——— БИОФИЗИКА КЛЕТКИ —

УДК 614.485, 579.6

РАДИАЦИОННАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ПРИМЕРЕ ВИРУСА ТРАНСМИССИВНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА СВИНЕЙ

© 2021 г. В.Н. Морозов^{*}, А.Н. Мухин^{**}, М.А. Колыванова^{*, ***}, А.В. Белоусов^{***}, Ю.А. Бушманов^{***}, Т.В. Гребенникова^{**}, А.С. Самойлов^{***}

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4 **Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18 ***Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России,

***Феоеральный меоицинский ойофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 123182, Москва, ул. Живописная, 46

E-mail: morozov.v.n@mail.ru Поступила в редакцию 21.12.2020 г. После доработки 25.01.2021 г. Принята к публикации 26.01.2021 г.

В последние годы представители семейства *Coronaviridae* служили причиной вспышек респираторных заболеваний (MERS, SARS, COVID-19). При этом возможности радиационно-индуцированной инактивации данной группы вирусов мало изучены, хотя облучение может широко использоваться как в обработке средств индивидуальной защиты, так и при стерилизации вакцин. В настоящей работе воздействие пучков электронов с энергией 10 МэВ и тормозных фотонов с энергией 7.6 МэВ на возбудитель коронавирусной инфекции (вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней, TGEV) было исследовано *in vitro*. В заданных условиях эксперимента более эффективным оказалось облучение фотонами. Наиболее резистентной к облучению оказалась замороженная при – 86° С вируссодержащая суспензия: доза облучения, необходимая для полной инактивации вируса, в этом случае составляла от 15 кГр, в то время как для жидкой суспензии и лиофилизированной формы стерилизующая доза составляла от 10 кГр. При меньших дозах облучения для всех образцов при пассировании в клеточной культуре наблюдалась остаточная инфекционная активность вируса. Обнаруженные различия в эффективности инактивации жидких и замороженных вируссодержащих проб свидетельствуют о значительном вкладе прямого действия излучения.

Ключевые слова: коронавирус, радиационная стерилизация, радиационная обработка, инактивация вирусов, трансмиссивный гастроэнтерит свиней, ионизирующее излучение. **DOI:** 10.31857/S0006302921040086

Пандемия коронавируса SARS-CoV-2 [1–3] продемонстрировала важность оперативной организации системы мероприятий по обеззараживанию бывших в употреблении средств индивидуальной защиты медицинского персонала. С одной стороны, это может способствовать повышению безопасности медицинских отходов, а с другой – предоставить возможность повторного использования некоторых видов средств индивидуальной защиты в случае их острой нехватки [4].

Подходы к стерилизации медицинских изделий от микробиологического загрязнения включают различные химические и физические методы [5]: использование дезинфицирующих средств, газовую стерилизацию, температурную и радиационную обработку. В последнем случае для уничтожения инфекционных агентов могут использоваться ультрафиолетовое (210—400 нм) и ионизирующие излучения (фотоны, электроны, дейтроны и др.). Если применение ультрафиолетового излучения из-за небольшой глубины проникновения в основном ограничивается обработкой поверхностей, то использование источников ионизирующего излучения (например, гаммаустановок на основе Со-60 и Сs-137 или ускорителей электронов) предоставляет более широкие возможности.

Ионизирующие излучения нашли применение в радиационной обработке продуктов питания [6], дезинфекции лабораторных и медицинских изделий [7], трансплантатов [8], сте-

Сокращения: TGEV – вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней, ИФА – иммуноферментный анализ.

рилизации фармацевтических и лекарственных препаратов [9, 10], а также вакцин [11]. Радиационная обработка позволяет бороться с бактериями и эндоспорами, грибами, простейшими и вирусами [5]. Радиационная стерилизация является высокопроизводительным, неинвазивным и дешевым методом, не требующим расходных материалов, а существующие технологии позволяют обеспечивать безопасность процесса для персонала и окружающей среды.

Несмотря на то что возможность инактивации вирусов при воздействии ионизирующего излучения хорошо известна [12—16], эта область радиационной биологии представляется недостаточно изученной и несистематизированной. В настоящее время известно более 6500 различных видов вирусов, включенных в 168 семейств. Представители этих семейств различаются по структуре и организации капсида, наличию оболочки, а их геном может быть представлен различными формами нуклеиновых кислот и содержать от ≈2000 до ≈2 млн оснований [17, 18]. Различаются и данные об их радиочувствительности [14, 19].

Одним из семейств вирусов, радиационная устойчивость которых мало изучена, являются коронавирусы. Семейство Coronaviridae включает 4 рода (Alpha-, Beta-, Gamma- и Deltacoronavirus) [20], содержащие более 40 видов вирусов [21]. Вирионы коронавирусов имеют сферическую форму и покрыты липидной оболочкой с булавовидными пепломерами, состоящими из S-белка, а нуклеокапсид имеет спиральную форму симметрии и содержит одноцепочечную +РНК длиной около 30000 оснований. В инфекционных заболеваниях человека и животных основную роль играют представители родов Alpha- и Betacoronavirus, вызывающие поражения дыхательной и пищеварительной систем [20]. В последние годы представители семейства Coronaviridae служили причиной нескольких вспышек заболеваний: 2002-2003 гг. (severe acute respiratory syndrome, SARS), 2004 г. – н.в. (Middle East respiratory syndrome, MERS) и 2019 г. – н.в. (coronavirus disease 2019, COVID-19) [22]. При этом известно лишь несколько работ по радиационной инактивации коронавирусов. Так, показано, что in vitro инактивация вируса SARS-CoV достигается при дозах свыше 1 Мрад (≈10 кГр) [19], а для обеззараживания корма, контаминированного вирусом эпидемической диареи свиней (PEDV), потребовалось облучение в дозе ≈50 кГр [23]. Недавние исследования также были посвящены изучению радиационной инактивации вируса SARS-CoV-2 [24].

Цель настоящего исследования состояла в изучении возможности инактивации возбудителя коронавирусной инфекции с помощью пучков высокоэнергетичных электронов и тормозных фотонов на примере вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV) и исследовании влияния условий облучения на эффективность радиационной обработки. Данный вирус был выбран поскольку, с одной стороны, он является хорошо изученным представителем семейства *Coronaviridae*, а с другой — не представляет угрозы для человека и не требует специфических условий безопасности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящей работе использовали штамм TGEV PUR46-MAD (сем. *Coronaviridae*, род *Alphacoronavirus*; п\род *Tegacovirus*) из коллекции Мадридского университета (Department of Molecular and Cell Biology, CNB-CSIC, Испания). Вирус культивировали в перевиваемой культуре клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ). Культивирование проводили роллерным методом с использованием питательной среды DMEM (Sigma, США) с добавлением 5% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (Gibco, США). Титрование цитопатической активности вируса проводили микрометодом в клеточной культуре. Титр вируса рассчитывали методом Рида и Менча и выражали в ТЦД₅₀/см³.

Жидкие и замороженные пробы готовили из вируссодержащей суспензии с инфекционной активностью $10^{5.66}$ ТЦД₅₀/см³ на основе среды DMEM. Облучение проводили в герметичных полипропиленовых пробирках объемом 15 мл (Greiner Bio-One, Германия). Для приготовления лиофилизированных проб вирусосодержащую суспензию с инфекционной активностью $10^{7.33}$ ТЦД₅₀/см³ смешивали со стабилизатором, расфасовывали по 1 см³ в стеклянные флаконы объемом 3 см³ (Schott, Германия) и подвергали сублимации на установке VirTis AdVantage Pro (SP Scientific, США). Титр TGEV в лиофилизированных пробах составлял $10^{6.66}$ ТЦД₅₀/см³ при остаточной влажности 3%.

Облучение образцов проводили на промышлинейном vскорителе ленном электронов ИЛУ-14 производства Института ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН (Новосибирск) [25]. Радиационную обработку проводили в режимах электронного и фотонного облучения в дозах до 25 кГр. Максимальная энергия частиц в спектре при электронном облучении составляла 10 МэВ, а при тормозном фотонном облучении – 7.6 МэВ. Мощность дозы излучения в обоих случаях составляла 1.0-1.2 кГр/мин. Облучение жидкой и лиофилизированной форм TGEV проводили при температуре $6-8^{\circ}$ С, а замороженных проб – в сухом льду при температуре -86°С. Для каждой дозы облучения готовили по четыре независимых



Дозовая зависимость цитопатической активности TGEV в жидкой суспензии при облучении тормозными фотонами. На врезке: дозовая кривая инактивации TGEV (погрешности – стандартные отклонения по четырем независимым измерениям).

образца. Контроль дозы при фотонном и электронном облучении осуществляли с помощью дозиметрических пленок СО ПД(Φ)P-5/50 (ВНИ-И Φ ТРИ, Россия). Измерение оптической плотности облученных пленок проводили на длине волны 512 нм с помощью спектрофотометра Specord M40 (Analytik Jena, Германия). Ошибка в определении поглощенной дозы составляла не более 20%.

Через 1–2 ч после радиационной обработки образцов проводили оценку эффективности инактивации TGEV путем титрования цитопатической активности вируса в культуре клеток почки эмбриона свиньи с подтверждением наличия антигенов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Предел чувствительности ИФА составлял 10² ТЦД₅₀/см³. В качестве контроля использовали не подвергавшиеся облучению образцы. Для выявления остаточной цитопатической активности вируса для каждой облученной пробы проводили три последовательных пассажа в культуре с интервалом в 96 ч. Наличие антигенов определяли с помощью соответствующего набора производства ООО «Ветбиохим» (Россия) согласно рекомендациям изготовителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены результаты исследования цитопатической активности TGEV, облученного тормозными фотонами в жидкой суспензии. Дозовая кривая инактивации (врезка на рисунке) в логарифмических координатах имела выраженный линейный характер и удовлетворяла установленному для TGEV значению $D_{10} < 2 \ \kappa \Gamma p$ [26]. Начальная цитопатическая активность вируса в суспензии составляла $\approx 10^{5.66} \ TLIД_{50}/cm^3$. После радиационной обработки образцов наблюдалось заметное уменьшение цитопатической активности: уже при дозе облучения 2 $\kappa \Gamma p$ титр вируса снизился в ≈ 100 раз, а при дозе 4 $\kappa \Gamma p$ – более чем в 6000 раз. При этом в трех из четырех образцов после облучения в дозе 4 $\kappa \Gamma p$ при сохранении цитопатической активности вируса выявить вирусные антигены с помощью ИФА в пределах чувствительности метода не удалось. При дозах свыше 4 $\kappa \Gamma p$ цитопатической активности вируса и вирусных антигенов непосредственно после облучения обнаружено не было.

Результаты исследования инфекционной активности TGEV в трех последовательных пассажах после облучения тормозными фотонами представлены в табл. 1. Восстановление исходного уровня цитопатической активности при дозах облучения 2 кГр и 4 кГр наблюдалось на первом и втором пассажах соответственно. Также непосредственно после экспозиции в дозе 6 кГр в образцах жидкой вируссодержащей суспензии не было зарегистрировано инфекционной активности вируса и вирусных антигенов. При этом начиная со второго пассажа отмечались наличие антигенов вируса в культуре и достаточно высокий уровень цитопатического действия. Полное восстановление инфекционной активности вируса при дозе облучения 6 кГр наблюдалось после третьего пассажа. Таким образом, данная дозовая нагрузка недостаточна для эффективной инактивации TGEV в заданных условиях эксперимента.

РАДИАЦИОННАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ 699

Доза, кГр	После облучения		Первый пассаж		Второй пассаж		Третий пассаж				
	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА			
0	10 ^{5.5}	+		На иссладороди							
	10 ^{5.33}	+									
	10 ^{5.66}	+	пе исследовали								
	10 ^{5.66}	+									
	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.33}	+			
2	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.66}	+			
2	10 ^{3.33}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.66}	+			
	10 ^{3.5}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.66}	+			
	10 ^{1.66}	_	10 ^{4.66}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.66}	+			
4	10 ²	+	10 ^{4.66}	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.5}	+			
	10 ^{1.66}	—	10 ^{4.5}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.33}	+			
	10 ^{1.66}	_	10 ^{5.0}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+			
	н/о	_	н/о	—	10 ^{4.66}	+	10 ^{5.5}	+			
6	н/о	—	н/о	—	10 ^{4.66}	+	10 ^{5.66}	+			
	н/о	—	н/о	—	10 ^{4.5}	+	10 ^{5.66}	+			
	н/о	—	н/о	—	10 ^{4.0}	+	10 ^{5.5}	+			
8	н/о	_	н/о	_	н/о	_	н/о	_			
	н/о	—	н/о	—	н/о	—	н/о	—			
	н/о	—	н/о	_	н/о	—	н/о	—			
	н/о	—	н/о	—	н/о	—	н/о	—			

Таблица 1. Инфекционная активность ТGEV в жидкой суспензии после облучения тормозными фотонами

Примечание. Здесь и далее: н/о – цитопатическое действие вируса не обнаружено; «+» и «-» – наличие/отсутствие в культуре клеток антигенов вируса.

Полное подавление инфекционной активности наблюдалось только при дозах облучения от 8 кГр.

Эффективность радиационной обработки образцов, контаминированных вирусными частицами, может отличаться в зависимости от вида ионизирующего излучения. Так, в работе [14] более высокая эффективность γ -излучения Со-60 (\approx 1.37 МэВ; до \approx 2.6 раз при D_{37}) по сравнению с облучением электронами (10 МэВ) была показана на примере вируса простого герпеса (HSV) и вируса лейкоза Раушера (RLV). Феномен различной биологической эффективности ионизирующих излучений хорошо известен, однако для фотонов и электронов значения относительной биологической эффективности зачастую принимаются равными единице. При этом существуют технологические различия промышленного фотонного

БИОФИЗИКА том 66 № 4 2021

и электронного облучения, особенно значимые при масштабной стерилизации на конвейерной линии. Так, фотоны характеризуются более высокой точностью дозового покрытия, а высокие дозы электронного облучения могут приводить к нагреву образцов.

В настоящей работе также проведено сравнение эффективности инактивации TGEV фотонами и электронами в жидкой суспензии. Как видно из табл. 1 и 2, падение титра вируса на три-четыре порядка наблюдалось при близких дозах фотонного и электронного облучения — 4 и 5 кГр соответственно. Если при облучении образцов жидкой вируссодержащей суспензии электронами в дозе 7 кГр остаточная инфекционная активность проявлялась уже при первом пассаже, то при дозах облучения от 10 кГр инфекционной ак-

МОРОЗОВ и др.

Доза, кГр	После облучения		Первый пассаж		Второй пассаж		Третий пассаж				
	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА									
0	10 ^{5.5}	+									
	10 ^{5.33}	+									
	10 ^{5.66}	+	не исследовали								
	10 ^{5.66}	+									
5	10 ²	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.33}	+			
	10 ²	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.5}	+			
	10 ²	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.66}	+			
	10 ²	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.66}	+			
7	н/о	—	10 ^{4.66}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+			
	н/о	_	10 ^{4.5}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.66}	+			
	н/о	_	10 ^{5.0}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.33}	+			
	н/о	_	10 ^{4.5}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+			
10	н/о	_	н/о	_	н/о	_	н/о	_			
	н/о	_	н/о	—	н/о	_	н/о	_			
	н/о	_	н/о	_	н/о	_	н/о	_			
	н/о	_	н/о	_	н/о	_	н/о	_			

Таблица 2. Инфекционная активность TGEV в жидкой суспензии после облучения электронами

тивности вируса и вирусных антигенов при пассировании в культуре клеток не обнаружено.

Для приближения к практическим условиям радиационной обработки были проведены облучения электронами лиофилизированной формы TGEV и замороженной в сухом льду (-86°С) вируссодержащей суспензии. Результаты представлены в табл. 3 и 4. В обоих случаях непосредственно после облучения в дозе 5 кГр наблюдалась инфекционная активность вируса, однако ее уровень в случае облучения лиофилизированной формы был значительно ниже. Также для лиофилизированной формы TGEV отмечено более существенное уменьшение титра вируса (на ≈6 порядков), учитывая более высокий титр вируса в образцах до облучения. Полная инактивация лиофилизированной формы TGEV, так же как и вирусных частиц в жидкой суспензии, обнаружена при дозах облучения от 10 кГр. Для замороженных проб при данной дозе облучения со второго пассажа наблюдалась остаточная цитопатическая активность вируса и присутствие в культуре клеток вирусных антигенов. Полная инактивация TGEV в замороженной суспензии отмечалась лишь при увеличении дозы электронного облучения до 15 кГр. При облучении замороженных проб фотонами инактивация вируса была отмечена при дозе 11 кГр (данные не приведены). Таким образом, в заданных условиях эксперимента облучение фотонами как жидких, так и замороженных вируссодержащих проб оказалось более эффективным.

Данные наблюдения имеют важное значение для понимания механизмов радиационной инактивации вирусов. Радиационно-индуцированные повреждения в биологических системах реализу-

РАДИАЦИОННАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ 701

Доза, кГр	После облучения		Первый пассаж		Второй пассаж		Третий пассаж				
	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА	Титрвируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА			
0	10 ^{6.5}	+					•				
	10 ^{6.76}	+		II.							
	10 ^{6.66}	+	Не исследовали								
	10 ^{6.66}	+									
5	10 ^{0.66}	_	10 ^{4.33}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+			
	10 ¹	—	10 ^{4.5}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.33}	+			
	$10^{0.66}$	_	10 ^{5.0}	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.5}	+			
	10 ^{0.66}	—	10 ^{5.0}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{5.5}	+			
10	н/о	_	н/о	_	н/о	_	н/о	_			
	н/о	—	н/о	_	н/о	_	н/о	—			
	н/о	—	н/о	_	н/о	_	н/о	—			
	н/о	—	н/о	—	н/о	_	н/о	—			

Таблица 3. Инфекционная активность TGEV в лиофилизированной форме после облучения электронами

Таблица 4. Инфекционная активность TGEV в замороженной суспензии после облучения электронами

Доза, кГр	После облучения		Первый пассаж		Второй пассаж		Третий пассаж				
	Титр вируса, ТЦД ₅₀ /см ³	ИФА									
0	10 ^{5.5}	+	Ш								
	10 ^{5.33}	+									
	10 ^{5.66}	+	не исследовали								
	10 ^{5.66}	+									
5	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.33}	+			
	10 ^{3.5}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.33}	+			
	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.5}	+	10 ^{5.33}	+	10 ^{5.5}	+			
	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.66}	+	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.5}	+			
10	н/о	_	н/о	_	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.33}	+			
	н/о	—	н/о	-	10 ^{4.0}	+	10 ^{5.66}	+			
	н/о	—	н/о	_	10 ^{4.66}	+	10 ^{5.66}	+			
	н/о	—	н/о	_	10 ^{3.66}	+	10 ^{5.33}	+			
15	н/о	_	н/о	_	н/о	_	н/о	_			
	н/о	—	н/о	_	н/о	_	н/о	_			
	н/о	—	н/о	_	н/о	—	н/о	—			
	н/о	—	н/о	_	н/о	—	н/о	—			

ются за счет прямого и косвенного действия излучения, т.е. в результате непосредственной ионизации биомакромолекул или их повреждения продуктами радиолиза среды [27]. В биологических системах доминирует вклад именно опосредованных повреждений (до 80-90%) [28]. При этом прямое и косвенное действия ионизирующего излучения могут быть направлены на различные структурные компоненты вирусных частиц [29]. В отсутствие повреждающего действия продуктов радиолиза, например при облучении биомолекул в безводных системах, для их инактивации требуются дозы на порядки большие, чем в присутствии растворителя [30, 31]. В некотором приближении окислительные частицы, образующиеся при радиолизе в достаточно жестком льду (при достаточно низких температурах), можно считать неподвижными, поэтому в замороженных при -86°С образцах вируссодержащей суспензии вероятность радиационного поражения по косвенному механизму значительно уменьшается. Отмеченное в настоящей работе снижение эффективности радиационного воздействия хорошо согласуется с данными работ [32] (вирусы Ласса, Марбург и Эбола) и [33] (парвовирус свиней (PPV), вирус диареи крупного рогатого скота (BVDV), энтеровирус свиней (PEV)): непосредственно после облучения в дозе 5 кГр титр вируса в жидкой суспензии был в ~40 раз меньше, чем в замороженной форме, а доза, необходимая для полной инактивации вируса, повышалась при замораживании с 10 до 15 кГр. Такое уменьшение эффективности облучения до примерно полутора раз позволяет сделать предположение о значительном вкладе прямых повреждений в радиационно-индуцированную инактивацию TGEV. Важно отметить, что замораживание образцов не исключает возможности возникновения повреждений за счет действия гидратированных электронов. Также в пользу высказанного предположения могут выступать близкие значения доз облучения, необходимых для полной инактивации TGEV в жидкой суспензии и в лиофилизированной форме.

Установленные в настоящей работе дозы инактивации TGEV хорошо согласуются с данными о радиочувствительности коронавирусов MERS-CoV, SARS-CoV и SARS-CoV-2 [19,24,34]. Поскольку контаминация средств индивидуальной защиты может быть существенно меньшей [35], чем исследуемые в настоящей работе количества инфекционных вирусных частиц, высокая эффективность их радиационной обработки может быть достигнута при значительно меньших дозовых нагрузках. Однако все же важно отметить, что используемые в клинической практике полимерные материалы могут быть весьма чувствительными к воздействию высоких доз облучения [36]. С этим связана возможность значительных изменений защитных свойств обрабатываемой ионизирующим излучением медицинской экипировки [37]. Поскольку характеристики установок для радиационной стерилизации могут существенно различаться, детальное воспроизведение условий конкретного опыта может быть затруднительным. Поэтому решение о включении радиационной обработки в протокол дезинфекции необходимо принимать индивидуально для каждого изделия на основе тщательного подбора условий облучения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность В.И. Фельдману за помощь в обсуждении результатов исследования и Ю.В. Морозову за помощь в подготовке стенда для радиационного облучения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Y. R. Guo, Q. D. Cao, Z. S. Hong, et al., Mil. Med. Res. 7 (1), 11 (2020).
- Y. F. Tu, C. S. Chien, A. A. Yarmishyn, et al., Int. J. Mol. Sci. 21 (7), 2657 (2020).
- 3. B. Hu, H. Guo, P. Zhou, and Z. L. Shi, Nat. Rev. Microbiol. *In press*.
- A. J. Jinia, N. B. Sunbul, C. A. Meert, et al., IEEE Access. 8, 111347 (2020).
- 5. Z. Dai, J. Ronholm, Y. Tian, et al., J. Tissue Eng. 7, 2041731416648810 (2016).
- 6. I. S. Arvanitoyannis, A. C. Stratakos, and P. Tsarouhas, Crit. Rev. Food Sci. Nutr. **49** (5), 427 (2009).
- 7. A. J. Berejka and I. M. Kaluska, in *Trends in radiation sterilization of health care production* (International Atomic Energy Agency, Vienna, 2008), pp. 159–174.
- R. Singh, D. Singh, and A. Singh, World J. Radiol. 8 (4), 355 (2016).
- 9. B. Marciniec and K. Dettlaff, in *Trends in radiation sterilization of health care production* (International Atomic Energy Agency, Vienna, 2008), pp. 187–230.
- F. Hasanain, K. Guenther, W. M. Mullett, and E. Craven, PDA J. Pharm. Sci. Technol. 68 (2), 113 (2014).
- 11. H. S. Seo, Clin. Exp. Vaccine Res. 4 (2), 145 (2015).
- R. Sullivan, A. C. Fassolitis, E. P. Larkin, et al., Appl. Microbiol. 22 (1), 61 (1971).
- H. Hiemstra, M. Tersmette, A. H. Vos, et al., Transfusion **31** (1), 32 (1991).

- 14. E. E. Smolko and J. H. Lombardo, Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B. **236** (1–4), 249 (2005).
- K. Feng, E. Divers, Y. Ma, and J. Li, Appl. Environ. Microbiol. 77 (10), 3507 (2011).
- A. J. Hume, J. Ames, L. J. Rennick, et al., Viruses 8 (7), 204 (2016).
- B. V. V. Prasad and M. F. Schmid, Adv. Exp. Med. Biol. 726, 17 (2012).
- J. Cui, T. E. Schlub, and E. C. Holmes, J. Virol. 88 (11), 6403 (2014).
- F. Feldmann, W. L. Shupert, E. Haddock, et al., Am. J. Trop. Med. Hyg. **100** (5), 1275 (2019).
- J. Cui, F. Li, and Z. L. Shi, Nat. Rev. Microbiol. 17 (3), 181 (2019).
- 21. A. E. Gorbalenya, S. C. Baker, R. S. Baric, et al., Nat. Microbiol. 5, 536 (2020).
- 22. Z. Zhu, X. Lian, X. Su, et al., Respir. Res. **21** (1), 224 (2020).
- 23. M. P. Trudeau, H. Verma, F. Sampedro, et al., PLoS One **11** (6), e0158128 (2016).
- A. Leung, K. Tran, J. Audet, et al., Appl. Biosafety 25 (3), 157 (2020).
- 25. A. A. Bryazgin, V. I. Bezuglov, E. N. Kokin, et al., Instrum. Exp. Tech. **54** (3). 295 (2011).

- F. C. Thomas, A. G. Davies, G. C. Dulac, et al., Can. J. Comp. Med. 45 (4), 397 (1981).
- 27. Y. B. Kudryashov, *Radiation biophysics (ionizing radiations)* (Nova Science Publishers, N. York, 2008).
- 28. Y. N. Korystov, Radiat. Res. 129 (2), 228 (1992).
- 29. R. L. Ward, Radiat. Res. 83 (2), 330 (1980).
- 30. Ø. Oksmo and T. Brustad, Z. Naturforsch B. 23 (7), 962 (1968).
- H. Dertinger and H. Jung, *Molecular Radiation Biology* (Springer-Verlag, New York, 1973).
- 32. L. H. Elliott, J. B. McCormick, and K. M. Johnson, J. Clin. Microbiol. **16** (4), 704 (1982).
- T. Preuss, S. Kamstrup, N. C. Kyvsgaard, et al., Clin. Diagn. Lab. Immunol. 4 (5), 504 (1997).
- 34. M. Kumar, S. Mazur, B. L. Ork, et al., J. Virol. Methods. **223**, 13 (2015).
- J. Jung, J. Y. Kim, S. Bae, et al., J. Infect. 81 (2), e165 (2020).
- C. R. Harrell, V. Djonov, C. Fellabaum, and V. Volarevic, Int. J. Med. Sci. 15 (3), 274 (2018).
- T. H. Lin, C. C. Tseng, Y. L. Huang, et al., Aerosol Air Qual. Res. 20, 833 (2020).

Radiation Inactivation of Coronavirus Infection Pathogen by the Example of Transmissible Gastroenteritis Virus

V.N. Morozov*, A.N. Mukhin**, M.A. Kolyvanova*, ***, A.V. Belousov***, Y.A. Bushmanov***, T.V. Grebennikova**, and A.S. Samoylov***

*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

**Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, ul. Gamaleya 18, Moscow, 123098 Russia

***Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Federal Medical Biological Agency, Zhivopisnaya ul. 46, Moscow, 123182 Russia

In recent years, the members of the *Coronaviridae* family were responsible for outbreaks of respiratory diseases (MERS, SARS, COVID-19). Although, radiation technology can be widely used to sterilize personal protective equipment and vaccines, the possibilities of radiation-induced inactivation of this group of viruses have been little studied. In the present work, the effect of 10 MeV electron and 7.6 MeV bremsstrahlung photon beams on the coronavirus infection pathogen (transmissible gastroenteritis virus) was studied in vitro. Under given experimental conditions, photon irradiation was found more effective. The virus suspension frozen at -86° C was the most radioresistant: in this case the irradiation dose required for complete inactivation of transmissible gastroenteritis virus started at 15 kGy, while for the liquid suspension and the lyophilized form, sterilizing doses started at 10 kGy. At lower doses in all the samples the residual infectious activity of the virus was found during passaging in cell culture. The observed differences in the efficiency of virus inactivation in liquid and frozen virus-containing samples indicate a significant contribution of the direct effect of irradiation.

Keywords: coronavirus, radiation sterilization, radiation processing, virus inactivation, transmissible gastroenteritis virus, ionizing radiation