

## Протокол пилотного испытания

### оценки способности фильтров серии «Perfect HOME» в кувшине «GRAF» очищать питьевую воду от вирусных частиц и других возбудителей кишечных инфекций

Объект испытаний: фильтры для питьевой воды серии «Perfect HOME» в кувшине «GRAF» (далее фильтры), ТУ 3697-001-52206700-2016, производство компании «Perfect organics» (проверяли фильтры УСВР-1 и УСВР с бактерицидным компонентом).

В качестве модельного агента для фильтрации был выбран вирус гриппа.

Цель испытаний: оценка способности фильтров УСВР-1 и УСВР с бактерицидным компонентом задерживать вирусные частицы гриппа.

Испытания проводили на базе ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ с использованием наборов для определения генетического материала вируса гриппа (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США)) и рандомных гексамерных праймеров. При постановке ПЦР применяли набор OneTaq 2x Master Mix (BioLabs, США) с праймерами, специфичными к участкам внутренних генов вируса гриппа (PB2 и NS).

Программа испытаний включала в себя следующие этапы:

- подготовку вирусосодержащей суспензии с активностью  $7 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$ ;
- приготовленный раствор биоматериала для фильтрации (вирусную суспензию в объеме 10 мл добавили к 4990 мл водопроводной воды) перемешали и пропустили через фильтр;
- отфильтрованную воду в объеме 4500 мл пропустили через систему тангенциальной фильтрации SARTOFLOW® Study с использованием микрофильтрационной кассеты (мембрана кассеты из полиэфирсульфона с диаметром пор 0,1 мкм) и получили жидкость объемом 700 мл (концентрация в 6,5 раз от первоначального объема отфильтрованной жидкости);
- для последующего проведения молекулярно-биологической диагностики отобрали 100 мкл;
- провели реакцию обратной транскрипции с использованием набора RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit согласно протоколу производителя (для получения cDNA использовали гексамерные праймеры, поставляемые производителем набора);
- с использованием базы данных Fludatabase ([www.fludb.org](http://www.fludb.org)) получены нуклеотидные последовательности гена, кодирующего PB2 белок вируса гриппа. Подбор праймеров осуществили при помощи программного обеспечения LaserGene 7.1. Комбинации праймеров были проверены на специфичность с помощью интернет-сервиса BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), и ни в одной из них не было показано значимой

гомологии с другими последовательностями. Программу амплификации установили согласно рекомендациям производителя смеси для ПЦР;

– провели полимеразную цепную реакцию с использованием набора OneTaq 2x Master Mix с добавлением в смесь специфических праймеров, подобранных к консервативным последовательностям гена PB2 вируса гриппа.

Данным образом были оценены оба фильтра (УСВР-1 и УСВР- с бактерицидным компонентом).

Анализ полученных результатов осуществили с использованием детекции продуктов в геле с использованием электрофореза. При анализе результатов с использованием гель-электрофореза в исследуемых образцах генетического материала вируса гриппа обнаружено не было. Положительный контроль этапов выделения и ПЦР свидетельствует о накоплении специфического продукта. Отрицательный контроль продукта накопления не содержал, что свидетельствует об отсутствии контаминации на этапе проведения молекулярно-биологического анализа. Вышеизложенные данные свидетельствуют о достоверности полученных результатов. Следует отметить, что отсутствие положительных результатов может быть следствием недостаточной концентрации биологического материала из пробы воды. Согласно рекомендациям Роспотребнадзора (МУК 4.2.2029-05) для проведения санитарно-вирусологического контроля водных объектов для концентрирования проб воды необходимо использование специальных ловушечных устройств с последующей сорбцией-элюцией и последующим анализом с использованием тест-систем.

Выводы.

1. В исследуемых образцах отфильтрованной воды с использованием метода полимеразной цепной реакции (предел чувствительности не менее 200 копий/мл) генетический материал вируса гриппа не обнаружен.

2. Для оценки способности фильтров серии «Perfect HOME» в кувшине «GRAF» очищать питьевую воду от инфекционных агентов различной этиологии необходима отработка методики концентрации отфильтрованных проб для последующей детекции с использованием ПЦР-систем. Ориентировочный срок проведения дополнительных исследований не менее 1 месяца.

Начальник Центра ГНИИ ВМ МО РФ

«30» октября 2017 г.



А. Гоголевский