

О проведении научно-исследовательских работ по оценке способности фильтра для носа индивидуального использования «Добронос Ультра» (производства BIO-international Co., Ltd., Япония) задерживать вирус гриппа А Н1N1 с целью профилактики заболевания человека гриппом и ОРВИ

Цель испытания: оценка способности фильтра для носа индивидуального использования «Добронос Ультра» (производства BIO-international Co., Ltd., Япония) задерживать вирус гриппа А Н1N1 и возможности дальнейшего применения изделия для профилактики заболевания человека гриппом и ОРВИ.

Для проведения работы были предоставлены: образцы фильтров для носа «Добронос Ультра».

Краткая характеристика испытуемого изделия и его назначение

«Добронос Ультра» – это продукт, который представляет собой миниатюрные фильтры для носа, соединенные между собой пластиковой душкой. Роль продукта: вдыхаемый через нос воздух очищается от аллергенов и тел вирусов гриппа, что препятствует развитию аллергических симптомов, а также обеспечивает профилактику от заболевания гриппом. Страна производства – Япония.

Материалы и методы

Реактивы и приборы

Культура клеток MDCK, нормальный эпителий почки собаки; женская особь, кокер-спаниель (АТСС; Кат. № ССL-34);

Вирус гриппа: штамм A/Puerto Rico/8/34 (H1N1);

Полная среда MEM, содержащая 2 тМ L-глутамин, 250 мг/л гентамицин, 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (РАА, Австрия Кат. № E15-825);

Физиологический раствор (0,9%-ный раствор NaCl в дистиллированной воде, стерильный, Биолот, Санкт-Петербург, Кат. № 1.2.1.3);

Раствор трипсин 0,1 мг/мл (Sigma, США, T1426);

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

24-луночные планшеты (Orange Scientific, Китай, Кат. № 5530300)

Наконечники для автоматических пипеток 20–200 мкл;

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

CO₂-инкубатор MCO-175 (Panasonic, Япония).

Дизайн исследования

Вирус наращивали в аллантоисной полости 9-дневных куриных эмбрионов в течение 48 ч. при 36 °С. Клетки MDCK сеяли в 96-луночные планшеты из расчета 104 клетки на лунку в объеме 0,2 мл и инкубировали 24 часа в атмосфере 5 % CO₂ при 36 °С до формирования монослоя.

Материал исследуемых фильтров измельчали и помещали в полость инсулинового шприца. В подготовленный таким образом шприц вносили 0,3 мл вирусосодержащей жид-

кости и пропускали ее через материал фильтра. В исходной аллантоисной жидкости и жидкости, пропущенной через шприц, определяли инфекционную активность вируса, как описано ниже.

Титрование вируса

Уровень репродукции вируса определяли в культуре клеток MDCK, выращенных на 96-луночных панелях на среде MEM. 24-луночные планшеты размораживали при комнатной температуре, и из материала лунок готовили серию 10-кратных разведений (10¹–10⁷) на среде MEM. Этими разведениями заражали клетки и инкубировали в термостате в течение 48 часов. По окончании срока инкубации культуральную жидкость переносили в лунку планшета для иммунологических реакций, после чего добавляли равный объем 1 % куриных эритроцитов в физиологическом растворе. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Уровень репродукции вируса в лунках панели оценивали по реакции гемагглютинации (РГА) эритроцитов. За титр вируса принимали величину наибольшего разведения вируса, способного вызвать положительную реакцию гемагглютинации и выражали в логарифмах 50 % инфекционной дозы вируса (lg ИД₅₀).

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 с помощью U-критерия Манна – Уитни пакета программ Statistica 8.0. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Как было показано в ходе экспериментов, инфекционная активность вируса в аллантоисной жидкости составила $6,75 \pm 0,25$ TCID₅₀/0.1 мл. После пропускания через материал фильтра титр вируса достоверно понизился до $6,00 \pm 0,00$ TCID₅₀/0.1 мл ($p < 0,01$), что свидетельствует о способности тестируемого фильтра для носа индивидуального использования «Добронос Ультра» (производства BIO-international Co., Ltd., Япония) задерживать вирус гриппа А Н1N1; исследуемое изделие может быть использовано с целью профилактики заболевания человека гриппом и ОРВИ.

Члены комиссии:

Афиногенова А. Г. – руководитель ИЛЦ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, д. б. н

Зурабаев В. В. – старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, к. б. н