

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ГУ НИИ гриппа РАМН
академик РАМН, профессор
Киселев О.И.

« 22 »

02. 2006

ОТЧЕТ

**Оценка эффективности применения серийно выпускаемых
облучателей-рециркуляторов воздуха ультрафиолетовых бактерицидных
ОРУБ-01-КРОНТ (ДЕЗАР-7) и ОРУБ-03-КРОНТ (ДЕЗАР-4) для обеззаражива-
ния воздуха в помещениях от вирусов: гриппа человека А(Н1N1), гриппа птиц
А (Н5N2) и парагриппа 1-го типа**

Используемые в исследованиях вирусы гриппа человека А (Н1N1), птиц А (Н5N2) и парагриппа (тип 1, Сендай) обладают общим морфологическими, химическими и биологическими свойствами. Поэтому с 1955 г. эти вирусы вместе с другими представителями были выделены в самостоятельную группу миксовирусов. Их вирионы полиморфны. В округлых формах вирусов гриппа преобладают частицы с диаметром 80-120 нм, а парагриппа – 120-300 нм. Геном всех вирусов линейный в виде минус-нити однонитчатой молекулы рибонуклеиновой кислоты. Он фрагментирован у вирусов гриппа и представлен в виде единой молекулы у вирусов парагриппа. Сердцевина (нуклеопротеин) вириона покрыта оболочкой, состоящей из слоя белка М, двойного слоя липидов и наружного, гликопротеинового слоя. Сборка вирионов осуществляется на плазматической мембране. Формирующиеся вирусные частицы отпочковываются от клетки, при этом модифицированные вирусом участки плазматической мембраны вместе с клеточными липидами, в несколько измененном соотношении, включаются в состав вируса (1-5).

В настоящее время вирусы гриппа относят к семейству ортомиксовирусов, а парагриппа – к семейству парамиксовирусов. Семейство ортомиксовирусов включает три рода – А, В и С (их обычно называют серологическими типами). Вирусы типа А поражают людей, птиц и млекопитающих (свиней, лошадей, тюленей и др.) и имеют тенденцию к глобальному распространению (пандемическому, панзоотическому). Вирусы типов В и С поражают только людей. Тип В - вызывает микроэпидемии; а тип С - спорадические заболевания.

Семейство парамиксовирусов включает три рода: парамиксовирусы, коревые вирусы и пневмовирусы:

- в род парамиксовирусов входят вирусы парагриппа человека (5 серотипов), животных (3 серотипа), птиц и вирус паротита человека;
- род коревых вирусов состоит из вируса кори, подострого склерозирующего панэнцефалита, вирусов чумы собак и рогатого скота;

- род пневмовирусов включает респираторно-синцитиальные вирусы (РС-вирусы) человека и рогатого скота, вирусы пневмонии мышей.

Все орто- и парамиксовирусы чувствительны к ультрафиолетовому (УФ) облучению. В доступной литературе отсутствуют какие-либо сведения о резистентности вирусов этих семейств к действию УФ-лучей.

Материалы и методы

Облучатели-рециркуляторы. Использовали серийно выпускаемые облучатели-рециркуляторы воздуха ультрафиолетовые бактерицидные ОРУБ-01-КРОНТ (ДЕЗАР-7) и ОРУБ-03-КРОНТ (ДЕЗАР-4). Они предназначены для обеззараживания воздуха в помещениях в присутствии людей в непрерывном режиме, продолжительность которого определяется функциональными требованиями к каждому конкретному помещению [8].

Корпус рециркулятора выполнен из ударопрочного, химически стойкого полистирола. Наружные поверхности рециркулятора устойчивы к дезинфекции способом протирания в соответствии с действующими методическими документами по применению конкретных дезинфицирующих средств, разрешенных в РФ для дезинфекции поверхностей. Входные и выходные окна рециркулятора снабжены поворотными дефлекторами, предназначенными для защиты глаз от попадания ультрафиолетового (УФ) излучения.

Обеззараживание воздуха достигается оптимальным соотношением мощности бактерицидного потока ламп и скорости прохождения воздушного потока. Для увеличения эффективности использования бактерицидного потока, поверхность камеры имеет специальное покрытие с высоким коэффициентом отражения. В корпусе рециркулятора установлены безозоновые бактерицидные лампы марки «Филипс» (Голландия), образующие вместе с внутренними поверхностями корпуса зону УФ облучения, а также вентилятор, который забирает воздух из помещения и затем подает обеззараженный воздух из зоны облучения в помещение. Излучение указанных ламп характеризуется широким диапазоном действия на микроорганизмы.

Помещение. Обеззараживание воздуха осуществляли в боксовом помещении объемом 38 м³, окруженном с 3-х сторон стерильными боксами и предбоксом. Перед каждым новым экспериментом, сопровождающимся сменой вируса и/или облучателя-рециркулятора, боксовое помещение обрабатывали (пол, стены, потолок) дезинфицирующим раствором аналита (0,03%) и облучали стационарными потолочными и переносными бактерицидными лампами в течение 1 часа. Эксперименты в помещении начинали через 1 час после завершения подготовительной работы.

Вирусы. Успешное осуществление намеченных исследований возможно лишь при искусственном создании в воздухе помещения высокой концентрации того или иного вируса. Выбранные вирусы идеально подходят для этих экспериментов. Каждый из вирусов хорошо размножается в развивающихся куриных эмбрионах (КЭ), накапливаясь в большом количестве в их аллантоисной жидкости. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость можно использовать для распыления в воздухе обсле-

двумя помещениями. При этом очень важно иметь высоко чувствительную систему для индикации вируса. В выбранной нами системе «вирус-КЭ» можно выявить одну инфекционную частицу вируса, попавшую в КЭ при титровании проб. Обнаружение вируса происходит безошибочно путём визуальной регистрации агглютинации куриных эритроцитов аллантоисным вирусом после его предварительного накопления в КЭ.

При оценке эффективности работы облучателей-рециркуляторов для обеззараживания воздуха в боксовом помещении использовали штаммы вирусов гриппа человека –A/Resvir/10/98 (H1N1), птиц A/Duck Potsdam/1402/6/86 (H5N2) и парагриппа животных 1-го типа (Сендай). Вирус Сендай имеет прямое антигенное родство с вирусом парагриппа 1-го типа человека, то есть эти вирусы являются аналогами. Поэтому данные, полученные на модели вируса Сендай, могут быть экстраполированы на вирус парагриппа (1-го типа) человека. Вирус Сендай широко используется в качестве производственного штамма при изготовлении различных антигенных и антительных препаратов для диагностики парагриппа человека с помощью иммуноферментного анализа, иммунофлуоресценции и реакции торможения геммагглютинации.

Для распыления вирусов в помещении были использованы распылители-дозаторы РДЖ-М4. С целью замедления оседания аэрозоля вирусов на стены и пол помещения применяли бытовой вентилятор. Используемые вирусы брали в максимальной концентрации – около 7,0 Ig эмбриональных инфекционных единиц в 1 мл (Ig ЭИЕ/мл). В боксовом помещении перед началом каждого эксперимента распыляли по 20 мл вирусосодержащей жидкости, равномерно распределяя аэрозоль по всему объёму помещения. Расчетное общее количество того или другого вируса в воздухе боксового помещения составляло примерно 2×10^8 , а в 1 м^3 – 5×10^6 Ig ЭИЕ.

Метод отбора проб. Для изучения воздуха с целью определения количественного содержания в нем модельных вирусов использовали аспиратор отбора проб воздуха (модель 822). Аппарат обеспечивает одновременный отбор 4-х проб воздуха (2 пробы с расходом от 0,1 до 1 л/мин, и 2 пробы с расходом от 1 до 20 л/мин). Стеклообразные поглотители были заполнены 6,5 % раствором пептона. Пептон необходим в качестве стабилизатора вируса. Три поглотителя, содержащие по 1,5 мл раствора пептона, размещали в нижней части помещения (70 см от боковых стен и пола), средний – в центре обследуемого помещения и верхний – 1,5 м от потолка и стен. Стандартные поглотители для большего захвата вируса из фиксированного объема прокачиваемого воздуха были снабжены раструбами (стеклянными воронками) диаметром 10 см. Чтобы избежать вспенивания жидкости, скорость прокачки исследуемого воздуха была выбрана 2 л/мин. Время обработки помещения после распыления вирусов облучателем ДЕЗАР-7 и ДЕЗАР-4 было 50 мин, а объем прокачиваемого воздуха в каждой пробе около 100 л.

Количественное определение вирусов в пробах. После прокачивания воздуха в боксе через стеклообразные поглотители содержимым проб заражали 10-дневные КЭ. Материал, полученный после распыления вирусов (до и после обработки поме-

щения облучателями-рециркуляторами), вводили в КЭ по 0,2 мл – цельный (не разведённый) и в разведениях 1:10, 1:100 и 1:1000. Инкубацию КЭ проводили при 34°C – 3 суток для вируса гриппа типа А (H1N1), при 36°C – 3 суток для вирусов гриппа птиц А (H5N2) и парагриппа Сендай. Каждой пробой заражали по четыре КЭ. После инкубации в условиях термостата эмбрионы охлаждали и стерильно отбирали образцы аллантоисной жидкости. В отобранных образцах определяли наличие или отсутствие вируса, используя реакцию гемагглютинации (РГА) с куриными эритроцитами по общепринятой методике [6]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Стьюдента при $p=0,95$ [7].

Результаты

Данные, полученные при испытании облучателей ДЕЗАР-7 и ДЕЗАР-4, представлены в таблицах 1 и 2. Как видно из этих данных, оба аппарата эффективно обеззараживают в течение 50 мин воздух боксового помещения объемом 38м^3 , в котором предварительно распылено около 2×10^8 ЭИЕ того или иного вируса.

**Оценка эффективности применения облучателя-рециркулятора
ОРУБ-01-Кронт (ДЕЗАР-7) при обеззараживании воздуха в помещении от вирусов гриппа человека А (H1N1), птиц А (H5N2) и парагриппа (тип 1, Сендай)**

Вирусы	№№ проб	Количество вируса в пробах воздуха (lg ЭИД ₅₀ /мл)		Эффективность обеззараживания воздуха (> %)
		до обработки	после обработки	
Вирус гриппа человека A/Resvir/10/98 (H1N1)	1	3,4±0,1	0	99,9
	2	3,4±0,1	0	99,9
	3	3,4±0,1	0	99,9
	среднее	3,4±0,1 (n=12)	0 (n=12)	99,9*
Вирус гриппа птиц A/Duck Potsdam/1402/6/86 (H5N2)	1	3,5±0,1	0	99,9
	2	3,4±0,1	0	99,9
	3	3,4±0,1	0	99,9
	среднее	3,4±0,1 (n=12)	0 (n=12)	99,9*
Вирус парагриппа животных типа 1 (Сендай)	1	3,4±0,1	0	99,9
	2	3,5±0,1	0	99,9
	3	3,3±0,1	0	99,9
	среднее	3,4±0,1 (n=12)	0 (n=12)	99,9*

Примечание: *) p<0,05

**Оценка эффективности применения облучателя-рециркулятора
ОРУБ-03-Кронт (ДЕЗАР-4) при обеззараживании воздуха в помещении от вирусов гриппа человека А (H1N1), птиц А (H5N2) и парагриппа (тип 1, Сендай)**

Вирусы	№№ проб	Количество вируса в пробах воздуха (lg ЭИД ₅₀ /мл)		Эффективность обеззараживания воздуха (> %)
		до обработки	после обработки	
Вирус гриппа человека A/Resvir/10/98 (H1N1)	1	3,2±0,1	0	99,9
	2	3,1±0,1	0	99,9
	3	3,2±0,1	0	99,9
	среднее	3,2±0,1 (n=12)	0 (n=12)	99,9*
Вирус гриппа птиц A/Duck Potsdam/1402/6/86 (H5N2)	1	3,1±0,1	0	99,9
	2	3,3±0,1	0	99,9
	3	3,3±0,1	0	99,9
	среднее	3,2±0,1 (n=12)	0 (n=12)	99,9*
Вирус парагриппа животных типа 1 (Сендай)	1	3,1±0,1	0	99,9
	2	3,1±0,1	0	99,9
	3	3,1±0,1	0	99,9
	среднее	3,1±0,1 (n=12)	0 (n=12)	99,9*

Примечание: *) p<0,05

Так, вирусы гриппа человека А (H1N1), гриппа птиц А (H5N2) и парагриппа животного типа (Сендай) были выявлены в воздухе помещения во всех 18 пробах в титрах 3,1-3,4 lg ЭИЕ_{50/мл}. После 50 минутной обработки воздуха указанного помещения облучателями ДЕЗАР-7 или ДЕЗАР-4 все эти вирусы в пробах воздуха не обнаружены. Эффективность работы облучателей во всех случаях составила более 99,9 %.

В условиях проведенных экспериментов, в которых время обработки помещения различными облучателями-рециркуляторами было одним и тем же, а степень обеззараживания воздуха от всех трёх используемых вирусов была максимальной, не обнаружено каких-либо различий в эффективности обеззараживающего действия между облучателями ДЕЗАР-7 и ДЕЗАР-4. Не выявлено также каких-либо различий в эффективности инактивации используемых вирусов.

Обсуждение и заключение

В экспериментальных условиях оценивали эффективность применения серийно выпускаемых облучателей-рециркуляторов воздуха ультрафиолетовых бактерицидных ОРУБ-01-КРОНТ (ДЕЗАР-7) и ОРУБ-03-КРОНТ (ДЕЗАР-4) для обеззараживания воздуха в помещении от инфекционных агентов, принадлежащих к семействам ортомиксовирусов – гриппа человека А (H1N1), гриппа птиц А (H5N2) и парамиксовирусов – парагриппа животных 1-го типа (Сендай). Данные, полученные на модели вируса Сендай, могут быть экстраполированы на вирус парагриппа 1-го типа человека, так как эти вирусы являются аналогами.

Применение облучателей-рециркуляторов ДЕЗАР-7 и ДЕЗАР-4 для инактивации указанных вирусов в воздухе помещения объемом 38 м³ в течение 50 мин показало их высокую эффективность. После обработки воздуха помещения, в которой было предварительно распылено около 2×10^8 инфекционных частиц того или иного вируса, все три вируса не были обнаружены в 18-ти пробах воздуха объемом по 100 л. Эффективность работы облучателей во всех случаях составила более 99,9 % ($p < 0,05$).

Следует учесть, что все представители орто- и парамиксовирусов высоко чувствительны к УФ-облучению, нет каких-либо сведений о резистентности вирусов этих семейств к действию УФ-лучей. Можно ожидать, что подобный высокий обеззараживающий эффект аппаратов ДЕЗАР-7 и ДЕЗАР-4 распространяется и на других представителей семейств этих вирусов. Из ортомиксовирусов - на различные подтипы вирусов гриппа А человека, птиц и млекопитающих, на вирусы гриппа человека типов В и С, а из парамиксовирусов – на различные типы вирусов парагриппа человека, животных и птиц, на вирусы паротита и кори человека, вирусы чумы собак и рогатого скота, на респираторно-синцитиальные вирусы человека и рогатого скота, вирусы пневмонии мышей.

Считаем целесообразным рекомендовать к широкому применению в медицинской и ветеринарной практике ОРУБ-01-КРОНТ (ДЕЗАР-7) и ОРУБ-03-КРОНТ (ДЕЗАР-4) для обеззараживания от указанных выше вирусов воздуха помещений:

- в лечебно-профилактических учреждениях;
- в социальных учреждениях (школы, детские сады, интернаты и др.);
- в ветеринарных лечебницах, зоопарках, вивариях, животноводческих и птицеводческих хозяйствах.

Литература

1. Букринская А.Г., Зайдес В.М., Молекулярная биология парамиксовирусов. М., «Медицина», 1978, 184 с.
2. Дрейзин Р.С. Респираторно-синцитиальные вирусные инфекции. Л., «Медицина», 1968, 256 с.
3. Жданов В.М., Букринская А.Г., Репродукция миксовирусов. М., «Медицина», 1969, 280 с.
4. Закстельская Л.Я., Яхно М.А. Парагриппозные вирусы человека и животных. М., «Медицина», 1968, 172 с.
5. Общая и частная вирусология. Руководство в двух томах. Т. 2. (под ред. Жданова В.М., Гайдамовича С.Я.) – М., «Медицина», 1982, 520 с.
6. Шубладзе А.К., Гайдамович С.Я. Краткий курс практической вирусологии. М., Медгиз, 1964, 379 с.
7. Учебное пособие по медицинской статистике (под ред. Е.Я. Белидкой), Л.Ю. Медицина, 1972, 174 с.
8. Инструкция по применению облучателей-рециркуляторов воздуха ультрафиолетовых бактерицидных ОРУБ-КРОНТ («ДЕЗАР»), утверждено Госсанэпиднадзором Минздрава России 30.08.2002 № 11-3/301-09.

Руководитель НИР:

заведующий отделом профилактики
и химиотерапии ГУ НИИ гриппа РАМН,
доктор медицинских наук, профессор



О.К. Кузнецов

Ответственный исполнитель:

ведущий научный сотрудник
лаборатории гриппозных вакцин
ГУ НИИ гриппа РАМН,
кандидат медицинских наук



А.А. Гаврилов