

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК (РАМН)

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГРИППА (ГУ НИИ ГРИППА РАМН)

«УТВЕРЖДАЮ»

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

«25» сентября 2007г.

ОТЧЕТ

**Оценка эффективности применения
облучателей-рециркуляторов воздуха ультрафиолетовых
бактерицидных ОРУБ-3-3-«КРОНТ» и ОРУБ-3-5-«КРОНТ» с
фильтрацией воздушного потока для обеззараживания воздуха
в помещениях от типичных представителей орто-
парамиксовирусов (гриппа - Н1N1, H5N2 и парагриппа I)
человека и животных**

(Договор 30-И-07 от 05.07.07)

Санкт-Петербург

2007г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

№ п/п	Раздел	Стр.
1.	Введение	3
2.	Материалы и методы	4
2.1.	Вирусы	4
2.2.	Помещение	5
2.3.	Распыление вирусов в воздухе помещения	5
2.4.	Аппаратура и метод отбора проб воздуха	5
2.5.	Количественное определение вирусов в пробах воздуха	6
2.6.	Методы оценки воздушных фильтров	6
2.6.1.	Воздушный фильтр	6
2.6.2.	Количественное определение вирусов на фильтрах	6
3.	Результаты	7
3.1.	Оценка облучателей-рециркуляторов для обеззараживания воздуха в помещении от вирусов	7
3.2.	Оценка воздушных фильтров	10
4.	Обсуждение	12
5.	Выводы и рекомендации	14
	Литература	15

1. Введение

Ранее в ГУ НИИ гриппа РАМН (2005-2006гг.) была показана высокая эффективность ультрафиолетовых облучателей-рециркуляторов серии «ДЕЗАР» для обеззараживания воздуха в помещении от ортотипомиксовирусов человека и животных [1], а также установлено положительное действие их применения в клиническом отделении респираторно-вирусных инфекций на базе инфекционной больницы им.Боткина Санкт-Петербурга [2]. Сейчас созданы новые модели подобных облучателей. Они более компактные, имеют более высокую производительность и впервые оснащены воздушными фильтрами.

В данном отчете представлены результаты медико-биологических испытаний новых моделей облучателей для обеззараживания воздуха от указанных выше вирусов и отражены результаты оценки самих воздушных фильтров. Даны рекомендации по использованию ОРУБ-3-3-«КРОНТ» и ОРУБ-3-5-«КРОНТ» для обеззараживания воздуха от вирусов в различных учреждениях и рекомендации по срокам замены в облучателях воздушных фильтров. Испытуемые УФ-облучатели (товарный знак «ДЕЗАР») относятся к рециркуляторам закрытого типа, передвижные. Предназначены для применения в лечебно-профилактических учреждениях в отсутствии или в присутствии людей для снижения и предотвращения соответственно микробной обсемененности воздуха в помещении. Продолжительность режима УФ-облучения определяется функциональными требованиями к каждому конкретному помещению. В корпусах изделий установлены безозоновые бактерицидные лампы (3 шт. - ОРУБ-3-3, 5 шт. - ОРУБ-3-5), а также по 3 вентилятора. Вентиляторы забирают воздух из помещения через воздушный фильтр и затем подают обеззараженный воздух из зоны облучения в помещение. Производительность облучателей 100 м³/час. Средний срок службы ламп – не менее 8000 час.

Используемые в экспериментальных исследованиях модельные вирусы относятся к типичным представителям семейств ортомиксовирусов и

парамиксовирусов, обладающих общими морфологическими, химическими и биологическими свойствами [3]. Их вирионы полиморфны, размер частиц – от 80 до 300 нм. Из ортомиксовирусов самыми распространенными в природе являются вирусы гриппа типа А, которые поражают людей, птиц и млекопитающих. Эти вирусы имеют тенденцию к глобальному распространению. К основным представителям парамиксовирусов относятся: вирусы парагриппа человека (5 серотипов), животных (3 серотипа), птиц и вирус паротита человека; вирусы кори, чумы рогатого скота и собак; респираторно-синцитиальные вирусы человека и животных, вирусы пневмонии мышей.

Все орто-парамиксовирусы высоко чувствительны к воздействию УФ-лучей, довольно быстро погибают во внешней среде при 20-37⁰С [3- 5].

Испытания облучателей-рециркуляторов проводили в соответствии с разработанной Программой и методикой и руководствами по их эксплуатации.

2. Материалы и методы

2.1. Вирусы. Применили модельные штаммы вирусов гриппа человека – A/Resvir/10/98 (H1N1), птиц A/Duck Potsdam/1402/6/86 (H5N2) и парагриппа животных (Сендай – аналог вируса парагриппа I человека). Выбранные вирусы идеально подходят для искусственного создания в воздухе помещения их высоких концентраций, что важно для успешного осуществления намеченных исследований. Каждый из вирусов хорошо размножается в развивающихся куриных эмбрионах (КЭ), накапливаясь в большом количестве в их аллантоисной жидкости. Вирусодержащую аллантоисную жидкость можно использовать для распыления в воздухе обследуемого помещения. При этом очень важно иметь высоко чувствительную систему для индикации вируса. В выбранной нами системе «вирус – КЭ» можно выявить 1 инфекционную единицу вируса (эмбриональную инфекционную единицу – ЭИЕ), попавшую в КЭ при

титровании проб. Обнаружение вируса происходит безошибочно путем визуальной регистрации агглютинации куриных эритроцитов аллантоинным вирусом после его предварительного накопления в КЭ.

2.2. Помещение. Обеззараживание воздуха осуществляли в боксовом помещении объёмом 74 м³ в течение 50 мин. Перед каждым новым экспериментом, сопровождающимся сменой вируса и/или очистителя, боковое помещение обрабатывали дезинфицирующим раствором аналита (0,03%) и облучали стационарными потолочными и переносными бактерицидными лампами открытого типа в течение 1 часа. Эксперименты в помещении начинали через 1 час после завершения подготовительной работы.

2.3. Распыление вирусов в воздухе помещения проводили с помощью распылителя-дозатора РДЖ-4М. С целью замедления оседания аэрозоля вирусов на стены и пол помещения использовали 2 бытовых вентилятора, позволяющих поддерживать высокую концентрацию аэрозоля того или другого вируса в воздухе не менее 100 минут, что подтверждалось данными предварительных исследований. Вирус гриппа типа А применяли в концентрации – около 7,0 lg ЭИЕ в 1 мл. В боксовом помещении перед началом каждого эксперимента распыляли по 20 мл вируссодержащей жидкости, равномерно распределяя аэрозоль по всему объёму помещения. Расчетное общее количество того или другого вируса в воздухе бокового помещения составляло примерно 2,0x10⁸, а в 1 м³ – 3,4x10⁶ ЭИЕ.

2.4. Аппаратура и метод отбора проб воздуха. Для определения

обследуемого помещения и верхний – 1,5 м от потолка и стен. Для большего захвата вируса из объема прокачиваемого воздуха стандартные поглотители снабжали раструбами (стеклянными воронками диаметром 10 см). Скорость прокачки исследуемого воздуха устанавливали 2 л/мин. Объем прокачиваемого воздуха в каждой пробе - 100 л, а суммарно в 3-х пробах – около 300 л.

2.5. Количественное определение вирусов в пробах воздуха. После прокачивания воздуха в боксе через стеклянные поглотители содержимым проб (в тот же день) заражали 10-дневные КЭ. Материал, полученный после распыления вирусов (до и после обработки помещения очистителями), вводили в КЭ по 0,2 мл – цельный (не разведённый) и в разведениях 1:10, 1:100, 1:1000 и 1:10000. 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 3-4 КЭ. После инкубации в условиях термостатах 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. Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Стьюдента при $p=0,95$.

2.6. Методы оценки воздушных фильтров

2.6.1. Воздушный фильтр служит в конструкции облучателей для очистки входного воздушного потока. В качестве фильтра используется нетканый, экологически чистый фильтрующий материал класса G2 по ГОСТ Р 51251 «Фильтры очистки воздуха» из синтетических неломающихся волокон, обеспечивающих фильтрацию частиц размером более 10 мкм.

2.6.2. Количественное определение вирусов на фильтрах проводили:

- после 1-кратной эксплуатации облучателей-рециркуляторов в условиях обеззараживания воздуха (в течение 50 мин.) в боксовом

помещении от модельных инфекционных вирусов, используя индивидуальные фильтры для каждого вириуса;

- в экспериментальных условиях на изолированных фильтрах после искусственного нанесения на них того или иного вириуса ^{и последующей} инкубации обсемененных вириусом фильтров в течение 1-5 суток при комнатной температуре (20-25° С). В этих экспериментах использовали только один инфекционный агент – штамм вириуса гриппа человека A/Resvir/10/98 (H1N1). Вириус наносили в виде аэрозоля на 6 фильтров распылителем-дозатором РДЖ-4М. На каждый фильтр распыляли по 3 мл вириуса с концентрацией 7,2 Ig ЭИЕ_{50 мк}. Испытуемые фильтры прополаскивали в 20 мл забуференного физиологического раствора в течение 1 часа. Фильтры отмывали для их ^{последующей}

«КРОНТ», содержащего 3 УФ-лампы, во всех 32 исследуемых образцах в титрах 3,3-3,6 lg ЭИЕ_{50/мл}, а в 1 м³ воздуха - в количестве 3,3x4,3 lg ЭИЕ₅₀ – 3,3x4,6 lg ЭИЕ₅₀ (табл.1). После обработки воздуха помещения этим

Таблица 1.

Оценка эффективности применения облучателя-рециркулятора ОРУБ-З-3 «КРОНТ» при обеззараживании воздуха (в течение 50 мин) в помещении от вирусов гриппа и парагриппа

Вирус	Количество вируса в тестируемых образцах (lgЭИЕ _{50/мл}) и в 1 м ³ воздуха (lgЭИЕ _{50/м³})		Эффективность обеззараживания не менее (%) (p<0,05)
	до обработки	после обработки	
Гриппа человека A/Resvir/10/98 (H1N1)	3,5 ± 0,1 lg ЭИЕ _{50/мл} и 3,3 x 4,5 lg ЭИЕ _{50/м³} (n=12)	1,1 ± 0,1 lg ЭИЕ _{50/мл} и <2,0 lg ЭИЕ _{50/м³} (n=12)	99,0
Гриппа птиц A/Duck Potsdam/1402/6/86 (H5N2)	3,6± 0,1 lg ЭИЕ _{50/мл} и 3,3 x 4,6 lg ЭИЕ _{50/м³} (n=10)	1,0± 0,1 lg ЭИЕ _{50/мл} и <2,0 lg ЭИЕ _{50/м³} (n=10)	99,0
Парагриппа I жи- вотных (Сендай – аналог парагриппа I человека)	3,3± 0,1 lg ЭИЕ _{50/мл} и 3,3 x 4,3 lg ЭИЕ _{50/м³} (n=10)	0,9 ± 0,1 lg ЭИЕ _{50/мл} и <2,0 lg ЭИЕ _{50/м³} (n=10)	99,0

Таблица 2.

Оценка эффективности применения облучателя-рециркулятора ОРУБ-3-5 «КРОНТ» при обеззараживании воздуха (в течение 50 мин) в помещении от вирусов гриппа и парагриппа

Вirus	Количество вируса в тестируемых образцах (lgЭИЕ ₅₀ /мл) и в 1 м ³ воздуха (lgЭИЕ ₅₀ /м ³)		Эффективность обеззараживания не менее (%) (p<0,05)
	до обработки	после обработки	
Гриппа человека A/Resvir/10/98 (H1N1)	3,4 ± 0,1 lg ЭИЕ₅₀/мл и 3,3 x 4,4 lg ЭИЕ₅₀/м³ (n=12)	0 0 (n=12)	99,9
Гриппа птиц A/Duck Potsdam/1402/6/86 (H5N2)	3,2± 0,1 lg ЭИЕ₅₀/мл и 3,3 x 4,2 lg ЭИЕ₅₀/м³ (n=12)	0 0 (n=12)	99,9
Парагриппа I жи- вотных (Сендай – аналог парагриппа I человека)	3,2± 0,1 lg ЭИЕ₅₀/мл и 3,3 x 4,2 lg ЭИЕ₅₀/м³ (n=9)	0 0 (n=9)	99,9

облучателем во всех образцах выявлены лишь минимальные концентрации вирусов с титрами 0,9-1,1 lg ЭИЕ_{50/мл}, а в 1 м³ воздуха обработанного помещения – в количестве менее 2,0 lg ЭИЕ₅₀. Эффективность обеззараживания воздуха при этом составляет не менее 99,0%. Это выше, чем

изложено в руководстве по эксплуатации ОРУБ-3-3-«КРОНТ» при подготовке помещений II-V категорий к функционированию.

После обработки воздуха указанного помещения облучателем ОРУБ-3-5-«КРОНТ», содержащего 5 УФ-ламп, вирусы во всех пробах воздуха не обнаружены (табл.2). Эффективность работы этой модели облучателя составляет не менее 99,9%, что соответствует рекомендациям по эксплуатации данного аппарата и для обеззараживания воздуха помещений I категории, к которым предъявляют повышенные требования по биологической безопасности (операционные, предоперационные, родильные, детские палаты роддомов и т.д.).

В условиях проводимых экспериментов подтверждено удобство приборов в эксплуатации.

3.2. Оценка воздушных фильтров

Результаты испытаний воздушных фильтров представлены в таблицах 3 и 4. В первой серии экспериментов (табл.3) определяли количество модельных вирусов (гриппа H1N1, H5N2 и парагриппа I), оставшееся на каждом фильтре после 1-кратной эксплуатации облучателей при обеззараживании воздуха (в течение 50 мин) в боксовом помещении, в котором предварительно было распылено около $2,0 \times 10^8$ того или иного вируса в виде аэрозоля. Всего было обследовано 6 фильтров. Учитывая, что фильтры обеспечивают фильтрацию частиц размером более 10 мкм, размер частиц вирусного аэрозоля составляет около 1-40 мкм, можно было ожидать, что основная часть вируса при очистке воздушного потока должна оставаться на фильтрах. Остаточное количество вирусов гриппа и парагриппа на фильтрах после 1-кратной 50 минутной обработки помещения было невелико и составляло 3,0-3,5 lg ЭИЕ₅₀ на фильтр независимо от штаммов модельных вирусов и типа облучателей-рециркуляторов. Лишь незначительная часть вируса (менее 0,01%) из прокачиваемого через каждый фильтр объема воздуха задерживается на фильтрах. Следовательно, основная часть вирусов,

Таблица 3.

Количество респираторных вирусов на воздушных фильтрах после 1-кратного обеззараживания воздуха (в течение 50 мин) в помещении облучателями-рециркуляторами ОРУБ-3-3-«КРОНТ» или ОРУБ-3-5-«КРОНТ»

Облучатель	Вирусы на фильтрах	Количество вируса на фильтрах * после 1-кратной обработки ($\lg \text{ЭИЕ}_{50}$)
ОРУБ-3-3-«КРОНТ»	Вирус гриппа человека А (H1N1)	$3,0 \pm 0,3$
	Вирус гриппа птиц А (H5N2)	$3,4 \pm 0,3$
	Вирус парагриппа I животных	$3,1 \pm 0,3$
ОРУБ-3-5-«КРОНТ»	Вирус гриппа человека А (H1N1)	$3,2 \pm 0,3$
	Вирус гриппа птиц А (H5N2)	$3,3 \pm 0,3$
	Вирус парагриппа I животных	$3,5 \pm 0,3$

* - количество того или другого вируса в объеме прокачиваемого воздуха через 1 фильтр составляет около 10^8 ЭИЕ

Таблица 4

Сроки сохранения инфекционных свойств вируса гриппа А (H1N1) на изолированных воздушных фильтрах при температуре 20-25⁰ С

Сроки инкубации (сут) фильтров на воздухе в помещении при температуре 20-25 ⁰ С	Количество вируса на фильтрах	
	$\lg \text{ЭИЕ}_{50}$	%
До инкубации	$6,9 \pm 0,4$	100
1	$3,8 \pm 0,4$	0,1
2	$1,6 \pm 0,5$	0,001
3	0	0
4	0	0
5	0	0

Примечание – распылено на каждый фильтр по 3x7,2 $\lg \text{ЭИЕ}_{50}$ вируса гриппа

попадающих на фильтры в виде аэрозоля, проходит при прокачке воздуха в зону УФ-излучения, где инактивируется.

Как долго и в каком количестве может сохраняться на фильтрах вирус в инфекционной форме? Этот вопрос решали во второй серии экспериментов (табл.4). Выживаемость вируса на фильтрах оценивали после искусственного нанесения на каждый фильтр по $3 \times 10^{7,2}$ ЭИЕ₅₀ вируса гриппа А (H1N1) и последующего хранения изолированных фильтров на воздухе в стерильных условиях при комнатной температуре ($20\text{--}25^{\circ}\text{C}$). Опыты показали, что до инкубации содержание вируса на одном фильтре высокое – $6,9 \text{ lg EIE}_{50}$. После инкубации «загрязненных» фильтров на воздухе в течение 1 сут количество инфекционного вируса на одном фильтре составило $3,8 \text{ lg EIE}_{50}$ ($0,1\%$), через 2 сут выявлены лишь следы вируса – $1,6 \text{ lg EIE}_{50}$ ($0,001\%$). Спустя 3 сут – вирус гриппа в инфекционной форме на фильтрах не был выявлен.

4. Обсуждение

Облучатели-рециркуляторы воздуха ультрафиолетовые бактерицидные ОРУБ-3-3-«КРОНТ» и ОРУБ -3-5-«КРОНТ» эффективно обеззараживают воздух (на 99,0 и 99,9% соответственно) боксового помещения объемом 74 m^3 в течение 50 мин, в котором предварительно распылены высокие концентрации того или другого респираторного вируса в виде аэрозоля. Эффективная очистка воздуха от инфекционных агентов достигалась одинаково хорошо в отношении всех модельных вирусов – гриппа человека А (H1N1), птиц (H5N2) и парагриппа I животных (штамм Сендай – аналог вируса парагриппа I человека). Подобный высокий обеззараживающий эффект испытуемых аппаратов может распространяться и на других представителей семейств орто- и парамиксовирусов. К ним относятся:

чувствительны к воздействию УФ-лучей, то можно ожидать, что облучатели-рециркуляторы будут эффективны и при очистке воздуха в помещении от большинства других вирусов.

Новые модели облучателей впервые оснащены воздушными фильтрами. Выяснилось, что при эксплуатации облучателей в рекомендуемом режиме (50 мин, объем помещения около 70 м³) на фильтрах остается лишь незначительная часть вируса (менее 0,01%) из прокачиваемого объема воздуха с содержанием около 10⁸ ЭИЕ вирусов гриппа или парагриппа. Вирус не долго сохраняется на фильтрах. Уже через 1 сут после искусственного нанесения на фильтры инфекционного материала, содержащего несколько миллионов инфекционных частиц вируса гриппа, на «загрязненных» фильтрах при инкубации на воздухе (20-25⁰C) остается около 0,1% живого вируса. Через 2 сут – лишь следы вируса (0,001%), а спустя 3 сут – живой вирус на фильтре уже не выявляется. Полученные результаты хорошо согласуются с данными литературы о термолабильных свойствах респираторных вирусов и их довольно быстрой гибели на воздухе. Их инфекционные свойства сохраняются в воздухе помещений в течение 2-9 час [3,4].

Как часто следует менять фильтры, исходя из приведенных выше данных? Согласно руководствам по эксплуатации новых аппаратов «рекомендуется производить замену фильтрующего элемента и дезинфекционную обработку корпуса фильтра и защитной решетки не менее 1 раза в месяц» [6,7]. Результаты наших исследований не противоречат этим рекомендациям. Следует учесть и то, что вирусы являются облигатными паразитами и в отличие от других микроорганизмов (бактерий, грибов и др.) не могут размножаться на фильтрах ни при каких условиях. Поэтому наличие вирусов на фильтрах, в отличие от других микроорганизмов, не является определяющим фактором для режима замены фильтров при эксплуатации облучателей-рециркуляторов.

5. Выводы и рекомендации

1. Новые модели облучателей ОРУБ-3-3-«КРОНТ» и ОРУБ -3-5-«КРОНТ» эффективно обеззараживают воздух (99,0 и 99,9% соответственно) воздух боксового помещения объемом 74 м³ в течение 50 мин, в котором предварительно распылены вирусы гриппа человека А (H1N1), птиц (H5N2) или парагриппа I животных с содержанием того или иного вируса в 1 м³ помещения около $3,4 \times 10^6$ ЭИЕ в виде аэрозоля. На воздушных фильтрах задерживается лишь незначительная часть того или иного вируса (менее 0,01%) из прокачиваемого через каждый фильтр вирусодержащего воздуха.

2. Экспериментально подтверждено, что вирус не долго сохраняется на фильтре. Уже через 1 сут после искусственного нанесения на фильтры массивной дозы вируса гриппа и последующей инкубации фильтров на воздухе при 20-25⁰С на них остается около 0,1% живого вируса, через 2 сут – 0,001%, а через 3 сут вирус полностью погибает. Вирусы, будучи obligatными паразитами, не способны к накоплению на фильтрах путем размножения.

3. Результаты проведенных вирусологических исследований не противоречат рекомендациям по эксплуатации новых аппаратов, в которых предусматривается производить замену фильтрующего элемента и дезинфекционную обработку корпуса фильтра защитной решетки не реже 1 раза в месяц.

4. Полученные данные можно экстраполировать на всех представителей семейств ортомиксовирусов и парамиксовирусов, обладающих общими морфологическими, химическими и биологическими свойствами. Известно, что все респираторные вирусы этих семейств высоко чувствительны к воздействию УФ-лучей и быстро погибают в воздухе помещений.

5. Испытанные облучатели-рециркуляторы могут быть использованы для обеззараживания воздуха от вирусов: в лечебно-профилактических, специализированных научных и производственных, социальных

учреждениях (школах, детских садах, интернатах и др.). А также в животноводческих и птицеводческих хозяйствах, ветеринарных лечебницах, зоопарках, вивариях, питомниках и других различных помещениях, в воздухе которых потенциально могут содержаться какие-либо вирусы человека, животных и птиц.

Литература

1. Гаврилов А.А., Репко И.А., Гашинская О.В., Степанова Л.А., Кузнецов О.К. Современные бактерицидные лампы для обеззараживания воздуха в помещении. Главная медицинская сестра, 2006, №10, С.127-131.
2. Оценка эффективности применения облучателя-рециркулятора воздуха ультрафиолетового бактерицидного ОРУБ-03-КРОНТ (ДЕЗАР-4) при комплексной терапии и профилактике гриппа и других острых респираторных вирусных заболеваний. 2005, СПб., ГУ НИИ гриппа РАМН, Отчет. - с.12.
3. Общая и частная вирусология (ред. - Жданов В.М., Гайдамович С.Я.). М. Медицина, 1981. - с.518.
4. Грипп (ред. - Карпухин Г.Н.). СПб. Гиппократ, 2001. – с. 380.
5. Смородинцев А.А., Коровин А.А. Грипп. Л. Медгиз, 1961. - с.272.
6. Руководство по эксплуатации. Облучатели-рециркуляторы воздуха ультрафиолетовые бактерицидные ОРУБ-3-3-«КРОНТ». 2007, ЗАО КРОНТ-М. - с.14
7. Руководство по эксплуатации. Облучатели-рециркуляторы воздуха ультрафиолетовые бактерицидные ОРУБ-3-5-«КРОНТ». 2007, ЗАО КРОНТ-М. - с.14

Руководитель работы и ответственный исполнитель:

д.м.н., профессор, вед. н. сотр.
лаборатории доклинических
испытаний биопрепаратов
ГУ НИИ гриппа РАМН

Кузнецов О.К.

ГУ НИИ гриппа РАМН:

197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 15/17,
тел/факс: (812) 234-92-50, e-mail: kuznetsov@influenza.spb.ru