

БЕЗОПАСНОСТЬ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ЭНТЕРОВИРУСОВ В ИСТОЧНИКАХ ЦЕНТРАЛИЗОВАННОГО ХОЗЯЙСТВЕННО-ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

Е.В. Козлова, А.И. Курбатова

Экологический факультет
Российский университет дружбы народов
Подольское шоссе, 8/5, г. Москва, Россия, 113093

Проведено исследование проб воды на энтеровирусную зараженность различными методами. Выявлено расхождение результатов анализа. Идентифицированы типы контаминантов проб воды. Приведены возможные причины контаминации воды этими агентами.

Ключевые слова: энтеровирусы, колифаги, цитопатический эффект, клеточная культура, патоген.

Эпидемиологическая безопасность воды различного вида водопользования в отношении вирусологической контаминации регламентируется водно-санитарным законодательством [4; 5; 7; 9]. В этих документах одним из основных критериев вирусной зараженности воды считается присутствие в исследуемых объектах кишечных вирусов человека (энтеровирусов). Энтеровирусы, ранее относимые к несущественным патогенам человека, в настоящее время стали представлять все большую угрозу для человека. По охвату населения эти многочисленные и повсеместно распространенные агенты занимают одно из первых мест в общей структуре вирусных инфекций. Основным источником энтеровирусной инфекции является зараженный человек, в кишечнике которого размножаются и накапливаются энтеровирусы, выделяющиеся в больших концентрациях с фекалиями. Прямым и/или опосредованным путем заражения воды является окружающая среда, в которой циркулируют энтеровирусы. Из-за тесного и постоянного контакта людей с водной средой она становится активным передаточным звеном, поддерживающим широкую распространенность энтеровирусной инфекции. Длительный период выживания энтеровирусов в воде способствует реализации фекально-орального механизма передачи возбудителей, обуславливающего высокий уровень заболеваемости населения.

Маркером энтеровирусной контаминации являются колифаги, которые широко распространены в сточных водах и поэтому являются индикаторами присутствия

сточных вод в водной среде. Выявление колифагов основано на их способности лизировать (разрушать) кишечную палочку (*E.coli*) [2]. Концентрация колифагов измеряется в БОЕ (бляшкообразующая единица, единичный очаг локального лизиса культуры кишечной палочки, обработанной водой, содержащей колифаги). Условно 100 БОЕ колифага соответствует одной вирусной частице [8].

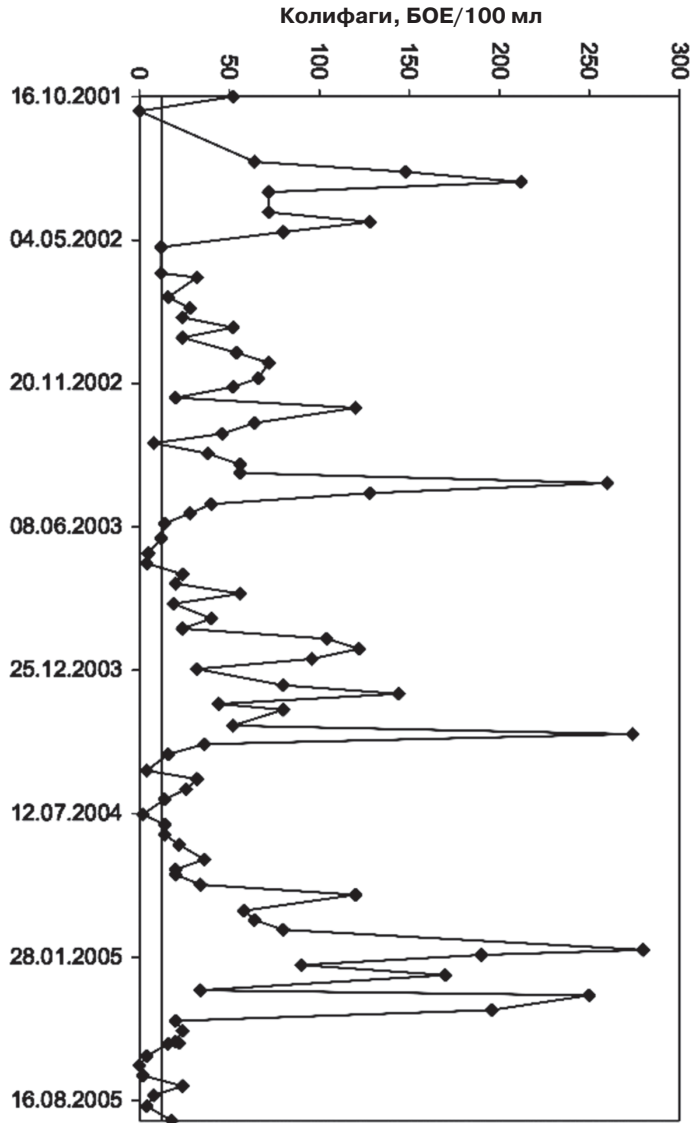


Рис. 1. Содержание колифагов в источнике централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения

На рисунке 1 представлены результаты измерения содержания колифагов в источнике централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения, осуществляемых в течение ряда лет Западной водопроводной станцией г. Москвы. Для источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения численность колифагов не должна превышать 10 ед. (БОЕ/100 мл) [8]. Максимумы концентраций

колифагов регулярно соответствовали периодам зимних оттепелей и весенним потеплениям (горизонтальная линия на графике — нормативный предел для водоисточников). Наиболее крупные значения (>100 БОЕ/100мл) приведены в табл. 1.

Таблица 1

Максимальные показатели колифагов в источнике централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения г. Москвы

Дата (месяц, год)	Февраль 2002	Апрель 2002	Декабрь 2002	Апрель 2003	Ноябрь 2003	Январь 2004	Март 2004	Ноябрь 2004	Январь 2005	Февраль 2005	Март 2005
Колифаги БОЕ/100 мл	212	128	120	260	122	144	274	120	280	170	250

Выявленные периоды сверхпороговых концентраций колифагов, указывающие на энтеровирусную контаминацию воды, должны были соответствовать увеличению частоты случаев кишечной инфекции среди водопользователей [1]. Фактически же на протяжении ряда лет энтеровирусные заболевания в зимне-весенние периоды регистрировались лишь в единичных случаях, а ощутимый рост энтеровирусной заболеваемости соответствовал летним периодам, когда присутствие колифагов в воде не превышало порогового уровня.

Для выяснения причин указанного несоответствия было проведено комплексное исследование проб воды Подмосковского водоема на присутствие энтеровирусов, включающее аналогичный анализ по колифагам, а также по цитопатическому эффекту (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительные показатели энтеровирусной контаминации

Дата проведения анализа (месяц, год)	Показатели зараженности энтеровирусами		
	по колифагам		по ЦПЭ
	концентрация колифагов (БОЕ/100 мл)	вероятность присутствия энтеровирусов	концентрация в ККИД 50/1000 л
Март 2012	160	++	< 1
Май 2012	140	+	10 ²
Июнь 2012	90	±	<1
Август 2012	40	—	10

Условные обозначения: «++» — энтеровирусная контаминация; «+» — не исключена возможность энтеровирусной контаминации; «±» — энтеровирусная контаминация маловероятна; «—» — энтеровирусная контаминация отсутствует.

Существующие вирусологические методы выявления (детекции) энтеровирусов основаны на различных принципах, которые и определяет полноценность получаемой информации. Традиционные лабораторные способы выявления энтеровирусов основаны на их способности воздействовать на индикаторные культуры клеток [6]. Этот метод признан Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в качестве «золотого» стандарта диагностики энтеровирусов [7].

Принцип метода заключается в определении предельного разведения исследуемого материала, вызывающего изменение 50% индикаторных клеток так называемого цитопатического эффекта (ЦПЭ) вируса [7]. По найденному предельному разведению, содержащему как минимум одну вирусную частицу, можно рассчитать число инфекционных вирусных частиц — титр вируса, измеряемый в ККИД₅₀ (ККИД — клеточная культуральная инфицирующая доза). Индикаторными клетками, как правило, являются клетки RD (культура клеток из рабдомиосаркомы человека) и/или клетки HEp-2-C (культура клеток из эпителиальной карциномы человека).

Комплексное исследование проб воды с помощью санитарно-показательных микроорганизмов (колифагов) и с помощью вирусологических методов выявило резкое расхождение полученных результатов. Присутствие энтеровирусов было определено в пробе, признанной безопасной по косвенным показателям (от 08.2012). В то же время из трех проб воды (от 03.2012, 05.2012, 06.2012) по косвенным показателям, потенциально содержащим энтеровирусы, эти агенты были обнаружены лишь в одной пробе от 05.2012. В результате последующей идентификации обнаруженных энтеровирусов было установлено, что проба воды от 05.2012 контаминирована вакцинными вирусами полиомиелита (тип 1), а контаминанты пробы воды от 08.2012 представляют смесь вакцинного вируса полиомиелита (тип 1), а также вирусов ЕСНО 7 и ЕСНО 11. Факт вирусной контаминации мог быть вызван следующими причинами: наличием неконтролируемых локальных стоков, отсутствием (либо несоблюдением) зон санитарной охраны водоисточников или недостаточной эффективностью используемых методов обеззараживания.

Выводы. Выявлено присутствие энтеровирусов в пробах воды, указывающее на интенсивную циркуляцию этих агентов в окружающей среде.

Доказано, что санитарно-показательные микроорганизмы (колифаги) не всегда адекватно отражают реальную вирусную зараженность водной среды.

Установлено, что присутствие вакцинных вирусов полиомиелита в майской пробе связано с проведением массовых прививочных мероприятий и, предположительно, явилось результатом насыщения окружающей среды вирусами, выделяемыми вакцинированными.

Установлено, что присутствие вирусов ЕСНО 7 и ЕСНО 11 в августовской пробе соответствовало обычному подъему уровня энтеровирусной заболеваемости в летне-осенний период. Учитывая низкую концентрацию колифагов в указанной пробе, причиной вирусной контаминации нельзя признать сточные воды. Более вероятным источником инфицирования следует считать больных купальщиков или купальщиков-вирусоносителей.

Решением проблемы достоверного определения энтеровирусной контаминации водных объектов представляется комплексное использование косвенных (с помощью санитарно-показательных микроорганизмов) и прямых (вирусологических) методов исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Долгоносов Б.М., Мессинева Е.М., Власов Д.Ю. и др. Бактериологические показатели качества воды Москворецкого водоисточника // *Инженерная экология*. — 2006. — № 4. — С. 17—30.
- [2] Доскина Т.В., Дмитриева С.А. Контроль вирусного загрязнения водных объектов // *Пест-менеджмент*. — 2005. — № 3. — С. 40—2.

- [3] *Кочемасова З.Н., Ефремова С.А., Рыбакова А.М.* Санитарная микробиология и вирусология. — М.: Медицина, 1987.
- [4] Методические рекомендации по санитарно-вирусологическому контролю объектов окружающей среды. МЗ СССР. Главное управление карантинных инфекций. — М., 1982.
- [5] МУК. 4.2.1018-01. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды.
- [6] Рекомендации по эпидемиологическому надзору за энтеровирусами для поддержки программы ликвидации полиомиелита. ВОЗ. — Женева, 2005.
- [7] Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита. ВОЗ. — Женева, 2005.
- [8] Сан ПиН 2.1.5.980-00. Водоотведение населенных мест, санитарная охрана водных объектов. Гигиенические требования к охране поверхностных вод.
- [9] СанПиН. 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества.

LITERATURA

- [1] *Dolgonosov B.M., Messineva E.M., Vlasov D.Ju.* i dr. Bakteriologicheskie pokazateli kachestva vody Moskvoreckogo vodoistochnika // Inzhenernaja jekologija. — 2006. — № 4. — S. 17—30.
- [2] *Doskina T.V., Dmitrieva S.A.* Kontrol' virusnogo zagriznenija vodnyh ob#ektov // Pest-menedzhment. — 2005. — № 3. — С. 40—42.
- [3] *Kochemasova Z.N., Efremova S.A., Rybakova A.M.* Sanitarnaja mikrobiologija i virusologija. — М.: Medicina, 1987.
- [4] Metodicheskie rekomendacii po sanitarno-virusologicheskomu kontrolju ob#ektov okruzhajushhej sredy. MZ SSSR. Glavnoe upravlenie karantinnyh infekcij. — М. 1982.
- [5] МУК. 4.2.1018-01. Metody kontrolja. Biologicheskie i mikrobiologicheskie faktory. Sanitarno-mikrobiologicheskij analiz pit'evoj vody.
- [6] Rekomendacii po jepidemiologicheskomu nadzoru za jentervirusami dlja podderzhki programmy likvidacii poliomielita. VOZ. — Zheneva, 2005.
- [7] Rukovodstvo po laboratornym issledovanijam poliomielita. VOZ. — Zheneva. 2005.
- [8] San PiN 2.1.5.980-00. Vodootvedenie naseleennyh mest, sanitarnaja ohrana vodnyh ob#ektov. Gigienicheskie trebovanija k ohrane poverhnostnyh vod.
- [9] SanPiN. 2.1.4.1074-01. Pit'evaja voda. Gigienicheskie trebovanija k kachestvu vody centralizovannyh sistem pit'evogo vodosnabzhenija. Kontrol' kachestva.

DETECTION OF ENTEROVIRUSES IN FRESHWATER

E.V. Kozlova, A.I. Kurbatova

Ecological Department
Peoples' Friendship University of Russia
Podolskoe shosse, 8/5, Moscow, Russia, 113093

In this article, two different methods for the detection of enteroviruses in the fresh water were performed and compared. All collected enteroviruses were identified using molecular typing. The possible reasons of water contamination were discussed in conclusions.

Key words: enteroviruses, coliphatic, cell culture, pathogen.