



УДК 613.34:546.134:578:628.162

А. В. Мокієнко<sup>1</sup>, Н. Ф. Петренко<sup>1</sup>, І. В. Дзюблик<sup>2</sup>, Л. Г. Засипка<sup>3</sup>,  
Л. С. Котлік<sup>3</sup>, О. П. Тарасюк<sup>3</sup>, Н. М. Тіхенко<sup>3</sup>

## ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА АДЕНОВІРУЛІЦИДНОЇ ДІЇ ДІОКСИДУ ХЛОРУ ПРИ ЗНЕЗАРАЖУВАННІ ВОДИ

<sup>1</sup>Державне підприємство Український науково-дослідний інститут  
медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, Одеса,

<sup>2</sup>Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, Київ,

<sup>3</sup>Одеська обласна санітарно-епідеміологічна служба, Одеса

Аденовірусні інфекції становлять приблизно 10 % від усіх випадків вірусних захворювань людини, при цьому переважно уражають дітей віком до 14 років (близько 75 %), однак хворіють і дорослі. Аденовіруси — середнього розміру (80 нм), простої структури, ДНК-вмісні віруси [1], здатні викликати різні ураження очей, органів дихання, травлення і сечостатевої системи. Найчастіше аденовіруси людини спричиняють такі захворювання: пневмонії, бронхіти, бронхіоліти (3, 4, 7, 21-й серотипи); «кератокон'юнктивальну гарячку» (8, 19, 37-й серотипи), лімфоаденопатії, гострі та хронічні тонзиліти, отити, фарингіти (3, 7, 11-й серотипи та ін.), ураження печінки та міокарда. Окремі серотипи аденовірусів мають онкогенні потенції (12 і 18), серотипи 40 і 41 широко відомі як «кишкові» аденовіруси або збудники гострих гастроентеритів. «Кишкові» аденовіруси мають більшу екологічну стабільність порівняно з іншими відомими кишковими вірусами, тому їхня наявність у стічних водах і воді поверхне-

вих джерел води створює небезпеку інфікування питної води [2]. Аденовіруси значно частіше та у більших кількостях (порівняно з ентеровірусами) виявляють у неочищених стічних водах [3; 4].

Дослідження контамінації аденовірусами вихідної та очищеної води (липень 2000 р. — червень 2001 р.) показало таке [5]: за умови, що вода з поверхневих джерел і процеси водопроцесу відповідали міжнародним стандартам виробництва безпечної питної води, аденовіруси виявлялися в 13 (12,75 %) зразках вихідної та 9 (4,41 %) — обробленої води.

Ті ж автори [6] у наступному році (2001–2002) провели аналогічні дослідження. Констатовано виявлення аденовірусів у 29,8 % (59/198) вивчених проб обробленої питної води, 16 % (8/50) проб води з водозаборів і 44 % (22/50) зразків річкової води.

Аденовіруси 40 і 41-го серотипів були ідентифіковані як етіологічні агенти водного спалаху гострого гастроентериту у Фінляндії [7]; інші серотипи (3,

4, 7) аденовірусів виявилися збудниками фарингокон'юнктивальної гарячки після плавання у басейнах [8].

Перше дослідження рекреаційних вод з метою ідентифікації аденовірусів людини виявило таке [9]. Загалом було досліджено 58 зразків води двох пляжів на озері Мічіган протягом літа 2004 р. Результати полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) показали, що 8 із 30 зразків води одного і 6 із 28 зразків води іншого пляжу містили аденовіруси людини (HAdVs), інші різновиди вірусу (F HAdVs) були виявлені в трьох із цих позитивних зразків. Концентрації HAdVs коливалися від  $(1,7 \pm 0,7) \cdot 10$  до  $(3,4 \pm 0,8) \cdot 100$  і від  $(7 \pm 2)$  до  $(3,8 \pm 0,3) \cdot 10^3$  вірусних одиниць/дм<sup>3</sup> відповідно. Наявність F-різновидів HAdVs констатовано у межах від  $(4,8 \pm 0,8) \cdot 10$  до  $(4,6 \pm 1,5) \cdot 10^2$  вірусних одиниць/дм<sup>3</sup>.

Використання математичної моделі дозволило припустити щорічні ризики інфікування аденовірусами внаслідок споживання питної води на середніх рівнях від 1/1000 до 1/100 дм<sup>3</sup>



у діапазоні від 8,3/10 000 до 8,3/1000 чоловік відповідно [10].

З огляду на вищевикладене, можна зробити висновок щодо необхідності пошуку й оцінки ефективного та надійного засобу деконтамінації питної води від аденовірусів.

**Мета** роботи полягала у гігієнічній оцінці аденовіруліцидної дії діоксиду хлору при знезаражуванні води.

### Матеріали та методи дослідження

У дослідженнях використали дози діоксиду хлору, які широко застосовуються у практиці водопідготовки для знезаражування води (природних джерел, питної) і стічних вод: 0,3 — 0,5 — 1,0 — 1,5 — 2,0 мг/дм<sup>3</sup>.

Оцінку віруліцидної активності діоксиду хлору проводили у повній відповідності з тимчасовими методичними рекомендаціями, затвердженими наказом МОЗ України від 26.05.2006 р. № 333 [11]. Як тест-вірус нами були відібрані свіжовиділені (липень—листопад 2007 р.) й адаптовані до культури клітин штами аденовірусів людини. Для оцінки цитопатогенної дії (ЦПД) аденовірусу використали пробіркову культуру клітин карциноми гортані людини HEP-2 [12]. Матеріал для зараження культури клітин в умовах *in vitro* одержували у такий спосіб: до 0,9 мл стерильної дистильованої води, що містить певну концентрацію діоксиду хлору, вносили 0,1 мл тест-вірусу (розведення 10<sup>-1</sup>); з отриманого розведення відбирали 0,1 мл і вносили в 0,9 мл стерильної дистильованої води, що містить ту ж концентрацію діоксиду хлору, і т. д. до розведення 10<sup>-7</sup>. Розведення 10<sup>-5</sup>–10<sup>-6</sup> ідентичні контамінації стічних вод з урахуванням концентрування у 50 разів.

Експозиція становила 60 хв при температурі 5 °С (в умовах побутового холодильника), після нейтралізації дії діоксиду хлору (останній вносили у співвідношенні 1:1), рН суміші юс-

тирували до значень 7,3–7,4, а потім матеріал в об'ємі 0,2 мл вносили у культури клітин і термостатували при температурі 37 °С [13].

Дослідження були виконані у Централізованій імуновірусологічній лабораторії Одеської обласної СЕС.

### Результати дослідження та їх обговорення

У наших оціночних дослідженнях ми базувалися на тому, що основним показником ефективності діоксиду хлору у заданих концентраціях і при зазначеній вище експозиції не повинно бути жодних ознак репродукції аденовірусу у культурі клітин HEP-2 за умови використання титру вірусу в 7 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл в експерименті та у контролі. Ми також орієнтувалися на те, що як мінімальну величину віруліцидної дії реагенту допускається розглядати вже ту його дозу при зазначеній експозиції, що приведе до зниження титру вірусу на 2 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл (такий підхід використовується при пошуку нових дезінфектантів). При цьому загальну віруліцидну ефективність розраховували як різницю між титром вірусу в контролі і титром вірусу в суміші вірус/дезінфектант. На кожний дослід (розведення вірусу/доза дезінфектанту) при експозиції 60 хв і температурі 5 °С використовували 4 пробірки з моношаром клітинної культури. Період спостереження за формуванням ЦПД аденовірусу становив 6–7 днів. Щодня клітинні моношарові культури оглядали під мікроскопом і реєстрували ЦПД вірусу. За відсутності характерного ЦПД аденовірусу в культурі клітин проводили два додаткових пасажі. Усі дослідження виконували у двох повторностях. Результати досліджень, які наведено у таблиці, свідчать про таке.

Дози діоксиду хлору 0,3–0,5 мг/дм<sup>3</sup> при експозиції 60 хв були неефективними. Загальна віруліцидна дія діоксиду хлору в цих концентраціях прояв-

лялася при розведенні вірусу 10<sup>-6</sup> і 10<sup>-7</sup>, тимчасом як за мінімальну величину можна було прийняти тільки ту дозу, що пригнічує репродукцію вірусу на 2 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл, іншими словами — репродукцію вірусу в розведеннях 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup> і 10<sup>-7</sup>.

Діоксид хлору дозою 1,0 мг/дм<sup>3</sup> повністю пригнічував репродукцію тест-вірусу з інфекційною активністю 7 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл, при цьому його вплив був ефективним і стійким у всіх дослідах.

За даними літератури, кишкові аденовіруси чутливі до хлору [14], але дуже стійкі до УФО [15]. Так, у роботі [14] встановлено, що аденовірус можна інактивувати за концентрації вільного хлору (1 мг/дм<sup>3</sup>) при експозиції 60–237 хв, які зазвичай застосовують при очищенні питної води у США.

Згідно з даними [15], доза УФО для 99%-ї інактивації аденовірусу серотипу 40 у попередньо очищеній ґрунтовій воді становила 103 мДж/см<sup>2</sup>.

На думку авторів роботи [16], аденовірус є найбільш стійким до УФО інфекційним агентом, який передається через воду, що викликає закономірне занепокоєння служб охорони здоров'я. Згідно з рекомендаціями Агентства охорони навколишнього середовища США, у водопідготовці необхідна доза монохроматичного УФО з довжиною хвилі 253,7 нм (у лампах низького тиску) для інактивації 4,0 log віруси становить 186 мДж/см<sup>2</sup>. У даній роботі показано, що використання поліхроматичного УФО менше 230 нм при інактивації аденовірусу типу 40 дозволяє істотно знизити дозу УФО до 60 мДж/см<sup>2</sup> у постійному та до 40 мДж/см<sup>2</sup> в імпульсному режимі.

Наведені дані, на наш погляд, мають істотне практичне значення для реальних умов водопідготовки винятково в системах локального водопостачання, оскільки, як відомо, УФО не має пролонгованої віруліцидної дії або післядії. Останнє зводить до мінімуму ефектив-



Результати дослідження аденовірусної дії діоксиду хлору

Титр вірусу	Розведення	Доза, мг/дм <sup>3</sup>	Облік ЦПД за днями																			
			Зараження						I пасаж							II пасаж						
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1·10 <sup>5</sup>	10 <sup>-2</sup> (1:100)	0,3 0,5 1,0	0 0 0	2+ 0 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	0 0 0	2+ 0 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	— — 0	
1·10 <sup>6</sup>	10 <sup>-1</sup> (1:10)	0,3 0,5 1,0	0 0 0	2+ 0 0	4+ 2+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	0 0 0	2+ 0 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	— — 0	
1·10 <sup>7</sup>	Нативний	0,3 0,5 1,0	0 0 0	0 0 0	2+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	4+ 0 0	0 0 0	0 0 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	4+ 4+ 0	— 0 0	
Контроль 1·10 <sup>7</sup>	Нативний	—	0	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	0	2+	4+	4+	4+	4+	—	

Примітка. «2+» — 50 % кількості культур клітин із ЦПД; «4+» — 100 % кількості культур клітин із ЦПД; 0 — відсутність ЦПД у культурі клітин; — дослідження у повторних пасажах не проводили.

ність даного засобу знезаражування за умови незадовільного санітарно-технічного стану вітчизняних водорозподільних мереж.

Повідомлення про низьку резистентність аденовірусів до хлору [14] викликають певні сумніви, оскільки в наведених вище даних літератури всього за один рік констатоване зростання кількості позитивних знахідок аденовірусів у пробах хлорованої води — від 4,41 до 29,8 % [5; 6].

Нам відоме поодинокі повідомлення, що стосується інактивації діоксидом хлору кишкового аденовірусу при різних температурах і рН [17]. На думку авторів, науково-практична значущість такої оцінки діоксиду хлору пояснюється не тільки перспективою використання даного реагенту як вторинного знезаражуючого засобу для систем водопостачання, у тому числі тих, що використовують УФО, а також і для систем, що застосовують діоксид хлору для передокиснення вихідної води джерела. Відомо, що дози діоксиду хлору, які використовують для очищення та знезаражування води у США, коливаються від 0,07 до 2,0 мг/дм<sup>3</sup> [18], а середній час контакту становить 237 хв [19].

У роботі [17] експерименти щодо дезінфекції діоксидом хлору були виконані у двох повторностях при температурі 15 і 5 °С. Як водне середовище використовували буферовану воду, яка не містила дезінфектанту. Експозиція для 99,99%-ї інактивації в усіх випадках дорівнювала 45 с. Встановлено, що рівні інактивації аденовірусів більш високі при рН 8, ніж при рН 6, і при 15 °С, ніж при 5 °С. При цьому дози діоксиду хлору залежно від температури і рН коливалися так: при температурі 5 °С і рН 6 і 8 — від >0,77 до <1,53 мг/дм<sup>3</sup> і від >0,80 до <1,59 мг/дм<sup>3</sup> відповідно; при температурі 15 °С і рН 6 і 8 — від >0,49 до <0,74 і <0,12 мг/дм<sup>3</sup>.



Ці дані деякою мірою узгоджуються з отриманими нами, оскільки ефективні дози діоксиду хлору при рН=7,3-7,4 і температурі 5 °С залежно від ступеня розведення становили 0,5 і 1,0 мг/дм<sup>3</sup>.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про високу та надійну віруліцидну дію діоксиду хлору стосовно аденовірусів людини. Відповідно до практики знезараження води можна зробити висновки щодо:

— обґрунтованості застосування діоксиду хлору дозою 1 мг/дм<sup>3</sup> для передокиснення природної води, що є надійним бар'єром вірусної контамінації питної води;

— можливості рекомендувати діоксид хлору для знезараження води в тих населених пунктах, де питна вода є перманентним джерелом епідемічної небезпеки; при аварійних ситуаціях на водопроводах і джерелах водопостачання, а також для знезараження стічних вод об'єктів підвищеного епідризику (інфекційні лікарні, міжнародні аеропорти, табори переміщених осіб тощо).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Albert M. J.* Enteric adenoviruses / *M. J. Albert* // *Arch. Virol.* — 1986. — Vol. 88. — P. 1-17.  
2. *Enriquez C. E.* Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap, sea, and waste water / *C. E. Enriquez,*

*C. J. Hurst, C. P. Gerba* // *Wat. Res.* — 1995. — Vol. 29, N 11. — P. 2548-2553.

3. *Quantification and Stability of Human Adenoviruses and Polyomavirus JCPyV in Wastewater Matrices* / *Bofill-Mas S., Albinana-Gimenez N., Clemente-Casares P. et al.* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2006. — Vol. 72, N 12. — P. 7894-7896.

4. *Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses* / *Pina S., Puig M., Lucina F. et al.* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1998. — Vol. 64. — P. 3376-3382.

5. *Incidence of adenoviruses in raw and treated water* / *J. Van Heerden, M. M. Ehlers, W. B. van Zyl, W. O. K. Grabow* // *Wat. Res.* — 2003. — Vol. 37, N 15. — P. 3704-3708.

6. *Prevalence of human adenoviruses in raw and treated water* / *J. Van Heerden, M. M. Ehlers, W. B. van Zyl, W. O. K. Grabow* // *Water Science & Technology.* — 2004. — Vol. 50, N 1. — P. 39-43.

7. *Waterborne outbreak of viral gastroenteritis* / *Kukkula M., Arstila P., Klossner M. L. et al.* // *Scand. J. Infect. Dis.* — 1997. — Vol. 29. — P. 415-418.

8. *Papapetropoulou M.* Detection of adenovirus outbreak at a municipal swimming pool by nested PCR amplification / *M. Papapetropoulou, A. C. Vantarakis* // *J. Infect.* — 1998. — Vol. 36. — P. 101-103.

9. *Occurrence of Human Adenoviruses at Two Recreational Beaches of the Great Lakes* / *Xagorarakis I. L., Kuo D. H.-W., Wong K. et al.* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2007. — Vol. 73, N 24. — P. 7874-7881.

10. *Waterborne adenovirus: a risk assessment* / *K. D. Crabtree, C. P. Gerba, J. B. Rose, C. N. Haas* // *Water Science & Technology.* — 1997. — Vol. 35, N 11-12. — P. 1-6.

11. *Визначення віруліцидності активності дезінфекційних препаратів: тимчас. метод. рекомендації МР 9.9.4.5.-126-2006.* Затверд. МОЗ України, Наказ № 333 від 26.05.2006 р.

12. *Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита* // Глобальная программа по вакцинации и иммунизации РПИ; ВОЗ; Женева. — М., 1998. — 45 с.

13. *Посібник з медичної вірусології* / *Гирін В. М., Порохницький В. Г., Вороненко С. Г. та ін.*; за ред. В. М. Гиріна. — К.: Здоров'я, 1995. — 368 с.

14. *Chlorine Inactivation of Adenovirus Type 40 and Feline Calicivirus* / *J. A. Thurston-Enriquez, C. N. Haas, J. Jacangelo, C. P. Gerba* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2003. — Vol. 69, N 7. — P. 3979-3985.

15. *Inactivation of Feline Calicivirus and Adenovirus Type 40 by UV Radiation* / *Thurston-Enriquez J. A., Haas C. N., Jacangelo J. et al.* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2003. — Vol. 69, N 1. — P. 577-582

16. *Enhanced UV Inactivation of Adenoviruses under Polychromatic UV Lamps* / *K. G. Linden, J. Thurston, R. Schaefer, J. P. Malley Jr.* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2007. — Vol. 73, N 23. — P. 7571-7574.

17. *Inactivation of Enteric Adenovirus and Feline Calicivirus by Chlorine Dioxide* / *J. A. Thurston-Enriquez, C. N. Haas, J. Jacangelo, C. P. Gerba* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2005. — Vol. 71, N 6. — P. 3100-3105.

18. *U. S. Environmental Protection Agency. EPA guidance manual: alternative disinfectants and oxidants.* EPA 815-R-99-014. Office of Water; U. S. Environmental Protection Agency; Washington; D. C. — 1999.

19. *White G. C.* Handbook of chlorination and alternative disinfectants / *G. C. White.* — 4th ed. — N. Y.: John Wiley and Sons, Inc., 1999.

