

*И.С.Тартаковский¹, О.А.Груздева², Т.И.Карпова¹, Ю.Е.Дронина¹, Т.А.Тарасова¹,
О.Г.Логинова¹, М.Н.Дмитриева¹*

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ, НАПРАВЛЕННЫХ НА ЭЛИМИНАЦИЮ ПЛАНКТОННЫХ КЛЕТОК И БИОПЛЕНОК ЛЕГИОНЕЛЛ В ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ВОДНЫХ СИСТЕМАХ

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, Москва, ²Первый московский государственный медицинский университет им.И.М.Сеченова

Цель. Сравнительное изучение различных методических подходов, направленных на элиминацию легионелл в потенциально опасных водных системах. *Материалы и методы.* Оценку эффективности краткосрочного повышения температуры воды до 70°C проводили в модуле водоснабжения с регулируемым температурным режимом объемом 290 литров. Оценку эффективности метода каталитической очистки воды проводили в бассейне для водоплавающей птицы объемом 10 000 литров. Исходный, промежуточный и конечный уровень колонизации водных систем *Legionella pneumophila* проводили в соответствии с методикой, описанной в МУК 4.2.2217-07. Наличие биопленок, содержащих легионеллы, на поверхности оборудования и границе водной среды или в шаровых краях системы водоснабжения определяли визуально с последующим бактериологическим подтверждением присутствия легионелл в биопленках. *Результаты* Показана высокая бактерицидная активность применявшихся методов в отношении планктонных форм и биопленок легионелл в водных системах различного типа. Полученные результаты свидетельствуют, что тепловой шок (70°C в течение 24 часов) в условиях работающего модуля системы горячего водоснабжения обладает краткосрочным эффектом, не превышающим 2 месяцев эксплуатации. Бактерицидный эффект каталитической очистки воды при достаточно высоком исходном уровне контаминации водного объекта проявлялся не ранее 3 недель экспозиции и сохранялся в течение 2 месяцев эксплуатации каталитического модуля. *Заключение.* Представленные в работе методические подходы могут быть использованы для разработки эффективной и рациональной стратегии обеспечения профилактики легионеллеза при эксплуатации различных водных систем и объектов в общественных зданиях.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 119—124

Ключевые слова: *L.pneumophila*, водные объекты, биопленки, профилактика

*I.S.Tartakovsky¹, O.A.Gruzdeva², T.I.Karpova¹, Yu.E.Dronina¹, T.A.Tarasova¹, O.G.Loginova¹,
M.N.Dmitrieva¹*

ANALYSIS OF THE DIFFERENT METHODOLOGICAL APPROACHES DIRECTED ON THE ELIMINATION OF PLANKTON FORMS AND *LEGIONELLA* BIOFILMS FROM POTENTIALLY DANGEROUS WATER SYSTEMS

¹Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow;

²Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Aim. Comparative study of the different methodical approaches directed on the elimination of plankton forms and *Legionella* biofilms from potentially dangerous water systems. *Materials and methods.* Evaluation of short-term heating of water to 70°C implemented in water supply module by volume 290 L with regulated temperature profile. Evaluation of catalytic cleansing of water implemented in the pool for water birds by volume 10 000 L. The initial, intermediate and final level of water objects colonization by *L. pneumophila* determined accordance MUK 4.2.2217-07. Presence of biofilms associated with *L. pneumophila* on the surface of the equipment, water surface and ball valves of water supply system determined visual with subsequent bacteriological confirmation by

L. pneumophila isolation from biofilms. *Results.* The high level of bactericidal activity against *L. pneumophila* plankton forms and biofilms was shown by both methods. Short-term heating to 70° during 24 hours prevented *Legionella* growth for 2 months of management. The catalytic cleansing of water against high initial level of contamination of water object by *L. pneumophila* manifested not earlier 3 weeks of maintenance and continued during 2 months. *Conclusion.* The presented methodical approaches can be used for development of efficient strategy of prevention of legionellosis during management of the different potentially dangerous water systems in public buildings.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 119—124

Key words: *L. pneumophila*, water objects, biofilms, prevention

ВВЕДЕНИЕ

В конце XX века стали известны основные аспекты экологии легионелл и типы потенциально опасных водных систем, в которых легионеллы могут размножаться до эпидемически значимых концентраций. Не менее важным стало и понимание того обстоятельства, что сам факт обнаружения легионелл в природных и искусственных водных системах не свидетельствует о непосредственной угрозе болезни легионеров. Известно, что в природных водоемах концентрация легионелл обычно не превышает 10^3 КОЕ на литр, в то время как в потенциально опасных водных системах (системы горячего водоснабжения, джакузи, бассейны, градирни) концентрация может вырасти до 10^6 - 10^7 КОЕ на литр, что может привести к возникновению эпидемических вспышек и спорадических случаев легионеллезной инфекции [8,15].

Поэтому профилактика легионеллеза в настоящее время направлена на элиминацию или существенное снижение концентрации легионелл в потенциально опасных водных системах. С этой целью за последние годы был апробирован широкий спектр химических агентов (биоцидов) и физических факторов [1, 9]. Несмотря на разнообразие предлагаемых методических подходов, оценка их эффективности весьма затруднительна. Речь идет о дезинфекции больших объемов воды, в которых необходимо добиться положительного эффекта не только в отношении планктонных форм легионелл, но и природных биопленок, содержащих легионеллы. Известно, что природные биопленки являются основными «накопителями» легионелл в водных системах и в их составе отличаются значительно более высоким уровнем устойчивости к дезинфектантам [13, 16]. Данные, полученные в отношении легионелл в лабораторных модельных системах с использованием моновидовых биопленок, недостаточно информативны для экстраполяции их на реальные потенциально опасные водные объекты [3,10]. В данной работе использовали два различных методических подхода — тепловой шок в условиях модуля водоснабжения с регулируемым температурным режимом и установку для каталитической обработки воды в искусственном бассейне для водоплавающих птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки эффективности теплового шока использовали установку, позволяющую моделировать различные температурные и гидравлические режимы, используемые при осуществлении горячего водоснабжения в многоквартирных домах объемом 290 литров. Установка представляет собой замкнутый контур с постоянной циркуляцией теплой воды (50°С), которая обеспечивается отдельным циркуляционным насосом, управляемым цифровым контролером. Для получения объективной картины в состав установки

входили элементы из различных материалов, применяемых в системах горячего водоснабжения (стальные трубы оцинкованные, металлопластик, латунь, резиновые шланги). Оценку эффективности метода каталитической очистки воды с использованием установки УКОВ серии ИТ-1-О-20-ГАУМЗ (АО «Ионообменные технологии») проводили в бассейне для водоплавающей птицы объемом 10 000 литров. В качестве активатора каталитической реакции использовали светодиодную лампу малой мощности (10 Вт) для облучения каталитического модуля установки.

Исходный, промежуточный и конечный уровень колонизации водных систем *Legionella pneumophila* и ОМЧ проводили в соответствии с методикой, описанной ранее в МУК 4.2.2217-07 «Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды» [9]. Наличие биопленок, содержащих легионеллы, на поверхности оборудования и границе водной среды или в шаровых кранах системы водоснабжения определяли визуально с последующим бактериологическим подтверждением присутствия легионелл в биопленках [4,5].

РЕУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки эффективности теплового воздействия осуществляли кратковременное (на 24 часа) повышение температуры воды, циркулирующей в замкнутом контуре до 70°C, после чего температура воды в контуре снова была выведена на уровень 50°C. Уровень колонизации *L. pneumophila* и общее микробное число (ОМЧ) определяли в трех зонах водного контура с различной интенсивностью скорости водного потока (табл.1). Полученные данные свидетельствовали о существенном исходном уровне колонизации легионеллами с превышением допустимого уровня (10³КОЕ на литр) и образованием биопленок в зоне застоя. После профилактического прогревания воды в системе до 70°C в течение суток температура воды в системе снова была выведена на уровень 50°C. Полученные результаты свидетельствуют, что профилактическое прогревание воды системы горячего водоснабжения закрытого типа до 70°C в течение суток обладает выраженным бактерицид-

Таблица 1. Влияние теплового шока на уровень колонизации *Legionella pneumophila* контура системы горячего водоснабжения

Показатели колонизации системы	Точка отбора пробы	Общее микробное число (ОМЧ) в мл	Планктонные формы <i>L. pneumophila</i> в литре	Выделение <i>L. pneumophila</i> из биопленок
Исходные значения при 50°C	б	42	74	—
	зц	54	2,2 x 10 ²	—
	зз	6,5 x 10 ²	1,2 x 10 ⁴	+
Сразу после теплового шока (70°C в течение 24 ч)	б	—	—	—
	зц	—	—	—
	зз	—	—	—
Результат анализа отбора через 10 дней после теплового шока	б	—	—	—
	зц	—	—	—
	зз	—	—	—
Результат анализа отбора через 30 дней после теплового шока	б	—	—	—
	зц	—	—	—
	зз	—	8	—
Результат анализа отбора через 60 дней после теплового шока	б	—	—	—
	зц	24	58	—
	зз	28	1,6 x 10 ²	+

Примечание. + Выделение *L. pneumophila* из биопленки, — отсутствие роста биопленок и планктонных форм микроорганизмов (здесь и в табл. 2); б — бойлер, зц — зона циркуляции, зз — зона застоя.

ным действием на легионеллы и другие санитарно-показательные микроорганизмы. В то же время, полученные результаты подтверждают представление об отсутствии полной элиминации легионелл из системы при наличии биопленок. В застойных участках системы планктонные формы легионелл можно было обнаружить спустя месяц после прогревания, а через 2 месяца снова наблюдали существенный уровень колонизации водного контура.

В основе действия другого методического подхода, использованного в данном исследовании, лежит каталитическая очистка водной системы. Принцип технологии основан на действии биологических поверхностно-активных веществ естественного происхождения (биотензидов), продуцируемых каталитическим модулем из специального металлического сплава (Cr-Ni-Fe) при облучении поверхности модуля светодиодной лампой малой мощности [6]. Бактерицидный эффект метода при достаточно высоком исходном уровне контаминации водного объекта проявлялся не ранее 3 недель экспозиции и сохранялся в течение 2 месяцев эксплуатации каталитического модуля (табл. 2). Некоторое возрастание концентрации планктонных форм легионелл через 2 недели экспозиции может быть связано с постепенным разрушением биопленок, сопровождаемым выходом жизнеспособных клеток легионелл в водную среду. Последующий анализ образцов воды и остаточных биопленок свидетельствовал о полной элиминации легионелл из бассейна.

В настоящее время требования по применению различных методов профилактики легионеллеза в Российской Федерации, направленных на элиминацию планктонных клеток и биопленок легионелл из потенциально опасных водных системам, носят весьма обобщенный характер и не конкретизированы для различных водных объектов [1,7,9]. Ситуация кардинальным образом отличается в худшую сторону по сравнению с методами количественного мониторинга легионелл в водных объектах и методами лабораторной диагностики легионеллеза, в полной мере соответствующими современным международным стандартам [14,15].

Дезинфекция потенциально опасных водных систем и снижение в них концентрации легионелл до безопасного для человека уровня является в настоящее время единственным реальным путем профилактики легионеллеза. Выбор метода дезинфекции основывается на анализе чувствительности легионелл к различным химическим и физическим факторам и знании особенностей экологии возбудителя в разных типах потенциально опасных водных систем.

Так, анализ частоты применения различных профилактических подходов за рубежом показал, что для профилактики легионеллеза в системе горячего водоснабжения тепловой шок (то есть кратковременное нагревание воды до температуры 70-75°C) использовали в 60% случаев проведения профилактических мероприятий, биоциды (как правило, хлорсодержащие соединения) — в 45% случаев, ионизацию серебром и медью — в 8%, озонирование — в 2% случаев (в ряде случаев возможно одновременное применение нескольких методов).

Таблица 2. Влияние каталитической очистки (КО) воды на уровень колонизации *L. pneumophila* бассейна для водоплавающих птиц

Показатели	Исходная концентрация микроорганизмов до начала КО	через 14 дней	через 21 день	через 30 дней	через 60 дней
ОМЧ в мл воды	5×10^3	9×10^2	3×10^2	-	-
Планктонные формы <i>L.pneumophila</i> в л воды	$6,5 \times 10^2$	5×10^3	—	—	—
Выделение <i>L.pneumophila</i> из биопленок	+	+	+	—	—

Полученные результаты свидетельствуют, что воздействие достаточно высокой температуры (70°C), полностью элиминирующей планктонные формы и моновидовые биопленки легионелл в лабораторных условиях [10], в условиях работающего модуля системы горячего водоснабжения обладает краткосрочным эффектом. Вместе с тем, краткосрочное ежеквартальное прогревание воды, циркулирующей в системе горячего водоснабжения до 70°C, может найти достаточно широкое применение для профилактики легионеллеза при эксплуатации систем горячего водоснабжения.

Весьма актуален и поиск новых технологий, обеспечивающих эффективную, простую и безопасную для населения элиминацию легионелл из водных объектов. Каталитическая очистка, использованная в данном исследовании, может стать одной из таких технологий. Методы, основанные на применении химических соединений (гипохлорит натрия, монохлорамин, двуокись хлора), широко используемые за рубежом для обеззараживания водных объектов, часто являются мощными окислителями с соответствующим риском как для эксплуатируемого оборудования, так и для физических лиц непосредственно с ним контактирующих [11,12,15]. Используемый в работе каталитический модуль в сочетании со светодиодной лампой малой мощности достаточно безопасен в эксплуатации и эффективен в элиминации планктонных форм и биопленок легионелл.

Исследования последних лет свидетельствуют о достаточно высоком уровне колонизации легионеллами потенциально опасных водных систем в зданиях общественного назначения (гостиницы, больницы, офисные и торговые центры) в условиях мегаполиса [1,2,9]. Представленные в данной работе методические подходы могут быть использованы для разработки эффективной и рациональной стратегии обеспечения профилактики легионеллеза при эксплуатации различных водных систем и объектов в общественных зданиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Груздева О.А. Научно-методические основы профилактики легионеллеза в гостиничных комплексах. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014, 2:49-53.
2. Груздева О.А. Научно-методические основы обеспечения профилактики легионеллеза в условиях мегаполиса. Автореф. дисс. д-ра мед. наук. М., 2017
3. Карпова Т.И., Дронина Ю.Е., Алексеева Н.В. и др. Формирование биопленок *Legionella* spp. в эксперименте. Журн.микробиол. 2008, 1:3-7.
4. МУК 4.2.2217- 07 «Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды», 2007.
5. Садретдинова О.В., Груздева О.А., Карпова Т.И. и др. Контаминация *Legionella pneumophila* систем горячего водоснабжения зданий общественного назначения, в том числе лечебно-профилактических учреждений. Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2011, 2:163-167.
6. Самсонова С.П., Сергиенко А.И., Шалимова Е.В. и др. Очистка воды от микробиологических загрязнений и биопленок в оборотных системах различного назначения. Водоснабжение и санитарная техника. 2017, 6:22-27
7. Санитарные Правила 3.1.2.2626-10 «Профилактика легионеллеза», 2010.
8. Тартаковский И.С., Демина Ю.В. Методология и стандарты профилактики легионеллеза. Жизнь без опасности. 2010, 4:108-120.
9. Тартаковский И.С., Груздева О.А., Галстян Г.М., Карпова Т.И. Профилактика, диагностика и лечение легионеллеза. М., 2013.
10. Тартаковский И.С., Карпова Т.И., Груздева О.А. и др. Влияние температуры на жизнеспособность планктонных клеток и модельных биопленок *Legionella pneumophila* в воде. Журн. микробиол. 2015, 5: 7-11.
11. Barbaree J.M., Gorman G., Martin W.T. et. al. Protocol for sampling environmental sites for legionellae. Appl. and Environ. Microbiol. 1987, 53(7):1454-1458.
12. Cooper A., Barnes H.R., Myers E.R. Assessing risk of Legionella. Ashrae J. 2004, 46(4): 22-26.

13. Declerck I.P. Biofilms: the environmental playground of *Legionella pneumophila*. *Environ. Microbiol.* 2010, 12(3):557-566.
14. Fields B.S., Benson R.F., Besser R.E. Legionella and Legionnaires Disease: 25 years of investigation. *Clin. Microb. Rev.* 2002, 15(3):506-526.
15. Legionella and prevention of Legionellosis. Ed. J.Bartram. WHO, 2007.
16. Mampel J., Sprig T., Weber S.S. Planctonic replication is essential for biofilm formation by *Legionella pneumophila* in a complex medium under static and dynamic flow conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72(4):2885-2895.

РЕЦЕНЗИИ И КРИТИКА

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ. АТЛАС-РУКОВОДСТВО (Под ред. Быкова А.С., Зверева В.В.). М., Медицинское информационное агентство, 2018, 416 с.

Издание атласа подготовлено коллективами кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии и кафедры клинической иммунологии и аллергологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова. Оно рекомендовано Координационным советом по области образования «Здравоохранение и медицинские науки» в качестве учебного пособия для использования в образовательных учреждениях, реализующих основные профессиональные образовательные программы высшего образования по программам специалитета области образования «Здравоохранение и медицинские науки».

Материал атласа изложен в соответствии с официально утвержденными федеральными государственными стандартами преподавания микробиологии и иммунологии для студентов высшего профессионального образования, о чем свидетельствует также список экзаменационных вопросов со ссылкой на соответствующие страницы издания, где освещена данная тематика. Атлас выполнен в виде гипертекста с электронограммами микробов, цветными микрофотографиями, рисунками, схемами и таблицами. В нем представлен ряд совершенно новых разделов, которые еще широко не вошли в учебно-методическую литературу, но имеют существенное значение в образовании врачей. Это касается таксономии микроорганизмов, а также роли факторов врожденного и адаптивного иммунитета и факторов вирулентности микробов при различных патологиях.

Атлас состоит из 7 глав: 1). Мир микробов; 2). Микробиологическая диагностика; 3). Бактериология; 4). Вирусология; 5). Протозоология; 6). Микология; 7). Иммунология и аллергология. Поиск информации облегчается подробным предметным указателем и указателем микроорганизмов.

В атласе приведены общепризнанные за последние годы данные в максимально объективной, сжатой и доступной форме. Представлены новые сведения: таксономия и классификация микробов, девять типов секреторных систем бактерий. В едином ключе приведены данные по механизмам и путям передачи возбудителя и срокам инкубационного периода. Впечатляет качество и оригинальность авторских микропрепаратов и рисунков. Приведены дефиниции заболеваний, краткие свойства возбудителей, особенности микробиологической диагностики и профилактики инфекций, а также данные по основным разделам иммунологии и аллергологии, включая реакции антиген — антитело.