

ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК: 628.3(477):578.835.11

ЕНТЕРОВІРУСИ В ПОБУТОВИХ СТИЧНИХ ВОДАХ
м. КИЄВА

Понятовський Вадим Анатолійович,
vadpon@yandex.ru

Понятовський В. А.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Резюме. У роботі наведено дані про результати вірусологічного дослідження проб стічної води м. Києва за 2010–2011 рр. Встановлено рівень забруднення стічної води ентеровірусами (частота виділення вірусів становить 36,5%). Проведено порівняльний аналіз ізоляції ентеровірусів з об'єктів зовнішнього середовища та із клінічного матеріалу.

Ключові слова: ентеровірусні інфекції, очисні споруди, поширення.

Вступ. В останні роки інтерес до ентеровірусів почав різко зростати. Це насамперед пов'язано з тим, що стала набагато ясніша їхня роль у формуванні соматичної патології, яка в ряді випадків призводить до смерті хворого або його інвалідизації. Так, відомо, що представники роду ентеровірусів здатні викликати такі захворювання, як паралітичний поліомієліт, серозний менінгіт, полірадикулонейропатія, геморагічний кон'юнктивіт, ящуруподібний синдром, цукровий діабет, гепатити, вродженні вади розвитку, поліорганне ураження новонароджених та ін. [3, 5]. Важливим на сьогодні залишається також питання кардіотропності окремих представників вірусів Коксакі [1]. З'являється все більше публікацій щодо ролі нещодавно відкритих серотипів 75, 77, 78, 94, 104, 109 ентеровірусів в епідемічному процесі.

21 червня 2002 року Європейський регіон ВООЗ було сертифіковано як територію, вільну від циркуляції “дикого” поліовірусу та пов'язаних з ним випадків паралітичного поліомієліту. Незважаючи на ці успіхи, на шляху глобальної ліквідації поліомієліту у світі залишається, та навіть накопичується, велика кількість проблем, пов'язаних як із поліовірусною інфекцією, так із іншими ентеровірусами, для яких звільнилася екологічна ніша, що призводить до активації епідеміологічного процесу. За таких обставин складаються сприятливі умови для еволюції ентеровірусів, що мали раніше менше значення у виникненні патології людини, у бік набуття ними вірулентних властивостей зі здатністю викликати нові клінічні форми захворювання.

Щорічно в Україні використовується біля 2 млн. доз поліомієлітної вакцини, в одній вакцині міститься 1,5 млн. вірусних часток [4]. Це сприяє масивній контамінації стічних вод вакцинними поліовірусами, а при неефективності роботи очисних споруд, води відкритих водойм та питної води. Дискусійним залишається питання про можливість посилення вірулентності вакцинних штамів поліовірусів під час їх репродукції. Опосередкованим підтвердженням цього є щорічна рестрація вакциноасоційованого паралітичного поліомієліту.

Згідно з даними ВООЗ охоплення плановою імунізацією в Україні в останні роки було недостатнім, і на сьогоднішній день залишається на недопустимо низькому рівні. Так, починаючи з 2007 року рівень імунізації впав з 98 до 58 %, при мінімальному порозі 95 %. Кількість не вакцинованих дітей наближається до величини цілої когорти дітей, що народилися протягом року, і є надто великим, щоб дозволити легко циркулювати завозним “диким” поліовірусам або вакциноспорідненим поліовірусам, що може представляти загрозу не тільки для регіональної програми, але і для глобальної ініціативи ліквідації поліомієліту [6].

Все вище перераховане визначає необхідність вивчення рівня ентеровірусного забруднення стічних вод, необхідність проведення постійного моніторингу циркуляції поліовірусів як серед населення, так і в об'єктах зовнішнього середовища, а також здійснення вірусологічного нагляду за ентеровірусами в цілому.

Мета. Встановлення рівня ентеровірусної контамінації стічних вод м. Києва та вивчення спектру ентеровірусів, що були виділені.

Матеріали та методи. Проби із загального потоку стічних вод відбирали у стерильний скляний посуд об'ємом 0,5 л, 2 рази на місяць. Місцями відбору слугували очисні споруди Бортицької станції аерації до та після очистки (відбір при надходженні стічних вод на очистку, після механічної очистки – з первинних відстійників та на виході – із зливного каналу). В період з червня 2010 року по червень 2011 року було відібрано та досліджено 63 проби стічної води. Зразки концентрували за допомогою природного глинистого матеріалу бентоніту, який переведений в дрібнодисперсну гелеву форму [8].

Виявлення ЦПА проводили на перещеплюваних клітинних культурах RD (клітини рабдоміосаркоми людини) та HEp-2 (клітини епідермальної карциноми людини). В клітинах HEp-2 зазвичай добре розмножуються віруси Коксакі В та вірус поліомієліту. Клітини RD чутливі до поліовірусу, більшості ЕСНО вірусів та деяких штамів Коксакі А. Оцінку цитопатогенної дії проводили за системою 4+ під інвертованим мікроскопом, порівнюючи з контролем клітин. Щомісяця проводили по 2 вірусологічні аналізи проб стічної води.

Клітини вирощувалися в пластикових матрацах із ростовою площею 25 та 75 см². В якості середовища для культивування використовувалося 199 середовище з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки та антибіотиків (150 од/мл пеніциліну та 100 од/мл стрептоміцину або лінкоміцину). Культивування та постановку реакції віруснейтралізації проводили за загальноприйнятою методикою [7].

Результати та обговорення. Експериментальні дослідження дали змогу встановити, що 23 зразка із 63 містили вірусні інфекційні агенти (частота виділення 36,5 %), які проявляли цитопатичну дію за типом повної деструкції моношару культури клітин. ЦПД найчастіше розпочиналась через 24–48 годин після внесення досліджуваного матеріалу, супроводжувалась подвійним світлозаломленням цитоплазми клітин, появою зернистості з подальшою круглоклітинною дегенерацією моношару, рідше цитодеструктивний ефект розпочинався після 48 годин.

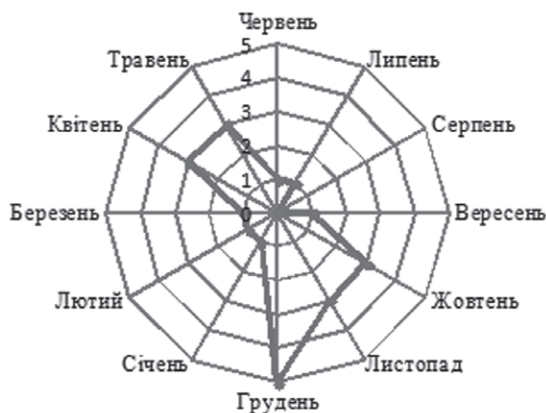


Рис. 1. Сезонність виділення вірусних інфекційних агентів із стічних вод м. Києва (2010–2011 рр.)

Частота виділення та вміст інфекційних вірусних агентів підлягають певним коливанням. Відмічені варіації в числі позитивних проб по окремим місяцям. Найчастіше ЦПА виділялися із проб, що були відібрані в осінній період (рис. 1), максимальна частота ізоляції припадає на період з жовтня по грудень, з максимумом виділення у грудні місяці. Також збільшення частоти виділення спостерігалось у весняні місяці (квітень-травень). Дана тенденція відповідає загальним закономірностям циркуляції ентеровірусів в об'єктах зовнішнього середовища.

Титр ентеровірусів (їх концентрація) у міських стічних водах коливається у значних межах, і залежить від етапу очистки та пори року. Максимальна концентрація вірусних агентів у пробах стічної води спостерігалась в осінній період та сягала від 1125 до 3000 БУО/л. Виявлена закономірність підвищення вмісту ентеровірусів у вказаний період підтверджує висновок багатьох авторів про епідемічну небезпечність стічних вод саме в цей час.

Наступним етапом досліджень було вивчення природи виявлених агентів, які викликали ЦПД моношару культур клітин. При проведенні санітарно-вірусологічного дослідження міських стічних вод вдалося ізолювати та закріпити в наступних пасажах 23 штами ентеровірусів. Всі вони були піддані серологічній ідентифікації в реакції віруснейтралізації. Вдалося протипувати 17 виділених штамів, 6 штамів не нейтралізувалися набором використаних діагностичних сироваток, та були віднесені до групи не типованих ентеровірусів (рис. 2). Привертає увагу великий відсоток нерозшифрованих цитопатогених агентів, що можна пояснити як наявністю одночасно двох та більше серотипів ентеровірусів в одній пробі стічної води, так і появою нових антигенних варіантів ентеровірусів чи рекомбінантних вірусів, які не нейтралізувалися набором використаних нами діагностичних імунних сироваток.

Всі ідентифіковані ентеровіруси були віднесені до 9 серотипів. Як показано на рис. 2, найбільш численну групу склали віруси Коксакі В (8 штамів), на другому місці віруси ЕСНО (7 штамів) та не типовані ентеровіруси (6 штамів), на третьому – поліовіруси (2 штами).

Звертає на себе увагу той факт, що обидва штами поліовірусу були виділені у весняний період, що найбільш ймовірно зумовлено проведенням планових

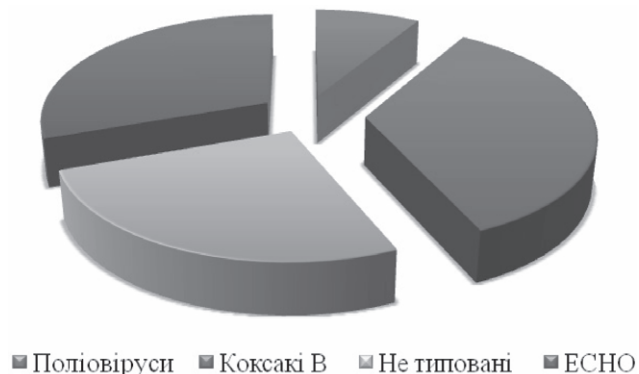


Рис. 2. Питома вага різних серогруп ентеровірусів, виділених із стічних вод м. Києва (2010–2011 рр.)

щеплень оральною поліомієлітною вакциною. Усі штами поліовірусу за результатами внутрішньотипової диференціації (вивчення властивостей виділених штамів за генетичними маркерами) було віднесено до вакцинних.

Реєстрація значної кількості різних серотипів вірусів Коксакі В та ЕСНО в осінній період з піком виділення у грудні місяці, та у весняний з піком у квітні–травні свідчить про інтенсивну циркуляцію цих вірусів серед населення у вказані періоди. Відповідно у міських стічних водах циркулюють різні види ентеровірусів, що періодично змінюють один одного.

Із 8 виділених вірусів Коксакі В (рис. 3) більше за все було Коксакі В 5 (4 штами). На другому місці Коксакі В 4 (2 штами). На третьому В 1 (1 штама) та В 6 (1 штама).

На рис. 4 показанні дані серотипування ізолюваних ЕСНО вірусів. Наведенні результати показують, що серед виділених інфекційних агентів превалювали серотипи ЕСНО 3 (4 штами). Також виділялися ЕСНО 5 (1 штама), ЕСНО 7 (1 штама), ЕСНО 11 (1 штама).

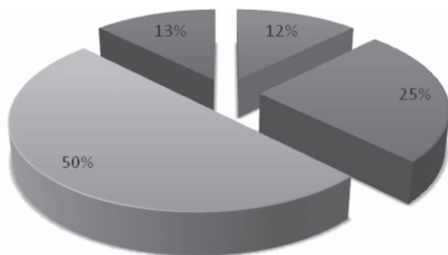
Ці дані були співставленні із звітними даними Центральної СЕС МОЗ України щодо виділення ентеровірусів із клінічного матеріалу та проб стічної води в Україні за 2010–2011 роки (рис. 5). Протягом даного періоду на наявність ентеровірусів вірусологічними лабораторіями України було обстежено 7527 осіб з гострими кишковими інфекціями та нейроінфекціями (в тому числі з серозними менінгітами). Всього вдалося виділити 56 штамів ентеровірусів. На думку експертів ВООЗ, частота виділення неполіомієлітних ентеровірусів із клінічного матеріалу повинна складати близько 10% в залежності від клімато-

географічних та соціально-економічних умов. Середня ж частота виділення вірусів цієї групи від людей в Україні становила 0,74%. Ця величина є загалом досить низькою і свідчить про недостатню ефективність роботи вірусологічних лабораторій, та потребу впровадження в роботу практичних лабораторій сучасних молекулярних методів дослідження, що надасть можливість проводити об'єктивнішу оцінку поширення ентеровірусів, та встановлювати їх роль в тій чи іншій патології.

Серед усіх штамів ентеровірусів, виділених від хворих в Україні протягом 2010–2011 років найбільшу частку склали віруси групи Коксакі В (30%), на другому місці були віруси ЕСНО (27%), поліовіруси (14%) та ЦПА, які не вдалося типувати за допомогою діагностичних ентеровірусних сироваток (29%).

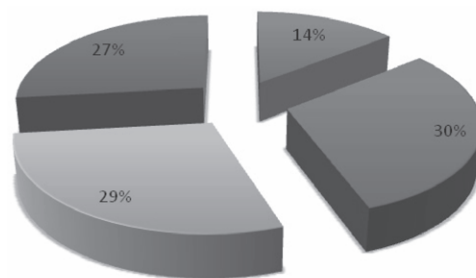
За даний період вірусологічними лабораторіями в Україні також було досліджено 9772 проб стічної води. Середня частота виділення ентеровірусів із стічних вод склала 1,66%. За період з 2010 по 2011 рр. було ізолювано 165 штамів ентеровірусів (рис. 6). З 0,36% проб стічної води було виділено віруси поліомієліту, в 0,73% випадків вдалося виявити віруси Коксакі В. В дещо меншій кількості виділялися ЕСНО віруси (0,55%), та ЦПА (0,05%), які не вдалося типувати.

Опираючись на наведенні дані (рис. 2, 5, 6), можна стверджувати, що загальна тенденція по якісному складу виділених ентеровірусів від хворих з підозрою на ентеровірусну інфекцію та із зовнішнього середовища (стічні води) співпадає. Найбільша питома вага ентеровірусів як серед хворих, так і у зовнішньому середовищі, припадає на віруси групи Коксакі В (35% із стічних вод



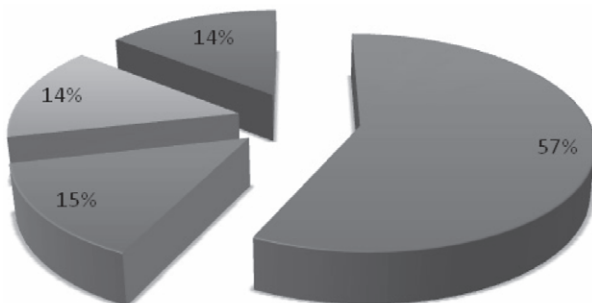
■ Коксакі В 1 ■ Коксакі В 4 ■ Коксакі В 5 ■ Коксакі В 6

Рис. 3. Питома вага різних серогруп вірусів Коксакі В, виділених із стічних вод м. Києва у 2010–2011 рр.



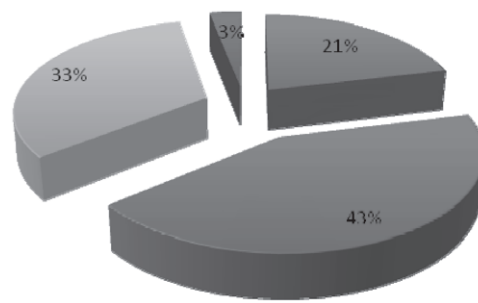
■ Поліовіруси ■ Коксакі В ■ Не типовані ■ ЕСНО

Рис. 5. Питома вага різних серогруп ентеровірусів, виділених із клінічного матеріалу на території України у 2010–2011 рр.



■ ЕСНО 3 ■ ЕСНО 5 ■ ЕСНО 7 ■ ЕСНО 11

Рис. 4. Питома вага різних серогруп вірусів ЕСНО, виділених із стічних вод м. Києва у 2010–2011 рр.



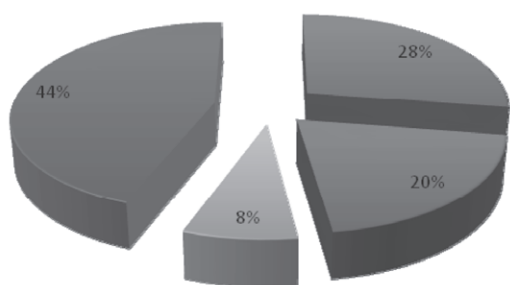
■ Поліовіруси ■ Коксакі В ■ ЕСНО ■ Не типовані

Рис. 6. Питома вага різних серогруп ентеровірусів, виділених проб стічної води на території України у 2010–2011 рр.

м. Києва, 44 % стічні води України та 30 % із клінічного матеріалу). Деяко меншу частину займають ентеровіруси групи ЕСНО (30 % із стічних вод м. Києва, 33% стічні води України та 27 % із клінічного матеріалу) та поліовіруси (9 % із стічних вод м. Києва, 22 % стічні води України та 14 % із клінічного матеріалу). Велику частку складають не типовані ЦПА (26 % із стічних вод м. Києва, 2% стічні води України та 29 % із клінічного матеріалу).

Таким чином, загальні закономірності щодо виділення вірусних агентів від хворих із підозрою на ентеровірусну природу захворювання співпадали з такими ж показниками у зовнішньому середовищі.

Порівнювали також отримані результати з даними В.М. Гиріна, що проводив дослідження Боргницької станції аерації у 70–80-ті роки (рис. 7). Відбулися суттєві зміни щодо інтенсивності циркуляції ентеровірусів на території міста Києва (зниження частоти виділення



■ Поліовірус ■ Коксакі ■ Не типовані ■ ЕСНО

Рис. 7. Видовий склад ентеровірусів, виділених із стічних вод м. Києва в 1975–1980 рр. (за В.М. Гиріним)

інфекційних агентів з 79,2 % до 36,5 %), та деякий перерозподіл питомої ваги ентеровірусних представників серед ізолятів. Найчастіше В.М. Гиріну вдалося ізолювати із проб стічної води ЕСНО віруси (44,4%). В меншій мірі віруси поліомієліту (27,5 %) та Коксакі віруси (20,4 %). Із вірусів Коксакі частіше за все вдалося виділити серотипи В 4 та В 1, із вірусів ЕСНО домінували штами 24, 10, 11 та 12 серотипів [2].

Зниження частоти виділення ентеровірусів із стічних вод та зміну їхнього спектру можна пояснити ліквідацією та припиненням циркуляції “дикого” поліовірусу на тери-

торії України, відповідно звільненням його екологічної ніші, а також інгібуючою дією різноманітних речовин, що входять до складу побутової хімії, об’єм та спектр якої з кожним роком все збільшується. Потрапляючи у стічні води, вони впливають на життєздатність віріонів.

Висновки:

1. Встановлена поширеність ентеровірусів в стічних водах м. Києва протягом 2010–2011 рр. Частота виділення даних вірусів складає 36,5 %.

2. Висока частота ізоляції ентеровірусів із проб стічної води може свідчити про інтенсивну циркуляцію ентеровірусів серед населення, що вказує на необхідність удосконалення епідеміологічного нагляду за даними інфекціями, впровадження більш чутливих та доступних для застосування у практичних лабораторіях методів їх виявлення.

3. Виділені ентеровіруси із проб стічної води м. Києва належать до різних серологічних груп. Виявлена інтенсивна циркуляція Коксакі В вірусів, особливо серотипів 5, 4 та ЕСНО вірусів переважно 3 типу.

Рецензент: д.мед. н., професор Колеснікова І.П.

ЛІТЕРАТУРА

1. Dunn J. J. Genomic Determinants of Cardiovirulence in Coxsackievirus B3 Clinical Isolates: Localization to the 5r Nontranslated Region / James J. Dunn, Nora M. Chapman, Steven Tracy and Josefe R. Romero // *Journal of Virology*. – 2000. – Vol. 74. – No. 10. – p. 4787–4794.
2. Гирин В.Н. Энтеровирусы в сточных водах и научное обоснование способов деконтаминации / Гирин Виталий Николаевич // *дис. доктора медицинских наук.* – К., 1982 – с. 303.
3. Гирин В.В. Роль вірусів Коксакі В у патогенезі цукрового діабету 1-го типу / Гирин В.В. // *Український медичний часопис: Наук.-прак. Загально медичний журн. КМАПО ім. П.Л. Шупика МОЗ України.* – Київ. – 2009. – №2. – с. 104-106.
4. Доан С. І. Порівняльна характеристика виділення ентеровірусів із води різного виду в Україні / Доан С. І., Задорожна В.І., Бондаренко В.І., Зубкова Н.Л., Бура Т.О. // *Довкілля та здоров'я.* – 2007. – №4. – с. 38-40.
5. Задорожна В.І. Энтеровирусы у виникненні гепатитів / В.І. Задорожна, В.І. Бондаренко // *Лабораторна діагностика.* – 2001. – №2. – с. 14-15.
6. Отчет о 26-м совещании Европейской региональной комиссии по сертификации ликвидации полиомиелита / Копенгаген, Дания 18-20 июня 2012 г.
7. Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита / 4-е изд. ВОЗ, Женева, 2005, с. 112
8. Ширококов В.П. Применение бентонита для выявления энтеровирусов у человека и во внешней среде / В.П. Ширококов, В.Н. Гирин, А.И. Якименко и др. // *Метод. рек.* – К., 1986. – 24 с.

ЕНТЕРОВИРУСЫ В БЫТОВЫХ СТОЧНЫХ ВОДАХ г. КИЕВА

Понятовский В.А.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Резюме. В работе приведены данные о результатах вирусологического исследования проб сточной воды г. Киева за 2010–2011 г. Установлен уровень загрязнения сточной воды энтеровирусами (частота выделения вирусов составляет 36,5%). Проведен сравнительный анализ выделения энтеровирусов из объектов внешней среды и из клинического материала.

Ключевые слова: энтеровирусные инфекции, очистные сооружения, распространение.

DETECTION OF ENTEROVIRUSES IN WASTEWATER IN KYIV

V.A. Ponyatovsky

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Summary. The results of virological studies of samples of waste water, which were conducted in Kyiv in the period from 2010 to 2011 are presented in this article. The level of contamination of waste water with enteroviruses is 36.5%. The comparative analysis of excretion of enteroviruses from the environmental objects and clinical studies was installed.

Key words: enterovirus infection, treatment plants, distribution.