

## Тест 1. Использование естественной аттенуации коронавируса SARS-CoV-2 как методики обеззараживания: на примере пяти библиотечных материалов

В условиях пандемии COVID-19 Институт музейного и библиотечного обслуживания (IMLS) и OCLC совместно с Мемориальным институтом Баттеля работают над поиском и распространением научных данных, помогающих снизить риск передачи COVID-19 среди сотрудников и посетителей в ходе получения или оказания музейных, библиотечных и архивных услуг. В рамках проекта, посвященного возобновлению работы архивов, библиотек и музеев (англ. [REopening Archives, Libraries and Museums](#) или REALM), особое внимание уделяется изучению жизнеспособности вируса SARS CoV-2 (вирус, вызывающий COVID-19) на различных поверхностях, а также методам уменьшения возможного воздействия.

На первом этапе проекта специалисты Мемориального института Баттеля изучили процессы естественной аттенуации, чтобы выяснить, на какой именно срок следует помещать на карантин наиболее часто находящиеся в обращении библиотечные материалы перед повторным использованием. Тестирование проводилось путем нанесения вируса SARS-CoV-2 на пять материалов, содержащихся в условиях стандартной комнатной температуры и влажности. Так, были протестированы следующие материалы, предоставленные Городской библиотечной системой округа Колумбус:

1. Обложка книги в твердом переплете (коленкор),
2. Обложка книги в мягком переплете,
3. Листы простой бумаги внутри закрытой книги,
4. Пластиковая переплетная крышка (двуосноориентированная полиэфирная пленка),
5. Футляр для DVD диска.

**Согласно полученным результатам, вирус SARS-CoV-2 не был обнаружен на материалах после трех дней карантина.** В условиях обычных показателей офисной температуры и относительной влажности, характерных для любого кондиционированного рабочего помещения, создается среда, которая

обеспечивает естественный распад SARS-CoV-2, присутствующего на вышеуказанных материалах, после трех дней карантина. В представленном отчете описаны результаты первой серии испытаний “Тест 1”, включающей тест 1.1 и тест 1.2.

### Методика проведения тестирования

Библиотечные материалы, предоставленные Городской библиотечной системой округа Колумбус, не подвергались предварительной дезинфекции перед тестированием. Специалисты Мемориального института Баттеля вырастили клинический штамм (USA-WA1 / 2020) вируса SARS-CoV-2, а затем осуществили анализ и тестирование с целью определения концентрации вируса. Все испытания проводились в лаборатории [уровня биологической безопасности \(BSL\) -3](#).

Из каждого исследуемого материала были вырезаны тестовые ( $N = 5$ ) и пустые ( $N = 1$ ) полоски-образцы (для каждой контрольной временной точки) размером 1,9 см × 7,6 см. Смесь SARS-CoV-2 нанесли в виде капель (10 капель по 10 мкл, т.е. всего 100 мкл) на каждый образец и дали высохнуть в лабораторных условиях в шкафу биобезопасности класса II (BSCII), как показано на рисунке 1. После высыхания комплект образцов собрали и обработали (проба T0), а оставшиеся тестовые образцы переместили в шкаф биобезопасности класса III для поддержания желаемых условий окружающей среды  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности (RH)  $40 \pm 10\%$ . Фактические условия варьировались в среднем от 21,9 до 22,9 °C и относительной влажности от 41,3 до 50,0% для тестов 1.1 и 1.2 соответственно. После сушки образцы, вырезанные из простой бумаги, убрали обратно в книгу, из которой они были извлечены, и затем книга была помещена в камеру с контролируемой средой для тестирования.

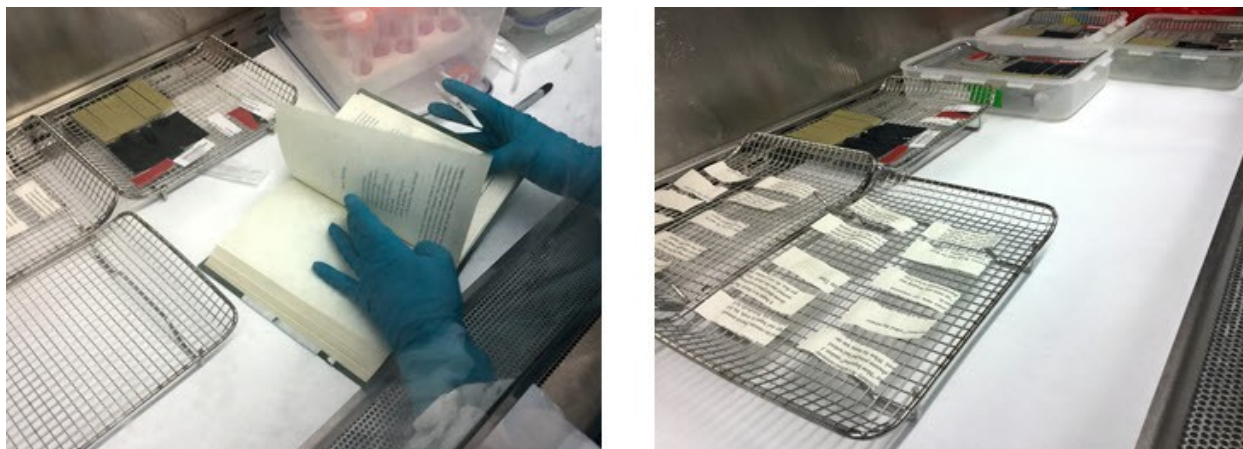


Рисунок 1. Нанесение SARS-CoV-2 на различные материалы.

В указанные временные точки тестовые образцы извлекали из шкафа и помещали в конические пробирки объемом 50 мл (оборудование компании Fisher Scientific, кат. № 14-959-49А, Уолтем, штат Массачусетс, США), экстрагировали с 10 мл среды для культивирования клеток (модифицированная по способу Дульбекко среда Игла, кат. № 10-010-CV, Корнинг, штат Нью-Йорк, США) с добавлением 2% фетальной сыворотки телят (серия Gibco, кат. № 10082147, Карлсбад, штат Калифорния, США) и пенициллина-стрептомицина (серия Gibco, кат. № 15140122) и взбалтывали в шейкере на скорости 200 оборотов в минуту в течение 15 минут.

Во время процесса экстракции существует вероятность того, что химические вещества или адгезивы, присутствующие в тестируемых материалах, могут попасть в экстрагент. Данные химические вещества могут вызывать цитопатическое действие (ЦПД) на монослой культурных клеток. Поскольку монослой культурных клеток необходим для анализа на инфекционную дозу [TCID<sub>50</sub>] с целью определения объема инфекционного вируса, важно, чтобы в экстрагенте не было компонентов, помимо SARS-CoV-2, которые могут вызвать ЦПД, что приведет к ложноположительному результату (наличие инфекционного вируса).

Чтобы уменьшить вероятность появления химически вызванного ЦПД, экстракты центрифугировали в концентраторе (Spin-X UF Concentrator, кат. № CLS431491) до снижения начального объема с 10 мл до приблизительно 0,5 мл.

Далее около 10 мл свежей культурной среды добавляли к концентрированному образцу (т.е. ретентату) с целью промывания и удаления любых остаточных химических веществ. Все промытые ретентаты уравнивали до приблизительно 2 мл.

Концентрат тестируемого образца анализировали в клетках Vero E6 (Американская коллекция клеточных культур, CRL-1586, Манассас, штат Виргиния, США) и инкубировали в течение 72-часового периода при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub>. Первоначальная тестовая матрица (тест 1.1) была предназначена для охвата трех временных точек (Т или день): Т<sub>6</sub>, Т<sub>9</sub> и Т<sub>12</sub>. Как показано на рисунке 2, в точке Т<sub>0</sub> на большинстве материалов отмечалось логарифмическое снижение (LR) от 1 до 1,5 единиц. Наибольшая скорость ослабления вируса отмечена на обычной бумаге, где значения опустились ниже предела количественного определения (ПКО составляет 13,1 единиц TCID<sub>50</sub>). К шестому дню во всех образцах значения упали ниже уровня обнаружения для анализа, т.е. ЦПД не наблюдалось в неразбавленном экстракте, помещенном в клетки Vero E6.

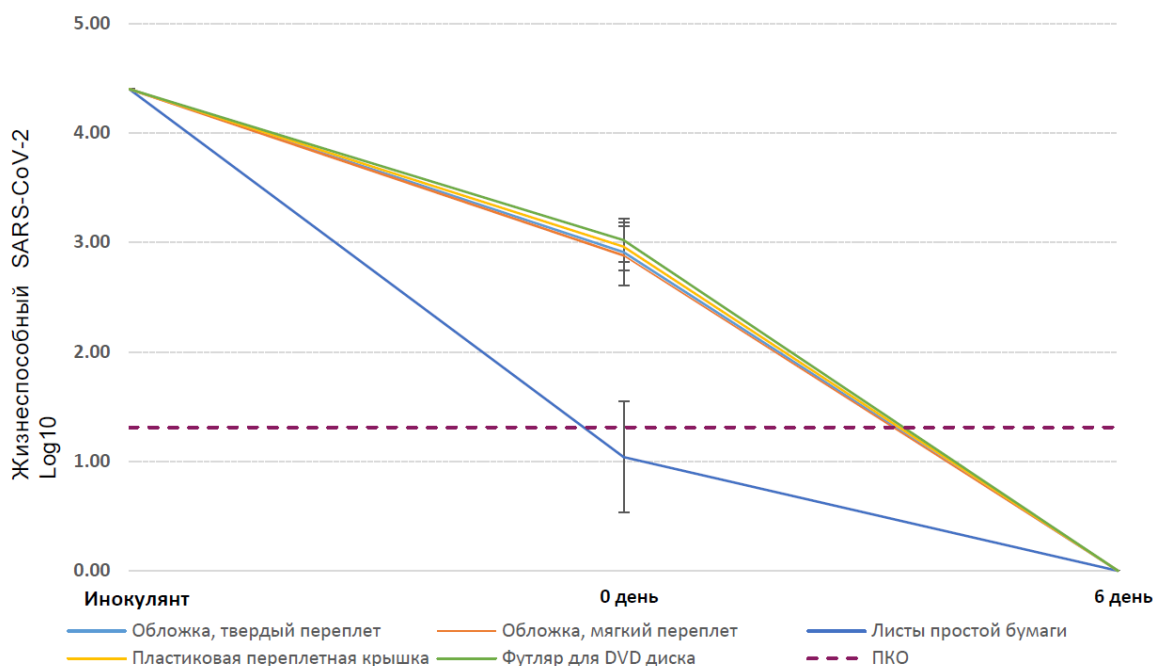


Рисунок 2. Естественная аттенуация SARS-CoV-2 на 6, 9 и 12 день, тест 1.1.

Поскольку на шестой день вирус не обнаруживался, началось проведение теста 1.2 для анализа материалов во временных точках T0, T1, T3 и T4, чтобы получить более четкое представление о том, когда произошла полная аттенуация. Штамм вируса, использованный для теста 1.2, имел более высокий изначальный титр, что привело к увеличению количества организмов на 1 log применительно к каждому тестируемому материалу. Как показано на рисунке 3, аналогичное снижение от 1 до 1,5 log наблюдалось в процессе сушки / экстракции, однако увеличение титра привело к повышению устойчивости вируса по сравнению с тестом 1.1, особенно на листах простой бумаги. **После одного дня аттенуации вирус не был обнаружен (ниже уровня ПКО) ни на обложке книги в твердом переплете, ни на обложке книги в мягком переплете, ни на футляре для DVD диска. К третьему дню ни на одной из пяти протестированных поверхностей вирус не был обнаружен.**

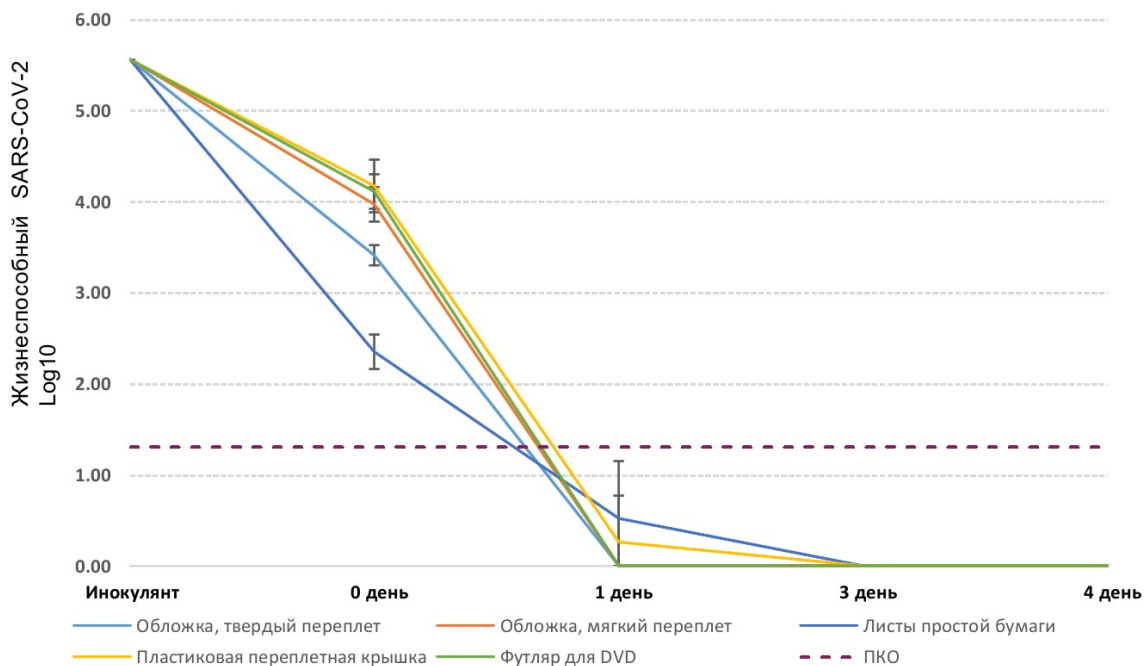


Рисунок 3. Естественная аттенуация SARS-CoV-2 на 1, 3 и 4 день, тест 1.2

В документе обобщаются различные данные и результаты исследований, при этом научные знания относительно COVID-19 постоянно обогащаются. Текущий материал представлен исключительно в ознакомительных целях, поэтому

читателям следует руководствоваться в первую очередь федеральными, региональными и местными рекомендациями. Авторы, спонсоры и исследователи не несут ответственности за любой ущерб, возникший в результате использования, неправильного использования или каких-либо действий с опорой на данную информацию, а также за любые ошибки или упущения в данном документе.