

Использование естественного ослабления коронавируса SARS-CoV-2 как метод обеззараживания: на примере десяти библиотечных и архивных материалов*

Обобщаются различные данные и результаты исследований с учетом актуальных научных знаний о коронавирусной инфекции COVID-19. Данный 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 или каких-либо действий, основанных на данной информации, а также за любые ошибки или упущения в представленном документе.

В условиях пандемии COVID-19 Институт музейного и библиотечного обслуживания (IMLS) и Онлайн-компьютерный библиотечный центр (OCLC) совместно с Мемориальным институтом Баттеля работают над поиском и распространением научных данных, помогающих снизить риск передачи COVID-19 среди сотрудников и посетителей при оказании или получении музейных, библиотечных и архивных услуг. В рамках проекта REALM — Reopening Archives, Libraries, and Museums, посвященного возобновлению работы архивов, библиотек и музеев, особое внимание уделяется изучению жизнеспособности вируса SARS-CoV-2, вызывающего COVID-19, на различных поверхностях, а также методам уменьшения возможного воздействия. В представленном отчете описаны результаты первой и второй серий испытаний — Тест 1 и Тест 2.

На первом этапе проекта специалисты Мемориального института Баттеля изучили процессы естественного ослабления, чтобы выяснить, на какой именно срок следует помещать на карантин наиболее часто находящиеся в обращении библиотечные материалы перед повторным использованием. Результаты Теста 1 были опубликованы 22 июня 2020 г. (<https://www.webjunction.org/news/webjunction/test1-results.html>), а уже 23 июня началось проведение Теста 2, результаты которого опубликованы 20 июля 2020 г. (<https://www.webjunction.org/news/webjunction/test2-results.html>).

Материалы, использованные для тестирования

Тестирование проводилось путем нанесения вируса SARS-CoV-2 на 10 материалов в условиях стандартной комнатной температуры и влажности.

Для Теста 1 были использованы материалы, предоставленные Городской библиотечной системой округа Колумбус, США (CML):

- обложка книги в твердом переплете (коленкор);
- обложка книги в мягком переплете;
- листы простой бумаги внутри закрытой книги;
- переплетная крышка книги с пленкой (двухосно-ориентированная полиэфирная пленка);
- футляр для DVD-диска.

Тест 2 проводился со следующими предметами и материалами, которые предоставили несколько организаций:

- лист брайлевской бумаги (Национальная библиотечная служба для слепых и инвалидов других категорий Библиотеки Конгресса США);
- глянцевая страница книги (CML);
- страница журнала (CML);
- детская картонная книга (CML);
- архивная папка (Национальное управление архивов и документации США).

* Публикация подготовлена на основе данных продолжающегося исследовательского проекта в области COVID-19, результаты которого представлены на платформе WebJunction, созданной в 2002 г. в рамках исследовательского направления OCLC Research. Подробнее см.: <https://www.webjunction.org/explore-topics/COVID-19-research-project.html>.

Согласно полученным результатам Теста 1, вирус SARS-CoV-2 не был обнаружен на пяти изученных материалах после трех дней карантина. При обычных показателях температуры и относительной влажности, характерных для любого кондиционированного рабочего помещения, создается среда, которая обеспечивает естественный распад SARS-CoV-2 после трех дней карантина.

Для Теста 2 образцы каждого материала инокулировали и поместили в закрытую книгу или журнал. Затем предметы были размещены таким образом, чтобы имитировать обычные условия хранения: сложенные или расставленные на полках книги, а также стопка папок или журналов (в ходе проведения предыдущего теста предметы не были сложены).

Согласно полученным результатам Теста 2, после двух дней карантина вирус SARS-CoV-2 уже не был обнаружен на сложенных архивных папках. После четырех дней карантина наличие вируса не было зафиксировано на сложенных листах бумаги для брайлевской печати, глянцевых страницах и на картонной книге. На страницах журнала следовое количество вируса можно было обнаружить вплоть до четвертого дня. Наблюдения завершились на четвертый день.

Таким образом, условия стандартной комнатной температуры ($20-23,9^{\circ}\text{C}$) и относительной влажности ($30-50\%$) могут обеспечить среду для естественного ослабления SARS-CoV-2, присутствующего на архивных папках, после двух дней карантина, а на страницах книги — после четырех дней карантина. По сравнению с Тестом 1 результаты Теста 2 показывают: для данных материалов на основе целлюлозы может потребоваться более длительный срок карантина.

Методика проведения тестирований

Библиотечные и архивные материалы не подвергались предварительной дезинфекции перед тестированием. Специалисты Мемориального института Баттеля вырастили клинический штамм вируса SARS-CoV-2, а затем осуществили анализ и тестирование с целью определения концентрации вируса. Все испытания проводились в лаборатории, имеющей уровень 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 $1,9\text{ см} \times 7,6\text{ см}$. 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 (BSC) класса II (BSC-II). После высыхания комплект образцов собрали и обработали (проба T_0), а оставшиеся тестовые образцы переместили в шкаф BSC-III для поддержания желаемых условий окружающей среды $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности (RH) $40 \pm 10\%$. Фактические условия варьировались: температура в среднем от $21,9$ до $22,9^{\circ}\text{C}$ (Тест 1) и $21,8 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$ (Тест 2); относительная влажность от $41,3$ до $50,0\%$ (Тест 1) и $42,8 \pm 1,89\%$ (Тест 2).

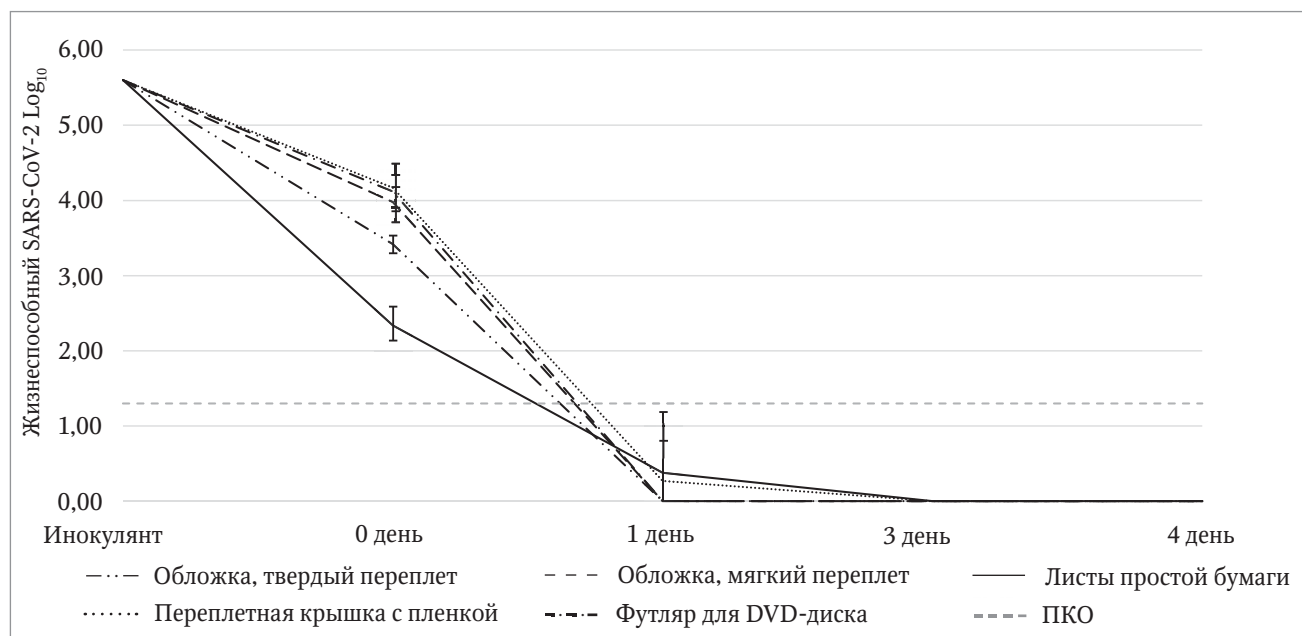


Рис. 1. Тест 1.2. Естественное ослабление SARS-CoV-2 на 1, 3 и 4 день.
Доверительные интервалы обозначены черными вертикальными чертами
для каждой временной точки и предмета

При проведении Теста 1 после сушки образцы, вырезанные из простой бумаги, убрали обратно в книгу, из которой они были извлечены, и книга была помещена для тестирования в камеру с контролируемой средой. Для Теста 2 после инокуляции и сушки все образцы убрали обратно в книги/журналы/папки, из которых они были ранее вырезаны, и затем стопки с тестируемыми материалами поместили в камеру с контролируемой средой.

В указанные временные точки тестовые образцы извлекали из шкафа и помещали в конические пробирки объемом 50 мл (оборудование компании Fisher Scientific, кат. № 14-959-49A, Waltham, MA, USA), экстрагировали с 10 мл среды для культивирования клеток (Dulbecco's Modified Eagle Medium, кат. № 10-010-CV, Corning, NY, USA) с добавлением 2%-ной фетальной сыворотки телят (серия Gibco, кат. № 10082147, Carlsbad, CA, USA) и пенициллина-стрептомицина (серия Gibco, кат. № 15140122), взбалтывали в шейкере на скорости 200 об/мин 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 ($TCID_{50}$) 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).

Для уменьшения вероятности 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.

Предел количественного определения (ПКО) в представленном анализе составляет 13,1 единиц $TCID_{50}$. Анализ не фиксирует количественные значения, находящиеся ниже установленного порога; однако качественную оценку наличия инфекции можно наблюдать при микроскопическом исследовании. Так, любым результатам, находящимся ниже ПКО, но показывающим при этом присутствие вируса, присваивалось значение 10 (положительный результат), чтобы отличить их от 0 (отрицательный результат).

Концентрат тестируемого образца анализировали в клетках Vero E6 (ATCC CRL-1586, Manassas, VA, USA), выдерживали в течение 72 ч при 37°C и 5% CO_2 , чашки для анализа $TCID_{50}$ наблюдали для ЦПД.

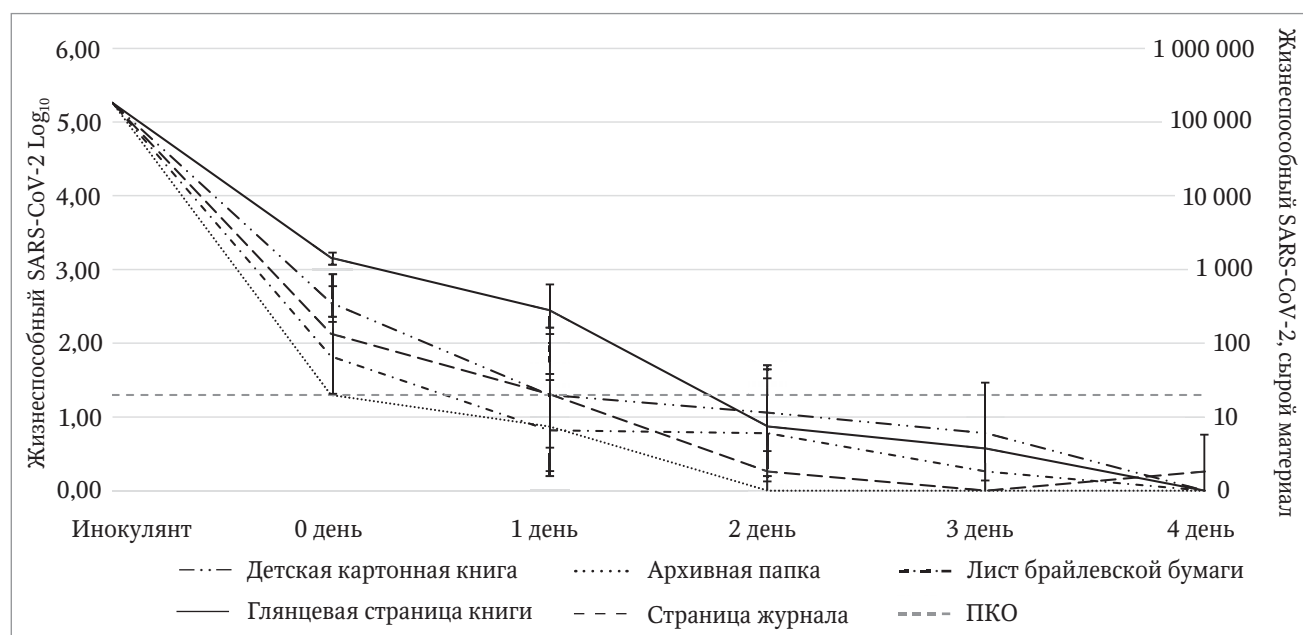


Рис. 2. Тест 2. Естественное ослабление SARS-CoV-2 на 1, 2, 3 и 4 день при доверительном интервале $\pm 95\%$. Доверительные интервалы обозначены черными вертикальными чертами для каждой временной точки и предмета

Таблица

SARS-CoV-2 log₁₀, обнаруженный на 1, 2, 3 и 4 день

Предмет	Объем вируса					
	нанесено на поверхность	T ₀ *	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Детская картонная книга	5,26	2,55	1,30	1,06	0,78	< ПКО
Архивная папка		1,30	0,87	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Лист Брайлевской бумаги		1,82	0,82	0,78	0,26	< ПКО
Глянцевая страница книги		3,16	2,45	0,87	0,57	< ПКО
Страница журнала		2,13	1,31	0,26	< ПКО	0,26

* Через час после высыхания.

Результаты тестирования

При проведении Теста 1 первоначальная тестовая матрица (Тест 1.1) была предназначена для охвата трех временных точек (Т или день): Т₀, Т₉ и Т₁₂. В точке Т₀ на большинстве материалов отмечалось логарифмическое снижение от 1 до 1,5 ед. Наибольшая скорость ослабления вируса отмечена на обычной бумаге, где значения опустились ниже ПКО, составляющего 13,1 ед. TCID₅₀. 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 Е6.

Поскольку на шестой день вирус не обнаруживался, началось проведение Теста 1.2 для анализа материалов во временных точках Т₀, Т₁, Т₃ и Т₄, чтобы получить более четкое представление о том, когда произошло его полное ослабление. 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. 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 (рис. 1). После одного дня ослабления 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.

Матрица Теста 2 охватывала пять временных точек: Т₀, Т₁, Т₂, Т₃ и Т₄. В точке Т₀ логарифмическое снижение составило от 2 до 4 единиц на всех материалах (табл.; рис. 2). После высыхания скорость ослабления вируса замедлилась, а затем, к четвертому дню, на всех материалах, кроме журналов, значения упали ниже уровня обнаружения для анализа, т. е. в неразбавленном экстракте, помещенном в клетки Vero, ЦПД не наблюдалось. Необнаруженные на третий день следы SARS-CoV-2 были вновь найдены на журнальных страницах на четвертый день. Однако следы вируса (ниже ПКО) обнаружили лишь на одном из пяти образцов, что указывает на низкий уровень устойчивости.

Перевод:

Мария Владимировна Федотова,
 Российская государственная библиотека,
 международный отдел,
 сектор международных организаций,
 заведующая
 Воздвиженка ул., д. 3/5,
 Москва, 119019, Россия
 E-mail: mbs@rsl.ru