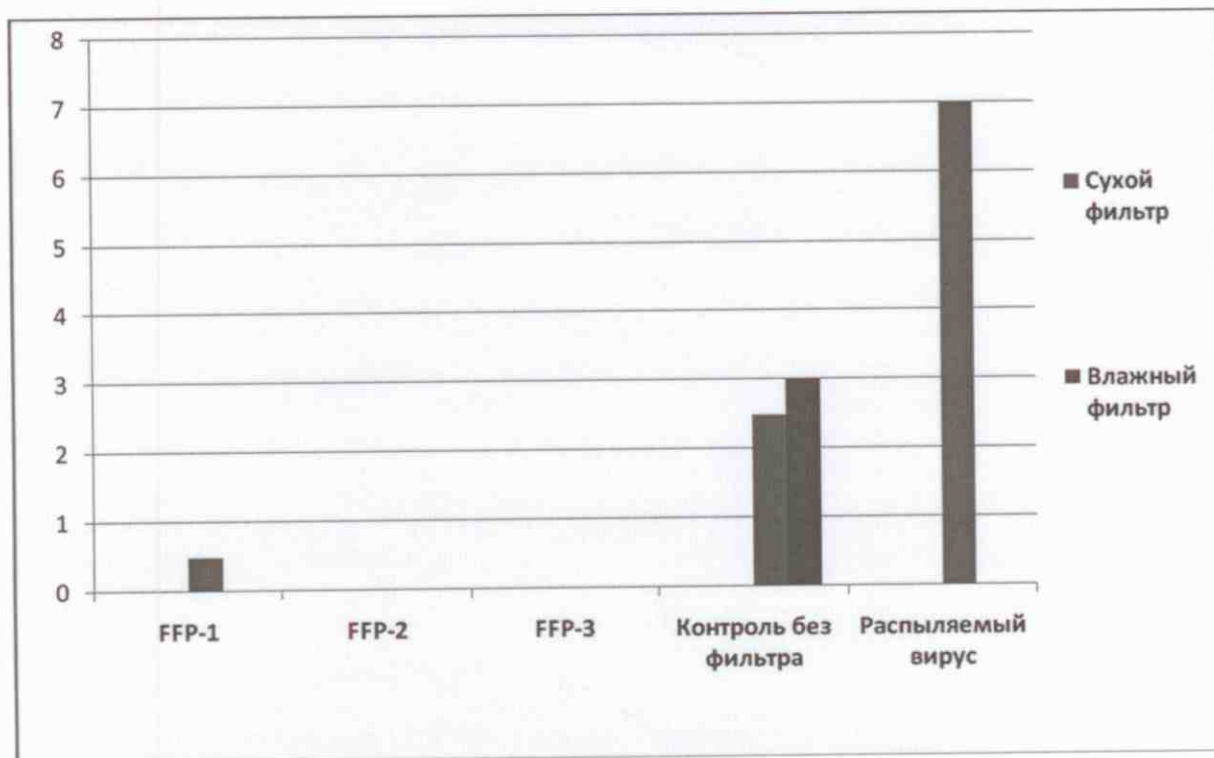


Рис.1. Защитные свойства респираторов в отношении вирусосодержащего аэрозоля.



Как следует из представленных данных, все исследованные респираторы задерживали вирусосодержащий 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