

### Проблемы совершенствования санитарно-вирусологического контроля водных объектов

В.А. Долгин, НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина РАМН

Статья посвящена актуальным вопросам санитарно-вирусологического контроля водных объектов. Особое внимание уделяется индикаторам вирусного загрязнения, а также экспрессным и специфичным методикам их обнаружения

Доброкачественность питьевой воды – глобальная проблема большинства стран мира. В наибольшей степени это касается развивающихся государств, в которых наблюдается ограниченный

доступ к безопасным источникам питьевой воды. По данным ВОЗ, в результате неудовлетворительного состояния питьевого водоснабжения, отсутствия санитарно-гигиенических навыков у населения в развивающихся странах ежегодно погибают до

1,7 млн. человек. Причиной этого является инфекционная диарея бактериальной, вирусной и паразитарной этиологии, а основной группой риска является детское население [1]. Возбудители инфекционных заболеваний, вызывающие желудочно-кишечные, кожные и респираторные

болезни, могут распространяться с питьевой водой, при купании, а также при ополаскивании фруктов и овощей загрязненной водой [2]. Вследствие нарастания дефицита доброкачественной питьевой воды и водоисточников в последние годы резко возросло внимание к эпидемической безопасности водных объектов. Так, в США анализ национальных

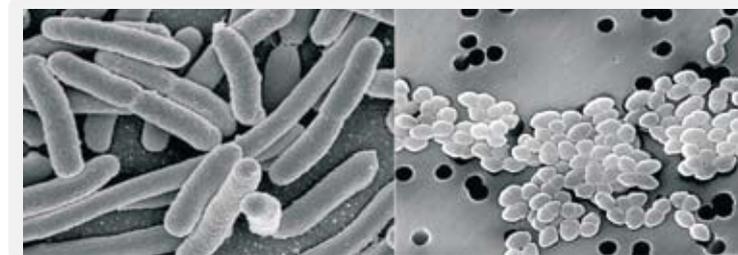
реестров качества воды свидетельствует, что 39% обследованных рек и ручьев загрязнены; причем в первой тройке лидеров загрязнения неизменно оказываются патогенные микроорганизмы [3, 4, 5, 6].

Как известно, ведущим источником загрязнения водных объектов являются недостаточно очищенные и необеззараженные хозяйственно-бытовые сточные воды городских и сельскохозяйственных населенных территорий. К факторам, способствующим ухудшению качества воды, относят рост землепользования и развитие сель-

ского хозяйства, которые в наибольшей степени подвергают водоемы высокому риску микробной контаминации [7]. Большую роль играют также ассоциированные с глобальными изменениями климата преобразования гидрологического цикла, влекущие за собой увеличение объема и частоты осадков [7, 8].

Для оценки эффективности водоподготовки и обеззараживания сточных вод в мировой практике используются индикаторные микроорганизмы, такие, как энтерококки и *Escherichia coli*.

При этом, как показали многолетние исследования лаборатории вирусологии НИИ ЭЧиГОС им. А.Н.Сысина РАМН, бактерии, являясь надежными индикаторами в отношении возбудителей *бактериальных* кишечных инфекций, неадекватны в отношении *вирусного* и *паразитарного* загрязнения вследствие большей устойчивости последних к воздействию физических, химических неблагоприятных факторов, а также к обеззараживающим агентам.



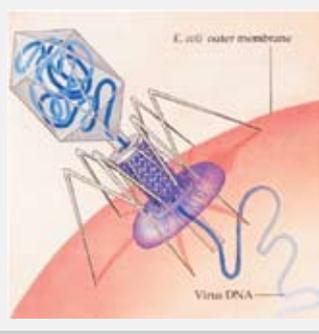
Бактериальные индикаторы не дифференцируют фекальное загрязнение по природе источника без сложных дополнительных исследований и не дают возможности определить вирусную составляющую загрязнения [9].

Традиционное обнаружение и идентификация непосредственно вирусов на культуре ткани



требуют до 30 суток, что делает невозможным своевременное принятие эффективных профилактических мер. Причем многие группы вирусов, такие, как вирусы гепатита А, вирусы Норфолк, рота-, астро-, калицивирусы не культивируются на культуре ткани и не регистрируются при культуральном методе исследования.

Колифаги являются альтернативой бактериальным индикаторам. Это вирусы бактерий, обитающие в кишечнике млекопитающих, иногда в количествах, сходных с количеством бактериальной флоры там [10]. Они, как правило, не размножаются в объектах окружающей среды вне кишечника, где количество клеток-хозяев менее  $10^4$  БОЕ/мл, а окружающие условия бедны питательными веществами и не соответствуют условиям, способствующим процессу репликации.



Фаголизис бактериальной клетки возможен только в бактериальных культурах, претерпевающих экспоненциальный рост (логарифмическая фаза). Колифаги иллюстрируют потенциальный риск для здоровья водопользователей, а также потребителей морепродуктов, поскольку в некоторых исследованиях присутствие колифагов коррелировало с присутствием патогенных человеческих вирусов в воде и моллюсках. Колифаги инфицируют колиформные бактерии, не патогенны для человека и более сходны, чем энтеробактерии, с энтеровирусами по размеру, устойчивости в окружающей среде к обеззараживающим агентам [11, 12, 13, 14, 15, 16]. Колифаги равномерно распределены в бытовых и очищенных стоках в концентрациях  $10^2$ – $10^6$  БОЕ/л, в зависимости от степени очистки сточных вод.

Наряду с явными преимуществами колифагов перед бактериальными индикаторами, они все же могут являться лишь косвенным свидетельством потенциального вирусного загрязнения водотока, поскольку однозначно не описывают качественный и/или количественный состав вирусной нагрузки. Ответ на этот вопрос может дать лишь **обнаружение и идентификация** патогенного энтеротропного вируса, представляющего опасность для водопользователя или потребителя морепродуктов. Однако все существующие на сегодняшний день методики выделения вирусов из воды достаточно трудоемки и не гарантируют ложноотрицательного результата.

Изложенное свидетельствует о необходимости разработки новых эффективных методов детекции вирусов, являющихся экспрессными,

чувствительными, обладающих специфичностью и надежностью в эпидемиологическом отношении.

В НИИ ЭЧиГОС им. А.Н. Сысина РАМН сотрудниками лаборатории санитарной микробиологии и паразитологии регулярно проводятся обследования санитарного состояния водоемов, а также питьевой и сточных вод в различных районах московского региона. Так, например, в феврале–марте 2009 года была исследована питьевая вода из нескольких подземных скважин и распределительной водопроводной сети города Подольска Московской области. Исследования показали, что соответствующая требованиям эпидемиологической безопасности по санитарно-бактериологическим показателям, при отсутствии колифагов, вода содержала следовые количества вирусов гепатита А (ВГА), которые удалось обнаружить при помощи полимеразной цепной реакции в обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Известно, что Подольский район неблагополучен по заболеваемости ВГА, поэтому, несмотря на отсутствие в этот период роста заболеваемости гепатитом, такие находки сигнализируют о циркуляции вирусного загрязнения и о необходимости принятия срочных мер при водоподготовке.

В апреле–мае 2009 г. в зоне жилой застройки Серебряного Бора в Москве было проведено санитарно-вирусологическое обследование водных объектов. В первую очередь исследовали сточные воды канализационных колодцев. Было выявлено микробное загрязнение, многократно превышающее допустимые нормативы. На фоне сто- и тысячекратного превышения нормативных уровней по санитарно-бактериологическим показателям в воде были обнаружены колифаги в количестве тысяч и десятков тысяч БОЕ на 100 мл. При помощи ОТ-ПЦР в 55% проб удалось обнаружить энтеровирусы, в 15% – ротавирусы, в 90% – астровирусы и в 80% – норовирус II типа. В 2 пробах из 20 обнаружались следовые количества ВГА, хотя при повторной постановке результат оказался отрицательным, что свидетельствует о низкой вирусной нагрузке образцов. При этом в культуре ткани данных групп вирусов обнаружено не было.



Такие нарушения водно-санитарного законодательства, как выпуск сточных вод, опасных в эпидемическом отношении, могут иметь негативные последствия для здоровья населения. Так, в летние месяцы 2007 года были проведены исследования воды, отобранной в рекреационных зонах некоторых пляжей Москвы. В результате был выделен вирус гепатита А в концентрации, достаточной для проведения генотипирования и секвенирования



вариабельной области генома (регион VP1/2B). По результатам генотипирования вирус гепатита А, выявленный в

пробе, принадлежал к IA-субтипу. Результаты секвенирования по региону VP1/2B показали, что вирус был представлен штаммом U60Z13. А в результате проведенного филогенетического анализа было показано, что штамм U60Z13 вируса гепатита А относится к кластеру штаммов, эндемичных для европейской части Российской Федерации.

Исследование водных объектов с использованием ОТ-ПЦР занимало всего несколько часов, в то время как колифаги определяли в течение 18–24 часов. Проводимые исследования показывают, что сброс в водоем недоочищенных сточных вод может привести к увеличению эпидемиологического риска населения при рекреационном водопользовании, а метод ОТ-ПЦР является экспрессным, чувствительным, надежным и более эффективным по сравнению с культуральным методом, что свидетельствует о необходимости внедрения его в практику санитарно-вирусологического контроля водных объектов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. **World Health Organization.** 2002. World Health Report 2002: reducing risks, promoting healthy life. World Health Organization, Geneva, Switzerland. [http://www.who.int/whr/2002/en/whr02\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf)
2. **World Health Organization.** 2004. Guidelines for drinking-water quality, 3rd ed., vol. 1, p. 121–144. World Health Organization, Geneva, Switzerland. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3/en/)
3. **Craun, G.F., R.L. Calderon, and M.F. Craun.** 2005. Outbreaks associated with recreational water in the United States. *Int. J. Environ. Health Res.* 15:243–262
4. **Koopmans, M.** 2005. Outbreaks of viral gastroenteritis: what's new in 2004? *Curr. Opin. Infect. Dis.* 18:295–299
5. **Poullis, D.A., R.W. Attwell, and S.C. Powell.** 2005. The characterization of waterborne-disease outbreaks. *Rev. Environ. Health* 20:141–149

6. <http://epa.gov/305b/2000report/>

7. **Rose, J.B., P. R Epstein, E.K. Lipp, B.H. Sherman, et al.** 2001. Climate variability and change in the United States: potential impacts on water- and foodborne diseases caused by microbiologic agents. *Environ. Health Perspect.* 109 (Suppl. 2): 211–221

8. **Lipp, E.K., N. Schmidt, M. Luther, and J.B. Rose.** 2001. Determining the effects of El Nino-southern oscillation events on coastal water quality. *Estuaries* 24:491–497

9. **Dore, W.J., K. Henshilwood, and D.N. Lees.** 2000. Evaluation of F-specific RNA bacteriophage as a candidate human enteric virus indicator for bivalve molluscan shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1280–1285

10. **Abedon, S.T.** 1990. The ecology of bacteriophage T4. Ph.D. thesis. The University of Arizona, Tucson

11. **Chung, H., L.A. Jaykus, G. Lovelace, and M.D. Sobsey.** 1998. Bacteriophages and bacteria as indicators of enteric viruses in oysters and their harvest waters. *Water Sci. Technol.* 38:37–44

12. **Havelaar, A.H., M. van Olphen, and Y.C. Drost.** 1993. F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:2956–2962

13. **Nasser, A.M., Y. Tchorch, and B. Fattal.** 1993. Comparative survival of E. coli, F+ bacteriophages, HAV and poliovirus 1 in wastewater and ground-water. *Water Sci. Technol.* 27:401–407.

14. **Simkova, A, and J. Cervenka.** 1981. Coliphages as ecological indicators of enteroviruses in various water systems. *Bull. W. H. O.* 59:611–618.

15. **Stetler, R.E.** 1984. Coliphages as indicators of enteroviruses. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:668–670.

16. **Wentzel, R.S., P.E. O'Neil, and J.F. Kitchens.** 1982. Evaluation of coliphage detection as a rapid indicator of water quality. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:403–434.

### Problems of development of sanitary-virological control of water objects

*V.A. Dolgin, A.N. Sisin research institute  
of human ecology and environmental health,  
RAMS*

The article is devoted to the actual problems of sanitary- virological control of water objects. Special attention is paid to virus contamination indicators and also to express and specific methods of their detection