

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

**Дипломна робота
магістра**

на тему: «Виявлення алохтонних вірусів у медичних стоках та морській воді рекреаційних зон узбережжя Чорного моря»

«Allochtonic detection of viruses in medical wastewater and marine water recreational areas of the Black sea coast»

Виконала: студентка денної форми навчання
спеціальність 8.04010202 Мікробіологія
Коломієць Альона Григорівна

Науковий керівник

кандидат біологічних наук, доцент
Гудзенко Тетяна Василівна

Рецензент:

кандидат біологічних наук, доцент
Гладкій Тетяна Володимирівна.

Рекомендовано до захисту:

Протокол засідання кафедри

№ _____ від «___» _____ 2017 р.

Завідувач кафедри

_____ Філіпова Т.О.
(підпис)

Захищено на засіданні ЕК № 1

Протокол № _____ від «___» _____ р.

Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Голова ЕК

_____ Філіпова Т.О.
(підпис)

Одеса – 2017

АНОТАЦІЯ

Проведено порівняльний аналіз частоти виявлення аллохтонних вірусів, в медичних стоках та морській воді рекреаційних зон узбережжя Чорного моря за період з 2013 по 2017 роки. У дністровській воді, відібраної в районі станції водозабору. Показано, що найбільш часто вірусом гепатиту А були контаміновані води у 2011 р. Завдяки реконструкції очисних споруд та проведеним епідзаходам у 2013-2014 рр. вдалося знизити частоту виявлення вірусу гепатиту А у стічній та питній воді водогінній мережі м.Одеса.

Роботу викладено на 73 сторінках, вона містить 6 таблиць та 7 рисунків. Наведено посилання на 35 джерел літератури (31 – кирилицею та 4 – латиницею).

Ключові слова : *водне середовище, вірус гепатиту А, моніторинг, сезонна динаміка*

Comparative analysis of frequency of detection of antigen of hepatitis A virus in different water sources of the city of Odessa and Odessa region for the period from 2011 to 2014. Installed seasonal dynamics of detection of hepatitis A virus in the Dniester water sampled in the area of the intake station. It is shown that most often the hepatitis A virus had contaminated water in 2011. Due to rehabilitation treatment facilities in 2013-2014 could reduce the incidence of hepatitis A virus in waste water and water supply systems Odessa.

The work contained 73 pages, it contains 6 tables and 7 figures. The link 35 literature sources (31—cyrillic and 4 – latinic).

Keywords : *aquatic environment, hepatitis a virus, monitoring, seasonal dynamics*

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АДВ - аденовіруси
АлАТ - аланінамінотрансфераза
анти-НАV - антитіла до НАV
АсАТ - аспартатамінотрансфераза
АстВ - астровіруси
БР- блок розчин
ВГ - вірусний гепатит
ГА - гепатит А
ДНК - дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕВ- ентеровіруси
ІФА - імуноферментний аналіз
К+ позитивний контрольний зразок
К- негативний контрольний зразок
ПААГ – поліакриламідний гель
ПР – промивний розчин
РВІ - Ротавірусні інфекції
РНК - рибонуклеїнова кислота
РРК - розчин для розведення кон'югата
СБ- субстратний буфер
ХГ - хронічний гепатит
Ag - antigen - антиген
Ig М - імуноглобуліни класу М
Ig G - імуноглобуліни класу G
НАV - вірус ГА (ВГА)

ЗМІСТ

Стор.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ВСТУП.....	
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Загальна характеристика патогенних вірусів.....	
1.2. Загальна характеристика роду <i>Rotavirus</i>	
1.2.1. Патогенез рота вірусів.....	
1.3. Загальна характеристика роду <i>Mastadenovirus</i>	
1.3.1 Патогенез аденовірусів.....	
1.4 Загальна характеристика роду <i>Enterovirus</i>	
1.4.1 Патогенез ентеровірусів.....	
1.5 Загальна характеристика вірусу Гепатита А.....	
1.5.1 Епідеміологія і патогенез вірусного гепатиту А.....	
1.5.2. Клінічні особливості вірусного гепатиту А	
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	
2.1. Відбір та обробка проб води.....	
2.2. Методи концентрації вірусів у пробах води.....	
2.3. Методи дослідження проб води на наявність вірусів.....	
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	
ВИСНОВКИ.....	
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	

ВСТУП

Води поверхневих водойм відкриті для всіх видів контамінації. Забруднення їх мікроорганізмами, що потрапляють зі стічними, талими водами, різко змінює мікробний пейзаж і санітарний режим водойми. Основний шлях мікробного забруднення водойм - потрапляння неочищених міських відходів і стічних вод в довколишні озера, ставки, річки. При паводках, розливах річок, повені або сильних зливах можливе переповнення колодязів, джерел і потрапляння в них стічних вод [Климентьев, 2009].

Останнім часом в водоймах установлена висока чисельність вірусних частинок і їх велика значимість у функціонуванні водних екосистем. Слід зазначити, що довгий час вивчення вірусів в гідросфері зводиться до дослідження алохтонних вірусів, поступачих в водойми ззовні [Мариевский, 2007].

Досить сказати, що гепатит А, ентеровірусні інфекції, ротавірус, вірус норфолк, лихоманка західного Нілу і ряд інших вірусних захворювань людини і тварин практично безпосередньо пов'язані з станом екосистем гідросфери [Зубкова, 2004, Мокиенко, 2008].

Серед алохтонних вірусів гідросфери найбільше значення мають патогенні віруси людини [Андрійчук, 2014]. Забруднення цими вірусами води, донних відкладень, гідробіонтів призводить до спалахів захворювань та епідемій. І хоча кількість вірусних часток у стоках набагато менше вмісту токсичних хімічних речовин, ступінь їх небезпеки для людини набагато вище [Климентьев, 2009].

Відомо більше як 100 типів патогенних бактерій, вірусів та найпростіших, які можуть тривалий час зберігати вірулентність у воді та при певних умовах викликати не тільки локальні, а й епідемічні спалахи інфекційних захворювань. Однак тільки деякі віруси є епідемічно значущими які передаються через воду такими є: ентеровіруси (ЕВ), аденовіруси (АДВ),

ротавіруси (РВ), вірус гепатиту А (ВГА), реовіруси (Рев), норовіруси (НВ) і астровіруси (АстВ) [Мокиєнко, 2008].

Небезпека зараження останніми особливо велика, якщо в водойми потрапляють недостатньо знезаражені стічні води інфекційних лікарень. Контамінація води водойм відбувається також при купанні людей, худоби і прання білизни [Зубкова, 2004].

Морська вода може бути забруднена вірусами при скиді каналізаційних вод. Патогенні для людини ентеровіруси можуть зберігатися досить довго у воді. Тому метою нашої роботи було виявлення маркерів аллохтонних – патогенних для людини вірусів у медичних сточних та рекреаційних зон узбережжя Чорного моря [Горшкова, 2017].

Метою цієї роботи було виявлення аллохтонних вірусів, в медичних стоках та морській воді рекреаційних зон узбережжя Чорного моря у період з 2011 по 2017 роки.

В задачі досліджень входило:

- виявлення аллохтонних вірусів у морській воді;
- визначення сезонної динаміки частоти виявлення аллохтонних вірусів;
- порівняльний аналіз частоти виявлення аллохтонних вірусів та санітарно-показових мікроорганізмів у морській воді рекреаційних зон узбережжя Чорного моря та в медичних стоках.

Об'єкт дослідження – вірусне забруднення водного середовища.

Предмет дослідження – частота виявлення аллохтонних вірусів у медичних стоках та морській воді узбережжя Чорного моря.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Проблема якості води потребує особливої уваги спеціалістів, відповідальних за охорону населення і захисту навколишнього середовища.

Це обумовлене не тільки постійним виявленням інтенсивного забруднення водних джерел шкідливими компонентами хімічної і біологічної природи, кількість яких постійно зростає, але і багато численними даними про шкоду, що завдає населенню – використання недоброякісної питної води.

Під час виконання дипломної роботи було відібрано 5375 проб із водних об'єктів, у 134 пробах води був виявлений вірус гепатиту А, що становило 2,5% .

Питна вода забруднюється в результаті скидань недостатньо очищених вод у відкриті водойми, які використовуються для забору питної водою.

В великій кількості вода відкритих водойм забруднена відходами стічних вод промислових підприємств та побутових стічних вод, режим очистки яких не завжди відповідає санітарним нормам. І у зв'язку з чим збільшується інфікування населення при використанні такої води. Методи знезараження, які використовують на очисних спорудах водопроводу, недостатньо ефективні до ВГА так як вірус являється стійким до дії фізичних і хімічних факторів. У воді вірус гепатиту А зберігається 30 – 40 діб, а в фекаліях – 10 діб [Ананьєв, 1982].

Результати наших досліджень з санітарно-вірусологічного аналізу водних об'єктів Одеської області за 2011-2014 рр. показав виразну варіабельність частоти виділення вірусу гепатиту А для різних водних об'єктів. Найбільший відсоток вірусконтамінованих проб був характерний для стічних вод м. Одеса – з 705 проб досліджених проб стічної 23 було контаміновано вірусом гепатиту А, що становить 3,3 %. Однак, частота виявлення вірусу гепатиту А у стічних водах м. Одеса щорічно знижалася – з 7,1 % у 2011 р. до 0 % у 2014 р. Така ситуація може бути пов'язана з тим, що очищенню стічних вод у місті Одесі почали приділяти велику увагу з 2012 р.

У інфекційній лікарні у 2013 р. були модернізовані очисні спорудження, що призвело до покращення якості очищення стічних вод.

Середній показник частоти виявлення вірусу гепатиту А у 2011-2014 році у морській воді складав 2,9 %. За три роки проведення досліджень вірус гепатиту А був виявлений в 4 пробах з 140 досліджених. Максимальний показник (4,1 %) частоти виявлення цього антропонозного вірусу у морській воді реєструвався у 2011 р. У 2012 р. цей показник знизився до 3,8 %, а у 2013 році до нуля. Цьому могли сприяти різні чинники: покращення якості очищення стічних вод, покращення епідситуації. У 2014 році частота виявлення вірусу гепатиту А у морській воді становила 3,4 %, що було практично на рівні 2012 р., але у 1,2 рази менше, у порівнянні з 2011 роком.

Було досліджено 494 проби прісної води відкритих водойм, у тому числі річкової води Дунаю, Турунчуку, Дністру та озерної води. У 20 пробах був виявлений вірус гепатиту А, що складало 4,1 %. Отримані нами дані мають дуже важливе значення, тому що свідчать про епідеміологічну небезпеку виникнення епідспалаху гепатиту А, тому що серед 494 досліджених проб прісної води було 215 проб води річки Дністер, відібраної в районі станції водозабору, 5 з них було контаміновано вірусом гепатиту А. Вода річки Дністер, що надходить в міський водопровід, протягом усього періоду спостереження не містила вірус гепатиту А, однак у літні місяці – з червня по серпень у окремих пробах води з водозабору був виявлений вірус гепатиту А, що свідчить про сезонну динаміку виявлення вірусу гепатиту у водному середовищі.

Вивчення частоти виділення вірусу гепатиту А з водогінної мережі міста Одеси показало, що максимальна частота виявлення вірусконтамінованих проб реєструвалася у 2011 р. – 4,3 %, в 2012 р. цей показник знизився до 0,5%, що можливо пов'язано з реконструкцією міських очисних споруд. Високий показник (1,7%) частоти виділення вірусу гепатиту А з водогінної мережі міста Одеси у 2013 р. ми можемо пояснити

епідспалахом захворюваності на гепатит А. Завдяки проведеним ефективним протиепідемічним заходам у 2014 р. вірус гепатиту А у питній воді водогінній мережі м. Одеса виявлений не був.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать про те, що якість питної води, води відкритих водоймищ, стічної води в цілому покращується, що являється результатом ефективності роботи очисних споруд та своєчасно проведеним епідзаходам.

ВИСНОВКИ

1. Найбільш часто вірусом гепатиту А контамінована прісна вода відкритих водоймищ - 4,0 %, на другому місці стічні води – 3,3 %, на третьому морська вода – 2,9 %, на четвертому місці питна вода – 2,2%.

2. Встановлено сезонну динаміку виявлення вірусу гепатиту А у водному середовищі – вода річки Дністер, що надходить в міський водопровід, була контамінована у літні місяці – з червня по серпень. Частота виявлення вірусу гепатиту А складала у червні 5,5 %, у липні показник збільшився до 9,5 %, а в серпні – до 10,5 %.

3. Частота виявлення вірусу гепатиту А у стічних водах м. Одеса щорічно знижалася – з 7,1 % у 2011 р. до 0 % у 2014 р, у морської воді теж мала місце тенденція до зниження. Щорічна динаміка виявлення вірусу гепатиту А у прісній воді відкритих водоймищ Одеської області та питній воді м. Одеса у 2011 – 2014 мала нерівномірний характер.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Альтштейн А. Д., Быковский А.Ф., Букринская А. Г.* Общая и частная вірусологія. – М.: Медицина, 1982. – 433 с.
2. *Андрійчук О.М., Г. В. Коротєєва Г. В., О. В. Молчанець, О. В.* Вірусні інфекції людини та тварин: епідеміологія, патогенез, особливості противірусного імунітету, терапія та профілактика: навч. посіб. - К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2014. – 415 с.
3. *Ананьев В. А.* Вирусные гепатиты Общая и частная вирусология под ред. В. М. Жданова, С. Я. Гайдамович. – М.: Медицина, 1982.– Т.2. – С. 488 – 515.
4. *Анцупова А.С.,Альтова Е.Е., Залеских А.Ф. и др.* Материалы к эпидемиологии ротавирусной инфекции. //Журн. микробиол.– 1988.– №5.– С. 34– 37.
5. *Горшкова О.Г., Волювач О.В., Молодіт О.В., Коломиец А.Г., Бебик В.В., Лаговская Л.С., Хаджи В.Д.* Санітарно-мікробіологічні і вірусологічні дослідження морської води у рекреаційних зонах чорноморського узбережжя // Материалы междунар. Конф. Новости передовой науки - 2017. – 15-22 мая 2017, София, Болгария – Т. 9. – С. 13-15.
6. *Гураль А.Л.* Особенности вирусных гепатитов А и В на современном этапе // Здоров'я України. – 2004. – №89. – С. 5 – 8.
7. *Дроздов С. Г., Покровський В. І., Шекоян Л. А., Машілов В. П.* та ін ротавірусний гастроентерит. М., 1982.
8. *Балаян М. С., Михайлов М. И.* Энциклопедический словарь – вирусные гепатиты. – М.: Новая слобода, 1994. – С.64 – 68.
9. *Балаян М. С.* Гепатит А: вчера, сегодня, завтра // Медицина для всех. – 1999.– Т.2, № 13. – С. 22–25.
10. *Берглезова Л.Н., Солодовников Ю.П., Темкина А.А. и др.* Ротавирусный гастроентерит: тайна зимней сезонности. //Материалы Всероссийск.

- съезда эпидемиол., микробиол. и паразитол., Москва, 26 – 28 марта. – 2002. – Т.1. – С. 11 – 12.
11. *Бережнова И. А.* Инфекционные болезни. Учебное пособие. – М.: РИОР, 2007. – 319 с.
12. *Блюгер А. Ф.* Вирусные гепатиты. – Рига: Зинатне, 1978. – С. 23.
13. *Булавка Л.В., Бондаренко В.И., Задорожня В.И., Дзюблик І.В. та ін.* Роль докiлля у розповсюдженнi ротавiрусної iнфекцiї. //Докiлля та здоров'я. – 2002. – №2. – С. 35 – 38.
14. *Букринская А. Г., Кицак В. Я., Федорова Ю. Б., Бабенко В. А.* Возбудители вирусных гепатитов: Учебное пособие. – М.: ЦОЛИУВ, 1986. – 36 с.
15. *Букринская А.Г., Грачева Н.М., Васильева В.И.* Ротавирусная инфекция (этиология, клиника, диагностика, эпидемиология). М.: Медицина, 1989. – 224 с.
16. *Васильев Б.Я., Васильева Р.И., Лозбин Ю.В.* Острые кишечные заболевания. Ротавирусы и ротавирусная инфекция. – СПб.: Изд."Лань", 2000. – 272 с.
17. *Возіанова Ж.І.* Інфекційні і паразитарні хвороби // Здоров'я. – 2001. – Т. 1. – 856 с.
18. *Воробьева А. А., Быкова А. С.* Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – М.: Медицинское информационное агенство, 2003. – 236 с.
19. *Дзюблик І.В.* Ротавірусна інфекція: //Навч.-метод. посiбник для лiкарiв // – К.: Олпрiнт, 2004. – 116 с.
20. *Зубкова Н .Л., Кракович А. В., Василенко В. В.* Питна вода як фактор передачі збудникiв iнфекцiйних хвороб // Вода і водоочисні технології. – 2004. – № 1. – С. 33 – 37.
21. *Климентьев И.Н.* Эпидемическое значение питьевой воды. – М.: Медицина, 2009. – С. 73 – 76.

22. *Козишкурт Е.В.* Эпидемиология вирусного гепатита А в современных урбоэкологических комплексах / Матеріали наук-практ. конф., присвяченої 100-річчю кафедри загальної гігієни Одеського ДМУ (1903-2003 рр.). – Одеса: Чорномор'я, 2003. – С. 300 – 303.
23. *Корчак Г.И.* Качество воды и заболеваемость вирусным гепатитом А // Матеріали наук.-практ. конф. Міжнар. водного форуму АКВА УКРАЇНА-2003. Київ, 4 – 6 листопада 2003 р. — К., 2003. – С. 218 – 219.
24. *Коломієц А.Г., Гудзенко Т.В.* Виявлення алохтонних вірусів у медичних стоках та морській воді Чорного моря // Сборник докладов на ежегодной студенческой конференции, кружках и заседаниях **научного** общества в 2017 году. – Одеса, ОНУ, 2017.- С.
25. *Комаров Ф. И., Гребенев А. Л.* Руководство по гастроэнтерологии. – Том 2. – М.: Медицина, 1995. – 528 с.
26. *Коротяев А. И., Бабичев С. А.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2008. – 723 с.
27. *Майер К.-П.* Гепатит и последствия гепатита. – М.: ГЭОТАР МДИЦИНА, 1999. – 432 с.
28. *Мариевский В.Ф.* Вода как фактор риска вирусных инфекций // Вода і водоочисні технології. – 2007. № 2. – С. 50–54.
29. *Максимчук М.М.* Стан здійснення державного санепіднагляду за харчовими об'єктами в Укр аїні. Матеріали семінару з актуальних питань щодо здійснення держсанепіднагляду за харчовими об'єктами. МОЗ України. – Луцьк, 28 – 30 березня 2004 р. – С. 9 – 25.
30. *Михайлова А.М., Мінков І.П., Гайдей В.Р. та ін.* Аналіз епідемічного спалаху ротавірусної інфекції у дітей в Одеському регіоні взимку 2001 року. //Одеський мед.ж. – 2001. – №6. – С. 101–103.
31. *Мокиєнко А.В., Гоженко А.И.* Вода и водно обусловленные инфекции. Т. 2.— Одеса: РА "АРТ-В", 2008. – 288 с.

32. *Нагоев Б. С.* Острые и хронические вирусные гепатиты. – Нальчик: Эльбус, 2006. – 228 с.
33. *Нагоев Б. С.* Вирусные гепатиты А и Е: Учебно-методическое пособие. – Нальчик: Каб.-ун-т, 2003. – 51 с.
34. *Подымова С.Д.* Болезни печени: руководство.— 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 768 с.
35. *Прозоркина Н. В. Рубашкина П. А.* Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии. – М.: WORD, 2006. – 384 с.
36. *Порохніцкий В.Г.* Вірусні гепатити від А до Я. – Київ: Наукова думка, 2006. – 191 с.
37. *Радченко В.Г., Шабров А.В., Нечаев В.В.* Хронические заболевания печени. – СПб: Лань, 2000. с190 с.
38. *Романенко В. Ф.* Инфекционные желудочно-кишечные болезни свиней / М.: "Колос", – 1984.– С.65–70.
39. *Сенчук А. Я.* Перинатальные инфекции.– М.: Медицинское информационное агентство, 2005. – 161 с.
40. *Сергеев В.А.* Вирусные вакцины / К.: Урожай, – 1993.– С.315– 316.
41. *Солдаткин П.К., Лоевец И.А., Гаврилов В.П.* Ретроспективный анализ вспышек ротавирусной инфекции в школе-интернате. //Актуальн. вопр. инфекц. патологии. – 2000. – №4. – С. 22 – 23.
42. *Солодовников Ю.П., Нечипоренко Н.Г., Трезуб А.В. и др.* К эпидемиологии ротавирусного гастроэнтерита. //Журн. микробиол.,эпидемиол. – 1989. – №10. – С. 43 – 48.
43. *Солонина О.М.* Епідеміологія та профілактика гепатиту на сучасному етапі // Інфекційні хвороби. – 2002 .– №1.– С. 51– 55.
44. *Тітова М.Б.* Інфекційні хвороби. /За ред. – К.: Вища шк., 1995. – 567 с.

45. Учайкин В.Ф., Талалаев А.Г., Новикова А.В. и др. Роль ротавирусов в хронической гастроэнтерологической патологии у детей. // Детские инфекции. – 2003. – № 1. – С. 10 – 12.
46. Фролов А.Ф. Вирусный гепатит А (диагностика, лечение, профилактика). Информационно-методические материалы для врачей – инфекционистов, терапевтов, педиатров. – Луганск: ЛМУ, 2003. – 27 с.
47. Чуланов В.П., Пименов Н.Н., Карандашова И.В., Комарова С.В. Современные особенности эпидемического процесса гепатита А в России и странах Европы, определяющие стратегии его профилактики // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. – № 3. – С. 28 – 34.
48. Юшук Н. Д., Царегородцев А. Д. Лекції з інфекційних хвороб. М., – 1996
49. Шубладзе А. К., Баринский И. Ф. Этиология вирусных гепатитов. – М.: Медицина, 1998. – 448 с.
50. Яровой К. И. Вирусный гепатит. – Кишинев: Штиинца, 1990. – С. 136.
51. Barzaga B. N. Hepatitis A shifting epidemiology // Vaccine. – 2000. – №3. – P. 18 – 20.
52. Clemens R. Clinical experience with an inactivated hepatitis vaccine // Journal of infectious Diseases. – 1995. – №1. – P. 171 – 187.
53. Mauss S. Hepatology 2012. – Clinical Textbook. Flying Publisher, 2012. – 547 p.
54. Fauquet C.M. Taxonomy of Viruses /– New-Jork, San Diego: Academic Press. 2005. – P.657 – 673.
55. Miller W. H., Holland P. V. Clinic transfusion hepatitis B // Haematologica. – 2005. – № 42. – P. 1 – 58.
56. Ramos Ana Paulo., Stefaneli Carla Cristina., Carvalho Lingares Rosa Elisa et all. The stability of porcine rotavirus in feces. // Vet. Microbiol. – 2000. – 71. – №1– 2. – P. 1– 8.
57. Tan S.W., Yap K.L., Lee H.L. Mechanical transport of rotavirus by the legs and

wings of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). //J. Med. Entomol. – 1997.
– 34. – №5. – P. 527 – 531.