

纳米功能材料吸附灭活新型冠状病毒（COVID-19）的体外试验

一、试验目的

纳米功能材料 AB-24-1、AB-24-2、AB-24-3 及玻璃微球的体外吸附灭活新型冠状病毒（COVID-19）的作用。

二、材料

1. 受试物

纳米功能材料 AB-24-1、AB-24-2、AB-24-3 为白色干粉，玻璃微球为白色微球。

2. 细胞

VERO 细胞，本实验室细胞库保存。用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基，在 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 2-3 天，传代一次。

3. 病毒株

COVID-19 冠状病毒：2020 年 2 月安徽省 COVID-19 流行期间，由本中心从病人咽拭子中分离的病毒 BetaCoV/Anhui/SZ005/2020 (EPI_ISL_413485)，第一代。

三、方法与结果

1. COVID-19 冠状病毒毒力滴定（微量法）

将 4×10^5 /ml 的 VERO 细胞接种到 96 孔板，每孔 0.1ml，培养 24 小时，COVID-19 冠状病毒 SZ005 第一代病毒原液用 DMEM 维持液连续稀释： $10^{-1} \sim 10^{-11}$ 。将稀释的不同浓度的病毒液接种到长成单层的 VERO 细胞培养板中，每个稀释度 8 孔。每孔 0.1ml，同时设细胞对照，继续培养细胞，连续观察细胞病变（CPE）5 天，CPE 达 75%~100%为 4+，50%~75%为 3+，25%~50%为 2+，<25%为 1+，无 CPE 为 0。按 Reed-Muench 方法计算半数感染剂量（TCID₅₀）。TCID₅₀ 为 $10^{-3.5}$ 。

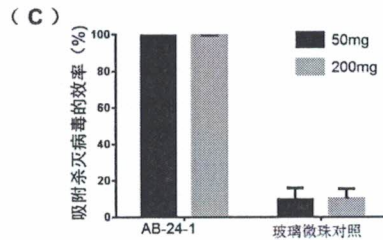
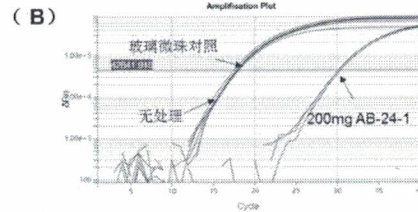
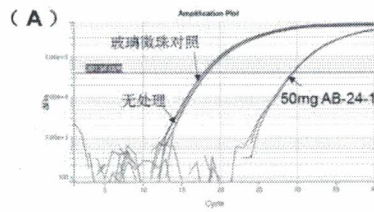
2. 材料对 COVID-19 冠状病毒直接吸附灭活作用的试验方法

分别称取 0.2 g (3 份) 和 0.05 g (3 份) 粉末纳米功能材料 AB-24-1、AB-24-2、AB-24-3 以及对照玻璃微球，放入无菌 1.5ml EP 管，加入 800 μl 的 COVID-19 病毒液（50TCID₅₀）混合均匀后，在室温下作用 30 min，期间每间隔 5 分钟，用手混合粉末材料与病毒液混合物，保证材料与病毒的充分作用。作用 30 min 后，3000 rpm 离心 5 分钟，每管吸取 250 μl 上清于新的无菌 EP 管中（保证每管吸

取上清等量)。此后,对含有病毒的上清进行病毒灭活处理,再进行提取 RNA。每管提取的 RNA 做 3 个重复的 qRT-PCR 实验。

3. 试验结果

材料: AB-24-1



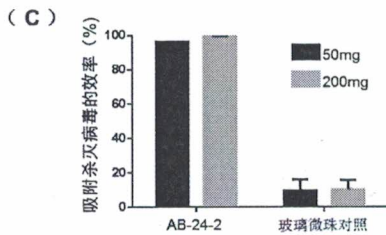
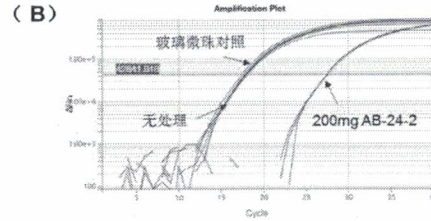
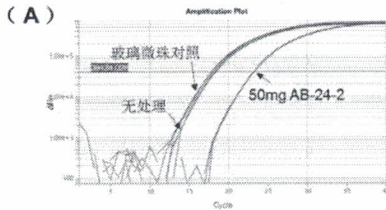
图解. 材料AB-24-1减少上清中病毒情况。

(A) 50mg AB-24-1材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒核酸的扩增曲线。

(B) 200mg AB-24-1材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒核酸的扩增曲线。

(C) AB-24-1材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒含量相对于无处理组减少百分比情况。

材料: AB-24-2



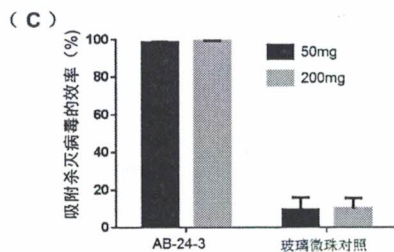
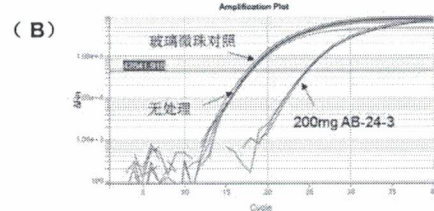
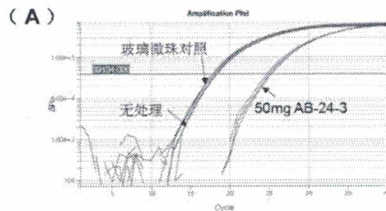
图解. 材料AB-24-2减少上清中病毒情况。

(A) 50mg AB-24-2材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒核酸的扩增曲线。

(B) 200mg AB-24-2材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒核酸的扩增曲线。

(C) AB-24-2材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒含量相对于无处理组减少百分比情况。

材料: AB-24-3



图解. 材料AB-24-3减少上清中病毒情况。

(A) 50mg AB-24-3材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒核酸的扩增曲线。

(B) 200mg AB-24-3材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒核酸的扩增曲线。

(C) AB-24-3材料或对照玻璃微珠处理后, 各组剩余上清中病毒含量相对于无处理组减少百分比情况。

四、结论

试验结果表明纳米功能材料 AB-24-1、AB-24-2、AB-24-3 有直接吸附灭活新型冠状病毒（COVID-19）的作用，未检测到玻璃微球和对照组对新型冠状病毒（COVID-19）吸附灭活的作用。

五、声明

本试验结果仅对送检样品负责。

试验终结审阅人：孙永

试验者：袁媛，王稳，栗薇薇，何军，俞俊岭，陈晴晴

试验时间：2020年3月1日~2020年3月9日

报告日期：2020年3月19日

安徽省疾病预防控制中心（盖章）

电话：0551-63674999

