

Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ПОЛИОВИРУСОВ, ВИРУСА ГЕПАТИТА А И ИХ РНК К ВОЗДЕЙСТВИЮ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва

**Введение.** Представлены результаты экспериментальных исследований по сравнительной оценке воздействия различных доз УФО на выживаемость полиовирусов I типа LSc2ab, фагов MS-2, вирусов гепатита А и их РНК в водопроводной воде.

**Материал и методы.** В модельные водоёмы с дехлорированной московской водопроводной водой были внесены вирусы полиомиелита I типа штамм LSc2ab (PV), вирусы гепатита А штамм HAS-15 (HAV), фаги MS-2, свободные РНК, изолированные из вирусов гепатита и полиомиелита. Из каждой ёмкости отбирали пробы воды и подвергали ультрафиолетовому облучению (УФО) с длиной волны 254 нм дозами 25; 40; 60; 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup>. Титрование PV производили на перевиваемой линии клеток почек обезьян BGM; фаги MS-2 определяли методом агаровых слоёв с использованием детекторной *E. coli* K12F+Str.; определение РНК PV и HAV проводили на амплификаторе Rotor Gene<sup>TM</sup> 6000 в реакции ОТ-ПЦР real-time с использованием соответствующих тест-систем. Экстракцию и выделение РНК из образцов PV и HAV также проводили с использованием комплектов реагентов отечественного и зарубежного производства.

**Результаты.** Было показано, что УФО в дозах от 25 до 100 мДж/см<sup>2</sup> оказывало выраженное угнетающее действие на фаги MS-2 и PV, определяемые традиционными методами в соответствии с МУК 4.2.1018-01 и МУК 4.2.2029-05. При дозах УФО 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup> отмечена полная инактивация фагов MS-2 и PV в воде. Одновременно эти же дозы УФО оказывали менее угнетающее действие на РНК PV, HAV, а также на изолированные свободные РНК<sup>ex</sup> PV и HAV, которые были более устойчивы и продолжали определяться в ОТ-ПЦР в воде при всех дозах УФО, включая 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup> (табл. 1).

**Выводы.** В случае обнаружения в обработанной питьевой воде только РНК вирусов и отсутствия других прямых или косвенных показателей вирусного загрязнения невозможно однозначно судить о степени потенциальной эпидемической опасности водного объекта. Это требует разработки надёжных дополнительных тестов, подтверждающих инфекционность вирусов, определяемых только по маркерам РНК или ДНК.

**Ключевые слова:** вирусы; колифаги; индикаторы вирусного загрязнения; полимеразная цепная реакция; эпидемическая опасность; инфекционность; ультрафиолетовое облучение; эффективность обеззараживания; сравнительная устойчивость.

**Для цитирования:** Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А. Сравнительная устойчивость полиовирусов, вируса гепатита А и их РНК к воздействию ультрафиолетового облучения. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(11): 1240-1244. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1240-1244>

**Для корреспонденции:** Недачин Александр Евгеньевич, кандидат мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории санитарной вирусологии ФГБУ «Центр стратегического планирования» Минздрава России, 119121, Москва. E-mail: [microblab@list.ru](mailto:microblab@list.ru)

**Финансирование.** Представленные материалы исследований выполнены в соответствии с государственным заданием по теме: «Гармонизация нормативов, методов контроля и оценки факторов среды обитания человека (вода, почва, атмосферный воздух) с международными требованиями».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Долгин В.А.; сбор и обработка материала – Недачин А.Е., Долгин В.А., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В.; статистическая обработка – Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А.; написание текста – Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А.; редактирование – Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А.

Поступила 06.03.2019

Принята к печати 17.09.19

Опубликована: ноябрь 2019

Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A.

### COMPARATIVE STABILITY OF POLIOVIRUS, HEPATITIS A VIRUS AND THEIR RNA TO THE IMPACT OF ULTRAVIOLET RADIATION.

Center for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, 119121, Russian Federation

**Introduction.** The results of experimental studies on the comparative assessment of the effects of various doses of UV radiation on the survival of poliovirus type I LSc2ab, phage MS-2, hepatitis A viruses and their RNA in tap water are presented.

**Material and methods.** Poliomyelitis viruses of type I strain LSc2ab (PV), viruses of hepatitis A, strain HAS-15 (HAV), phages MS-2, free RNA isolated from hepatitis viruses and poliomyelitis were introduced into model reservoirs with dechlorinated Moscow tap water. Water samples were taken from each tank and subjected to ultraviolet irradiation (UVR) with a wavelength of 254 nm with doses of 25, 40, 60, 80 and 100 mJ/cm<sup>2</sup>. PV titration was performed on a BGM monkey kidney cell transplant line; MS-2 phages were determined by the agar layer method using the *E. coli* K12F + Str. detector; determination of PV RNA and HAV was carried out on the Rotor Gene<sup>TM</sup> 6000 amplifier in RT-PCR reaction in real-time using appropriate test systems. Extraction and isolation of RNA from samples of PV and HAV were also performed using reagent kits of domestic and foreign production.

**Results.** Ultraviolet irradiation in doses from 25 to 100 mJ/cm<sup>2</sup> was shown to have a pronounced inhibitory effect on phages MS-2 and PV, determined by traditional methods in accordance with the methodological guidelines MUK 4.2.1018-01 and MUK 4.2.2029-05. At UVR doses of 80 and 100 mJ/cm<sup>2</sup>, complete inactivation of MS-2 and PV phages in water was noted. At the same time, these same doses of UVR had a less inhibitory effect on PVA, HAV RNA, as well as on isolated free PVA RNA/X and HAV, which were more stable and continued to be determined by RT-PCR in water at all doses of UVR, including 80 and 100 mJ/cm<sup>2</sup>.

**Conclusion.** *If only RNA viruses are detected in the treated drinking water and there are no other direct or indirect indices of viral contamination, it is impossible to unambiguously judge the extent of the potential epidemic hazard of the water body. This requires the development of reliable additional tests confirming the infectivity of viruses, determined only by RNA or DNA markers.*

**Key words:** *viruses; coliphages; indices of viral contamination; polymerase chain reaction; epidemic danger; infectivity; ultraviolet radiation; disinfection efficiency; comparative resistance.*

**For citation:** Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A. Comparative stability of poliovirus, hepatitis a virus and their RNA to the impact of ultraviolet radiation. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(11): 1240-1244. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1240-1244>

**For correspondence:** Aleksandr E. Nedachin, MD, Ph.D., DSci., professor, leading researcher of the Laboratory of sanitary virology of the Center for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: [microblab@list.ru](mailto:microblab@list.ru)

**Information about authors:** Nedachin A.E., <http://orcid.org/0000-0001-6544-2959>;  
Dmitrieva R.A., <http://orcid.org/0000-0002-4408-9831>; Doskina T.V., <http://orcid.org/0000-0002-3613-4305>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The presented research materials were carried out in accordance with the state task on the topic: "Harmonization of standards, methods of control and assessment of human-environment factors (water, soil, atmospheric air) according to international requirements

**Contribution:** the concept and design of the research – Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Dolgin V.A.; collection and processing of material – Nedachin A.E., Dolgin V.A., Dmitrieva R.A.; statistical processing – Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A.; writing the text – Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A.; editing – Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A.; approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Received: March 03, 2019

Accepted: September 17, 2019

Published: November 2019

## Введение

Проблема вирусного загрязнения водных объектов окружающей среды (ООС) и его контроля является остроактуальной не только в Российской Федерации, но и за рубежом. Санитарно-вирусологический контроль водоисточников и питьевой воды осуществляется непосредственно по прямому определению вирусов, а также по косвенным показателям вирусного загрязнения – колифагам [1–3].

Однако в последние годы исследователями всё шире используются вирусные маркеры – РНК и ДНК вирусов, определяемые в реакции ОТ-ПЦР, как для мониторинга вирусного загрязнения водных объектов, так и при расшифровке вспышек заболеваний, связанных с употреблением недоброкачественной воды или пищевых продуктов, неблагоприятных в эпидемическом отношении [4–6].

Методика определения маркеров вирусов в реакции ОТ-ПЦР характеризуется высокой чувствительностью, специфичностью и экспрессностью, а также даёт возможность их количественного определения [МУК 2005]. Внедрение методики ПЦР в режиме реального времени позволяет значительно ускорить определение генетических маркеров вирусов в воде, что наконец позволит устранить один из важных недостатков традиционного культурального санитарно-вирусологического исследования – ретроспективность получаемых результатов. Если для традиционного культурального вирусологического анализа требуется примерно три недели, а на выявление косвенных индикаторных показателей (колифагов) от 1 до 3 сут (метод прямой и подрачивание), то при использовании ПЦР in real time результаты могут быть получены в течение нескольких часов. Оптимизация санитарно-вирусологического контроля водных объектов с применением метода ПЦР диктует необходимость изучения возможностей его использования в различных аспектах гигиены водоснабжения и в первую очередь – для быстрого принятия противозидемических и конструктивных технологических.

Вирусологический анализ методом ПЦР безоговорочно используется в клинической диагностике, однако результаты ПЦР, получаемые при санитарно-вирусологическом контроле объектов окружающей среды, не могут оцениваться однозначно. В настоящее время нет единого подхода в трактовке значимости обнаруженной вирусной РНК или ДНК, что крайне необходимо при оценке эпидемической опасности исследуемого объекта, например, питьевой воды. В сущности, обнаружение РНК вируса в воде может свидетельствовать либо о её контаминации живыми инфекционными вирусами, что представляет реальную эпидемическую опасность, либо инактивированными вирусами после обеззараживания, что не представляет опасности, либо свободной РНК или ДНК, изолированной из вирусной частицы на момент её гибели и поэтому также не представляющей эпидемической опасности. Возникает вопрос о необходимости

теста, который бы свидетельствовал – инфекционен ли вирус, РНК которого определена, или нет. С этой целью Mohammad R. Karim и соавт. [7, 8] предложили использовать пропидиум моноазида (РМА) в ОТ-ПЦР, с помощью которого была проведена дифференциальная селективная диагностика инфекционного и неинфекционного мышинового норовируса (MNV-1) после инактивации его хлором. Однако, по данным авторов [7, 8], ОТ-ПЦР с РМА не была способна дифференцировать инфекционные вирусы Норволк от инактивированных после каких-либо других видов обработки. Так, ОТ-ПЦР с РМА не позволяет провести различие между инфекционными и инактивированными вирусами после обработки их ультрафиолетом, что даёт основание полагать, что повреждение вирусного капсида может быть необходимым условием для проникновения РМА и связывания с вирусным геномом. Также, по мнению авторов, это позволяет предположить, что ОТ-ПЦР с РМА может быть использована для обнаружения интактных, потенциально инфекционных вирусов MNV-1, Норволк и для исключения обнаружения свободной вирусной РНК [9].

Кроме того, различные вирусологические показатели и маркеры вирусного загрязнения могут различаться по устойчивости и длительности выживаемости при воздействии физических, химических неблагоприятных факторов окружающей среды в процессе их циркуляции, а также при влиянии обеззараживающего воздействия в условиях водоподготовки, что чрезвычайно важно для оценки их индикаторной значимости и возможности их использования при прогнозировании эпидемической ситуации. Это диктует необходимость изучения их сравнительной устойчивости, длительности выживаемости, надёжности и приоритетности как показателей вирусного загрязнения в условиях современных методов обработки воды.

В связи с этим были проведены исследования, целью которых являлось изучение сравнительной устойчивости, выживаемости и динамики инактивации следующих показателей: колифагов – в качестве косвенных индикаторов вирусного загрязнения [10], полиовируса (PV), вируса гепатита А (ВГА) и их РНК в условиях воздействия УФО в питьевой воде.

## Материал и методы

Исследования проводили в экспериментальных условиях в искусственных ёмкостях с использованием московской дехлорированной водопроводной воды. В качестве модельных объектов использовались: РНК-содержащий фаг MS-2; вирус полиомиелита I типа (штамм LSc 2ab); вирус гепатита А (ВГА – штамм HAS-15); изолированные свободные РНК данных вирусов. Определение РНК вирусов проводили на амплификаторе Rotor Gene™ 6000 в реакции ОТ-ПЦР real-time с использованием тест-систем производства ООО «АмплиСенс». Выделение РНК вирусов проводили с использованием комплекта тест-системы

Динамика инактивации вирусов полиомиелита (РМ) и гепатита А (ВГА), их РНК и фага MS-2 под действием различных доз УФО ( $p < 0,005$ )

Доза УФО, мДж/см <sup>2</sup>	Фаги MS-2, БОЕ/мл	PV (ТЦД <sub>50</sub> /мл) на культуре BGM	ОТ-ПЦР коп/мл			
			PV (РНК)	PV (РНК <sup>/х</sup> )	HAV (РНК)	HAV (РНК <sup>/х</sup> )
Контроль	2,4 ± 0,27 · 10 <sup>3</sup>	2,9 ± 0,23 · 10 <sup>5</sup>	5 000 000	40 000	31 660	1500
25	7,36 ± 0,12 · 10 <sup>2</sup>	4,4 ± 0,22 · 10 <sup>2</sup>	3 000 000	30 000	31 620	1500
40	1,2 ± 0,25 · 10 <sup>2</sup>	0 (+++)	1 500 000	25 000	31 550	1300
60	4	0 (++)	500 000	13 000	25 000	1300
80	0	0 (---)	300 000	12 000	22 000	1200
100	0	0 (---)	50 000	12 000	18 000	500

Примечание. /<sup>х</sup> – изолированные свободные РНК.

«Рибо-Сорб»; для определения РНК живых вирусов полиомиелита и гепатита, а также изолированных свободных РНК данных вирусов использовали комплекты тест-систем Enterovirus-FL, вариант FRT 50 R и реагент для амплификации КДНК энтеровирусов «Риверта-Л» № КЗ-4-50 и комплект HAV-FL, вариант FRT 50 F, ПЦР «АмплиСенс». Экстракцию и выделение РНК из образцов полиовируса и ВГА проводили с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» и «МАГНО-сорб» вариант 100–1000 производства ООО «АмплиСенс». Культуральное определение вируса полиомиелита, его титрование и последующее пассирование проводили на перевиваемой линии клеток почечной зелёной маргаритки BGM в соответствии с МУК 4.2.2029-05. Определение фагов проводили в соответствии с МУК 4.2.1018-01. В качестве детекторной кишечной палочки использовали *E. coli* K12 F+. Ввиду того, что в настоящее время на действующих станциях обеззараживания воды в США, Канаде, Великобритании, Франции, РФ и пр. эффективная доза УФ-излучения выбирается в интервале от 50 до 100 мДж/см<sup>2</sup> [11], облучение модельных водоёмов в опыте проводили УФО с длиной волны 254 нм в диапазоне доз от 25 до 100 мДж/см<sup>2</sup>.

Методика проведения исследований заключалась в следующем. В ёмкости с дехлорированной водопроводной водой вносили: в 1-ю – вирусы полиомиелита (PV), вирусы гепатита А и фаги MS-2; во 2-ю – свободную изолированную РНК полиовируса и в 3-ю – свободную изолированную РНК ВГА. Из каждой ёмкости отбирали исходные (контрольные) аликваты, а последующие объёмы подвергали облучению различными дозами УФО (25; 40; 60; 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup>). Обработку результатов производили с использованием коэффициента *t* Стьюдента.

## Результаты

Результаты исследований представлены в табл. 1.

Как видно из материалов таблицы, в условиях данного опыта отмечено угнетающее действие всех используемых доз УФО на изучаемые показатели. Наиболее интенсивная инактивация отмечалась у показателей, определяемых традиционными культуральными методами, – у PV при заражении перевиваемых линий клеток BGM, а у фагов MS-2 – при выделении методом агаровых слоёв на детекторной *E. coli* K12F+. При этом показано, что эффект инактивирующего воздействия УФО увеличивался с ростом дозы облучения. Так, уже при облучении минимальной дозой УФО 25 мДж/см<sup>2</sup> наблюдалось снижение концентрации PV и фагов MS-2 на 3 и 1 Ig соответственно (см. табл. 1). При дозе УФО 40 мДж/см<sup>2</sup> фаги сохраняли концентрацию на уровне 1,2 ± 0,25 · 10<sup>2</sup> БОЕ/мл, в то время как полиовирусы уже не определялись при прямом заражении культуры BGM, а выявлялись только после 3-го пассажа.

При дозе УФО 60 мДж/см<sup>2</sup> концентрация фагов снизилась ещё больше – до 4 БОЕ/мл, а вирусы РМ также ещё определялись, но тоже только в пассажах. И только уже после воздействия дозы УФО 80 мДж/см<sup>2</sup> была отмечена полная инактивация как фагов MS-2, так и PV (см. табл. 1).

Что же касается РНК вирусов полиомиелита и гепатита А, а также изолированных свободных РНК данных вирусов, последние продолжали регистрироваться в воде как до, так и после

полной инактивации фагов и вирусов, определяемых традиционными культуральными методами (МУК 4.2.1018-01 и МУК 4.2.2029-05). Так, когда при дозах УФО 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup> фаги MS-2 уже не определялись в агаре на газоне *E. coli* K12F+, а PV уже не выявлялись на культуре BGM даже в пассажах, РНК вирусов полиомиелита и гепатита А, а также изолированные свободные РНК данных вирусов продолжали ещё определяться в ОТ-ПЦР при этих дозах УФО, не намного снижаясь в титре (см. табл. 1). Это свидетельствует о более высокой устойчивости РНК вирусов к воздействию УФО по сравнению с PV и фагами MS-2. Вероятно, это объясняется ещё и тем, что метод ОТ-ПЦР является более чувствительным по сравнению с традиционным методом индикации единичных вирионов PV на клеточных культурах BGM по ЦТД<sub>50</sub>/мл, что согласуется с данными [12].

## Обсуждение

В условиях данного опыта было показано, что в результате более высокой устойчивости РНК вирусов и изолированных свободных РНК к воздействию УФО, а также высокой чувствительности метода ОТ-ПЦР последние способны более длительно определяться методом ПЦР в процессе их циркуляции в воде по сравнению с PV и фагами MS-2, определяемыми менее чувствительными культуральными методами (см. табл. 1). Из этого следует, что при обнаружении в обработанной питьевой воде только РНК вирусов и при отсутствии других прямых или косвенных показателей вирусного загрязнения невозможно однозначно свидетельствовать о конкретном наличии потенциальной эпидемической опасности водного объекта.

Для такого заключения помимо обнаруженного в воде РНК вируса необходимо наличие дополнительных факторов, подтверждающих возможность вирусного загрязнения воды: наличия специфической санитарно-гигиенической обстановки, включая источник поступления вирусного загрязнения; присутствия в воде косвенных показателей вирусного загрязнения – колифагов [6, 13, 14], или же непосредственно прямого обнаружения инфекционных вирусов и пр. В случае же их отсутствия имеется настоятельная необходимость выполнения дополнительных тестов, подтверждающих инфекционную природу вирусов, РНК которых обнаружены [7, 8]. С этой целью нами были проведены дополнительные исследования отобранных экспериментальных образцов (пробы № 3, 4, 5, 6, см. табл. 1), подвергавшихся экспериментальному облучению дозами УФО 40; 60; 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup> и в которых не наблюдалось ТЦД<sub>50</sub>/мл при первичном заражении культуры BGM. Для этого пробы были дополнительно исследованы методом ОТ-ПЦР, интегрированного с клетками культуры ткани – ИКК-ПЦР [6]. При этом клетки культуры BGM, в которых проводили предварительное пассирование вирусосодержащих проб № 3, 4, 5, 6, облученных дозами УФО 40; 60; 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup>, предварительно подвергали трёхкратному замораживанию и оттаиванию в соответствии с данной методикой, после чего проводили исследование обработанного материала данных клеток и их культуральной жидкости на наличие РНК. Данная методика ИКК-ПЦР позволяет определять РНК живого вируса при условии размножения РНК в пробах [12]. Результаты исследова-

Таблица 2

Результаты ИКК-ПЦР в образцах пассажиров, не давших ТЦД<sub>50</sub>/мл на культуре клеток BGM после УФО

Доза УФО, мДж/см <sup>2</sup>	РНК PV в ОТ-ПЦР в пассажирах (коп/мл)		
	1	2	3
40	40 000	700	70 000
60	4000	40	0
80	1000	0	0
100	70	0	0

ний представлены в табл. 2. Данные свидетельствуют, что после облучения проб УФО дозой 40 мДж/см<sup>2</sup> размножение РНК полиовируса определялось после 1-го, 2-го и 3-го последовательных пассажиров, а при дозе УФО 60 мДж/см<sup>2</sup> – после 1-го и 2-го пассажиров, что свидетельствовало о жизнеспособности РНК пассажирского вируса при облучении клеток этими дозами УФО. Однако при повышении дозы УФО до 80 и 100 мДж/см<sup>2</sup> размножения РНК во 2-м и 3-м пассажирах уже не наблюдалось, что происходило, по-видимому, в результате увеличения инактивирующего действия и свидетельствовало об инактивации вируса (см. табл. 2).

Полученные данные согласуются с результатами пассирования вируса полиомиелита в культуре ткани BGM после облучения УФО 40–60 мДж/см<sup>2</sup> в 1-й серии опыта и также свидетельствуют об инактивирующем действии доз УФО при их увеличении до 80–100 мДж/см<sup>2</sup> в отношении PV и фагов MS-2 (см. табл. 1), что также подтверждают результаты методики ИКК-ПЦР.

## Заключение

Таким образом, данные свидетельствуют, что РНК вирусов, широко используемые в настоящее время как маркеры вирусов, обладает высокой устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов и, в частности, к УФО, и может более длительно определяться в обработанной воде по сравнению с традиционными показателями вирусного загрязнения – фагами, а также вирусами. В случае обнаружения в обработанной питьевой воде только маркеров вирусов – РНК и отсутствия других прямых или косвенных показателей вирусного загрязнения невозможно однозначно судить о степени потенциальной эпидемической опасности водного объекта. Это требует разработки надёжных дополнительных тестов, подтверждающих инфекционность вирусов, определяемых только по маркерам РНК или ДНК, и в частности усовершенствования и доработки тестов с применением пропицид моноазида [7, 8], использования методики ИКК-ПЦР, а также анализа дополнительных факторов, подтверждающих потенциальную эпидемическую опасность: наличия специфической санитарно-гигиенической обстановки, включающей поступление вирусного загрязнения, присутствия в воде косвенных показателей вирусного загрязнения – колифагов [6], или же непосредственно прямого обнаружения в воде инфекционных вирусов.

## Выводы

1. Результаты, полученные в условиях данного эксперимента, показали, что УФО в дозах от 25 до 100 мДж/см<sup>2</sup> оказывало различное по интенсивности угнетающее действие на фаги MS-2 и PV I типа LSc2ab в водопроводной воде. При этом отмечено, что эффект инактивирующего воздействия УФО увеличивался с ростом дозы облучения.

2. Показано, что наиболее эффективной дозой УФО в водопроводной воде в отношении вируса РМ и фагов MS-2, при которой наблюдалась их одновременно полная инактивация, является 80 мДж/см<sup>2</sup> при времени облучения 30 мин, что подтверждает наиболее оптимальную индикаторную значимость колифагов в отношении вирусного загрязнения.

3. РНК вирусов полиомиелита и гепатита А, а также изолированных свободных РНК данных вирусов продолжали

определяться методом ОТ-ПЦР в воде значительно дольше после полной инактивации фагов и вирусов полиомиелита, что, по-видимому, свидетельствует о большей устойчивости РНК по сравнению с вирусами РМ и фагами MS-2 к воздействию УФО.

4. Данные показали также, что метод определения РНК вирусов с использованием ОТ-ПЦР является более чувствительным и экспрессным по сравнению с традиционным методом индикации единичных инфекционных вирусов на клеточных культурах BGM по ТЦД<sub>50</sub>/мл, а также колифагов на детекторных штаммах *E. coli* методом агаровых слоёв.

5. В результате более высокой устойчивости РНК вирусов и изолированных свободных РНК к воздействию УФО, а также высокой чувствительности метода ОТ-ПЦР последние способны более длительно определяться в процессе их циркуляции в воде по сравнению с вирусами и фагами MS-2, определяемыми менее чувствительными культуральными методами.

6. При обнаружении в воде только РНК вируса и при отсутствии других прямых или косвенных показателей вирусного загрязнения невозможно однозначно свидетельствовать о конкретном наличии потенциальной эпидемической опасности водного объекта.

7. Для заключения об эпидемической опасности водного объекта помимо обнаруженного в воде РНК вируса необходимо наличие дополнительных факторов, подтверждающих возможность вирусного загрязнения воды: наличие специфической санитарно-гигиенической обстановки, источника поступления вирусного загрязнения, присутствие в воде косвенных показателей вирусного загрязнения – колифагов, непосредственно прямое обнаружение инфекционных вирусов или проведение дополнительных тестов – ИКК-ПЦР, подтверждающих рост количества новых копий РНК, что будет свидетельствовать об их жизнеспособности и инфекционности выделенного вируса, а также усовершенствование и использование теста с применением пропицид моноазида.

## Литература

(п.п. 3–9, 11, 13, 14 см. References)

- Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А. Показательное значение отдельных индикаторов и маркеров в отношении вирусного загрязнения воды. *Гигиена и санитария*. 2015; 6: 51–4.
- Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В., Долгин В.А. Показатели и маркеры вирусного загрязнения воды. *Материалы Пленума Научного совета РФ по экологии человека и гигиене окружающей среды «Комплексное воздействие факторов окружающей среды и образа жизни на здоровье населения: диагностика, коррекция, профилактика» 11–12 декабря 2014 г.* М.: 276–8.
- Недачин А.Е., Дмитриева Р.А., Доскина Т.В. Влияние химического загрязнения на соотношение индикаторных микроорганизмов и кишечных вирусов в воде поверхностных водоёмов. *Материалы Пленума Научного совета РФ по экологии человека и гигиене окружающей среды, 17–18 декабря 2015 г.* М.: 2015: 297–300.
- Лаврова Д.В., Недачин А.Е. Изучение возможности использования ПЦР для контроля инфекционных энтеровирусов в пробах воды, прошедшей обработку УФО. *II Международная научно-практическая конференция «Экология и научно-технический прогресс»*. Пермь; 2003: 128–9.

## References

- Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A. Indicative value of individual indicators and markers for viral water contamination. *Gigiyena i sanitariya [Hygiene and Sanitation, Russian Journal]*. 2015; 6: 51–4. (in Russian)
- Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V., Dolgin V.A. Indicators and markers of viral water pollution. *Proceedings of the Plenum of the Scientific Council of the Russian Federation on Human Ecology and Environmental Hygiene “Integrated Impact of Environmental Factors and Lifestyles on Public Health: Diagnostics, Correction, Prevention” [Materials Plenum Nauchnogo soveta RF po ekologii cheloveka i gigiyeny okruzhayushchey sredy “Kompleksnoye vozdeystviye faktorov okruzhayushchey sredy i obraza zhizni na zdorov’ye naseleniya: diagnostika, korrektsiya, profilaktika”]*. Moscow; 2014: 276–8. (in Russian)
- Farkas K., Varsani A., Marjoshi D., Easingwood R., McGill E<sup>s</sup>, Pang L. Size exclusion-based purification and PCR-based quantitation of MS2 bacteriophage particles for environmental applications. *J Virol Methods*. 2014; 213C: 135–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.11.024.

4. Marinho A.N.R., Rocha D.C.C., Kanai Y.K., Alves C.M., Costa D.C., Sousa A.H. et al. Rotavirus analyses by SYBR Green real-time PCR and microbiological contamination in bivalves cultivated in coastal water of Amazonian Brazil. *J Water Health*. 2018; 16 (6): 970–9. DOI: 10.2166/wh.2018.130.
5. Income N., Kosoltanapiwat N., Taksinoros S., Leungwutiwong P., Ma-nee-kan P., Chavez I.F. Molecular Identification of Enteroviruses from Cattle and Goat Feces and Environment in Thailand. *Appl Environ Microbiol*. 2019; 85 (5). PII: e02420-18. DOI: 0.1128/AEM.02420-18. Print 2019 Mar 1.
6. Lowther J.A., Henshilwood K., Lees D.N. Determination of norovirus contamination in oysters from two commercial harvesting areas over an extended period, using semiquantitative real-time reverse transcription PCR. *J Food Prot*. 2008; 71 (7): 1427–33.
7. Karim M.R., Fout G.S., Johnson C.H., White K.M., Parshionikar S.U. Propidium monoazide reverse transcriptase PCR and RT-qPCR for detecting infectious enterovirus and norovirus. *J Virol Methods*. 2015; 219: 51–61. DOI: 10.1016/j.jviromet.2015.02.020.
8. Parshionikar S., Laseke I., Fout G.S. Use of Propidium Monoazide in Reverse Transcriptase PCR To Distinguish between Infectious and Non-infectious Enteric Viruses in Water Samples. *Appl Environ Microbiol*. 2010; 76 (13): 4318–26.
9. Kitajima M, Tohya Y, Matsubara K, Haramoto E, Utagawa E, Katayama H. Chlorine inactivation of human norovirus, murine norovirus and poliovirus in drinking water. *Lett Appl Microbiol*. 2010; 51 (1): 119–21. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2010.02869.x. Epub 2010 May.
10. Nedachin A.E., Dmitrieva R.A., Doskina T.V. The effect of chemical pollution on the ratio of indicator microorganisms and intestinal viruses in the water of surface water bodies. *Proceedings of the Plenum of the Scientific Council of the Russian Federation on Human Ecology and Environmental Hygiene, December 17–18, 2015 [Materialy Plenuma Nauchnogo soveta RF po ekologii cheloveka i gigiyene okruzhayushchey sredy, 17–18 dekabrya 2015 g.]*. Moscow; 2015: 297–300. (in Russian)
11. Sigstam T., Gannon G., Cascella M., Pecson B.M., Wigginton K.R., Kohn T. Subtle Differences in Virus Composition Affect Disinfection Kinetics and Mechanisms. *Appl Environ Microbiol*. 2013; 79 (11): 3455–67.
12. Lavrova D.V., Nedachin A.E. The study of the possibility of using PCR to control infectious enteroviruses in water samples that underwent UV treatment. *II International Scientific and Practical Conference "Ecology and Scientific and Technical Progress" [II mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya "Ekologiya i nauchno-tekhnicheskij progress]*. Perm; 2003: 128–9. (in Russian)
13. Cho K., Li S., Park S., Kim J., Choy Y., Kim M.S. et al. Use of coliphages for the study of contamination by noroviruses in the area of cultivation of mollusks in the Republic of Korea. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018; 25 (30): 30044–55. DOI: 10.1007/s11356-018-2857-6. Epub 2018.
14. Akihiko Hata, Seiya Hanamoto, Yuya Shirasaka, Naoyuki Yamashita, Hiroaki Tanaka. Quantitative Distribution of Infectious F-Specific RNA Phage Genotypes in Surface Waters. *Environ Microbiol*. DOI: 10.1128/AEM.00621-16.