

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор  
ФГБУ ФНИЦЭМ  
им.Н.Ф.Гамалеи  
Минздрава России



Академик РАН А.Л.Гицбург

2015 г.


М.П.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ ПО ДОГОВОРУ № 06/11/14

**«Научно-методическое обоснование микробиологической безопасности  
снижения температуры горячей воды в системах водоснабжения  
закрытого типа».**

Руководитель темы

 И.С.Тартаковский

“ ” \_\_\_\_\_ 2015г.

Москва 2015

## Список исполнителей

Руководитель темы  
зав. лаборатории  
д.б.н., профессор



---

подпись, дата

И.С.Гартаковский

Ст.научный сотрудник  
к.б.н



---

Подпись, дата

Т.И. Карпова

Научный сотрудник  
к.м.н.



---

Подпись, дата

Ю.Е.Дронина

Мл.научный сотрудник




---

Подпись, дата

О.В.Мариненко

Доцент,к.м.н.



---

Подпись, дата

О.А.Груздева

## 2.Реферат.

**Настоящий отчет представлен в объеме 48 страниц, 12 таблиц.**

**Системы водоснабжения закрытого типа, температура воды, легионеллы, общее число микроорганизмов, микробиологическая безопасность, профилактика.**

В работе проведен анализ состояния проблемы микробиологической безопасности при эксплуатации систем горячего водоснабжения в Российской Федерации и за рубежом. Анализ различных методических подходов к обеспечению микробиологической безопасности эксплуатации систем горячего водоснабжения закрытого типа у нас в стране и за рубежом, данные об уровне контаминации горячей воды централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения легионеллами в России, результаты экспериментальных исследований влияния температуры воды на жизнеспособность микроорганизмов позволяют рекомендовать в качестве оптимального энергосберегающего температурного режима температуру воды не ниже 50°C и не выше 60°C. Эксплуатация данного типа систем при температуре не менее 50°C должна сопровождаться комплексом профилактических мероприятий, включающих периодическое (не реже 1 раза в квартал) краткосрочное профилактическое повышение температуры воды в системе до уровня не менее 70°C и регулярное лабораторно-инструментальное количественное исследование горячей воды на легионеллы с центральных тепловых пунктов. При превышении допустимого уровня концентрации легионелл в системе (более 10<sup>3</sup> КОЕ на литр), а также при запуске систем горячего водоснабжения на новых объектах, после проведения ремонтных работ или возникновения аварийных ситуаций необходимо поддерживать температуру на уровне 70°C в течение 48 часов.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	Стр. 5
Основная часть	Стр. 7
1. Анализ состояния проблемы микробиологической безопасности при эксплуатации систем горячего водоснабжения в Российской Федерации и за рубежом.	Стр. 7
2. Рекомендуемые значения для оценки уровня микробиологической безопасности систем водоснабжения.	Стр. 26
3. Экспериментальное исследование влияния температуры на жизнеспособность легионелл и других микроорганизмов в водной среде.	Стр. 29
<b>3.1</b> Материалы и методы	Стр. 29
3.2. Влияние температуры воды на планктонные формы легионелл и других микроорганизмов.	Стр. 35
3.3. Влияние температуры воды на биопленки легионелл.	Стр. 40
3.4. Выбор профилактического температурного режима при эксплуатации систем горячего водоснабжения.	Стр. 41
Заключение	Стр. 43
Список литературы	Стр. 45



## Введение

Вопросам эпидемиологической, микробиологической и химической безопасности систем горячего водоснабжения в Российской Федерации уделяется существенное внимание. Действующие в рамках Государственного санитарно-эпидемиологического нормирования документы (Питьевая вода и водоснабжение населенных мест питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения СанПиН 2.1.4.1074-01; Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения. Изменение к СанПиН 2.1.4.1074-01, СанПиН 2.1.4.2496-09; Санитарно-эпидемиологические требования к условиям проживания в жилых зданиях и помещениях СанПиН 2.1.2.2645-10) призваны обеспечить безопасную для населения эксплуатацию систем горячего водоснабжения.

В качестве позитивного фактора следует отметить включение в число упомянутых в данных документах микробиологических факторов риска *Legionella pneumophila* – водного микроорганизма, способного вызвать эпидемические вспышки тяжелых пневмоний, и отсутствовавшего в перечне микробиологических факторов риска в более ранних редакциях документов по безопасности горячего водоснабжения. Во многом этому способствовали результаты эпидемиологического расследования эпидемической вспышки легионеллеза в Верхней Пышме в 2007 году, свидетельствовавшие о высоком уровне контаминации системы горячего водоснабжения легионеллами в

качестве причины возникновения вспышки, а также анализ зарубежных данных о системе горячего водоснабжения в качестве источника распространения легионелл. Так, по данным Европейской рабочей группы по легионеллезу (EWGLI) с 2002 по 2007 годы в европейских странах зарегистрировано 215 вспышек и групповых случаев легионеллеза, связанных с превышением допустимого уровня легионелл в системе горячего водоснабжения.

Вместе с тем необходимо отметить целесообразность разработки комплексной, эффективной и рациональной стратегии обеспечения микробиологической безопасности эксплуатации систем горячего водоснабжения в нашей стране с учетом собственных научных разработок и зарубежного опыта. Лишь формальное упоминание об опасности легионелл и априори выбранный «нерегулируемый температурный режим» в ныне действующих документах, обеспечивающих безопасность систем горячего водоснабжения, в настоящее время не позволяет разработать такую стратегию. Целью настоящей НИР является выбор научно-обоснованного подхода к определению профилактического температурного режима воды при эксплуатации систем горячего водоснабжения закрытого типа.

## **Основная часть.**

### **1. Анализ состояния проблемы микробиологической безопасности при эксплуатации систем горячего водоснабжения в Российской Федерации и за рубежом**

В настоящее время в Российской Федерации для нужд потребителей используют 2 основных типа систем горячего водоснабжения, зависящих от принятых систем теплоснабжения:

А) Открытые системы теплоснабжения – системы, в которых происходит водоразбор горячей воды для нужд потребителя непосредственно из теплосети. При этом водоразбор может быть частичным или полным. Оставшаяся в системе горячая вода используется для отопления и вентиляции. Расход воды в теплосети при этом компенсируется дополнительным количеством воды, подающимся в тепловую сеть. Основное преимущество открытой системы теплоснабжения – ее экономическая выгода. В советский период примерно 50% всех систем теплоснабжения были открытого типа.

Недостатков у такой системы несколько. Прежде всего - невысокое качество воды по органолептическим и химическим показателям. Отопительные приборы, трубопроводные сети придают воде цветность, запах, появляются различные примеси, бактерии. Для очистки воды в открытой системе применяются различные методы, но их использование снижает экономический эффект.

Б) Закрытые системы теплоснабжения – системы, в которых



циркулирующая в трубопроводе вода используется только как теплоноситель и не забирается из теплосети для обеспечения горячего водоснабжения. В настоящее время более 60% систем теплоснабжения в России относятся к данному типу. Система в этом случае полностью закрыта от окружающей среды. В такой системе возможна незначительная утечка теплоносителя. Потери воды восполняются с помощью регулятора подпитки автоматически. Подача тепла в закрытой системе теплоснабжения регулируется централизованно, при этом количество теплоносителя (воды) остается в системе неизменным, а расход тепла зависит от температуры циркулирующего теплоносителя. В закрытых системах теплоснабжения, как правило, используются возможности тепловых пунктов. К ним поступает теплоноситель от поставщика теплоэнергии (ТЭЦ, например), а центральные тепловые пункты районов регулируют температуру теплоносителя до необходимой величины для нужд отопления и горячего водоснабжения, и распределяют потребителю.

Преимущества закрытой системы теплоснабжения - высокое качество горячего водоснабжения, энергосберегающий эффект. Недостаток – сложности водоподготовки из-за удаленности тепловых пунктов друг от друга.

Микробиологическая безопасность системы горячего водоснабжения в настоящее время независимо от ее типа регулируется следующими документами системы санитарно-гигиенического нормирования в Российской Федерации:

- Питьевая вода и водоснабжение населенных мест. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения СанПиН 2.1.4.1074-01;

- Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения, изменение к СанПиН 2.1.4.1074-01, СанПиН 2.1.4.2496-09;

-Санитарно-эпидемиологические требования к условиям проживания в жилых зданиях и помещениях СанПиН 2.1.2.2645-10.

Безопасность питьевой воды в эпидемическом отношении определяется ее соответствием нормативам по микробиологическим и паразитологическим показателям, представленным в таблице 1 (СанПиН 2.1.4.1074-01).

**Таблица 1**

Показатели	Единицы измерения	Нормативы
Термотолерантные колиформные бактерии	Число бактерий в 100 мл <1>	Отсутствие
Общие колиформные бактерии <2>	Число бактерий в 100 мл <1>	Отсутствие
Общее микробное число <2>	Число образующих колонии бактерий в 1 мл	Не более 50
Колифаги<3>	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 мл	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий<4>	Число спор в 20 мл	Отсутствие
Цисты лямблий <3>	Число цист в 50 л	Отсутствие



Данные микроорганизмы являются санитарно-показательными, отсутствие которых наряду с допустимым значением ОМЧ в питьевой воде позволяет рассматривать эту воду как микробиологически безопасную.

В новой (не утвержденной на декабрь 2014 года) редакции этого СанПиН перечень микробиологических показателей несколько расширен (Таблица 2).

**Таблица 2**

Показатели	Единицы измерения	Нормативы
Кишечная палочка ( <i>E.coli</i> )	Число бактерий (КОЕ) в 100 мл <sup>1)</sup>	Отсутствие
Колиформные бактерии <sup>2)3)</sup>	Число бактерий (КОЕ) в 100 мл <sup>1)</sup>	Отсутствие
Общее микробное число (ОМЧ)  - перед поступлением в распределительную сеть  -- в распределительной сети <sup>2)</sup>	Число бактерий (КОЕ) в 1 мл  -- « --	Не более 10 Не более 50
Колифаги	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 мл <sup>1)</sup>	Отсутствие
Энтерококки	Число бактерий (КОЕ) в 100 мл	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий <sup>4)</sup>	Число спор в 20 мл	Отсутствие
Цисты лямблий и ооцисты криптоспоридий <sup>5)</sup>	Число цист (ооцист) в 50 л	Отсутствие

Примечания:

- 1) - При определении проводят трехкратное исследование по 100 мл отобранной пробы воды.
- 2) - Превышение норматива не допускается в 95 % проб, отбираемых в точках водоразбора наружной и внутренней водопроводной сети в течение 12 месяцев, при количестве исследуемых проб не менее 100 за год.
- 3) - При отсутствии роста колиформных бактерий, но наличии роста оксидазоотрицательных бактерий, проводят определение их принадлежности к бактериям семейства *Enterobacteriaceae* по ферментации глюкозы; при обнаружении роста оксидазоположительных бактерий проводят определение показателя *Pseudomonas aeruginosa* и устанавливают «наличие-отсутствие» этих бактерий в исследованной пробе воды.
- 4) - Определение проводят при оценке эффективности технологии обработки воды.
- 5) - Определение проводят в системах водоснабжения из поверхностных источников и подземных источников, имеющих гидравлическую связь с поверхностными водами, а также из незащищённых подземных водоносных горизонтов перед подачей воды в распределительную сеть.

При превышении допустимых значений показателя ОМЧ и (или) обнаружении в питьевой воде в повторно взятых пробах *E.coli* и (или) энтерококков, и (или) колифагов, и (или) более 2 КОЕ/100 мл колиформных бактерий проект документа рекомендует проводить исследование проб воды на установление «наличия-отсутствия» возбудителей инфекционных заболеваний, передающихся водным путём: патогенные и условно-патогенные бактерии (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Legionella pneumophila*,

*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Campilobacter* и др.), вирусы (энтеровирусы, вирус гепатита А, ротавирус, аденовирусы, норволк вирус и др.) и простейшие (цисты лямблий и ооцисты криптоспоридий) с учетом эпидемической ситуации в регионе.

Предлагаемый подход имеет существенный недостаток, так как расширение количества показателей носит формальный характер без учета различий между: А) санитарно-показательными микроорганизмами – индикаторами общего санитарно-эпидемиологического состояния системы водоснабжения;

Б) бактериями и вирусами - возбудителями опасных кишечных инфекций, присутствие которых в системе водоснабжения недопустимо и является грубым нарушением режима эксплуатации объекта;

В) природными водными микроорганизмами, чье присутствие в системе допустимо (*Legionella pneumophila* и в гораздо меньшей степени *Pseudomonas aeruginosa*), но высокая концентрация которых может привести к тяжелым инфекционным заболеваниям у населения при наличии факторов риска.

Все приведенные микробиологические показатели относятся к питьевой воде и практически не затрагивают вопросы горячего водоснабжения. Хотя температура воды является наиболее значимым фактором с позиций микробиологической безопасности водоснабжения, так как изменение температуры воды может способствовать как активному



размножению патогенных микроорганизмов, так и полной элиминации микроорганизмов из системы водоснабжения. Данный аспект проблемы отражен практически в двух пунктах «Гигиенических требований к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения. Изменение к СанПиН 2.1.4.1074-01, СанПиН 2.1.4.2496-09:

«п.2.3. Санитарно-эпидемиологические требования к системам горячего централизованного водоснабжения направлены на:

- предупреждение загрязнения горячей воды высоко контагиозными инфекционными возбудителями вирусного и бактериального происхождения, которые могут размножаться при температуре ниже 60°C, в их числе *Legionella pneumophila*;

П.2.4. Температура горячей воды в местах водоразбора независимо от применяемой системы теплоснабжения должна быть не ниже 60°C и не выше 75°C».

Таким образом, вышеупомянутые два пункта СанПиНа являются в настоящее время единственными инструментами обеспечения микробиологической безопасности температуры горячей воды в системах горячего водоснабжения. Именно эти пункты и послужили основанием для изменения допустимой температуры горячей воды в системах закрытого типа с 50°C до 60° С (Постановление Правительства Российской Федерации от 6 мая 2011г. №354 «О предоставлении коммунальных услуг собственникам и пользователям помещений в многоквартирных домах и жилых домов (в ред. постановлений Правительства РФ от 04.05.2012 №442, от 27.08.2012 №857, с

изм., внесенными определением Верховного суда РФ от 19.03.2013 №апл13-82) во изменение ранее действовавшего постановления Правительства Российской Федерации №307 от 23.05 2006 «О порядке предоставления коммунальных услуг гражданам» Приложение №1 «К правилам предоставления услуг гражданам» пункт 5: Обеспечение температуры горячей воды в точке разбора: не менее 60<sup>0</sup>С - для открытых систем централизованного теплоснабжения; не менее 50<sup>0</sup>С - для закрытых систем теплоснабжения; не более 75<sup>0</sup>С - для любых систем теплоснабжения.

Очевидно, что в основу внесенных изменений в уровень допустимой температуры воды для систем горячего водоснабжения закрытого типа легла необходимость профилактики инфекционных заболеваний и, прежде всего, легионеллезной инфекции.

В этой связи представляется целесообразным проанализировать стратегию профилактики легионеллезной инфекции для систем горячего водоснабжения за рубежом, где соответствующие подходы начали разрабатывать с середины 80ых годов прошлого века и в настоящее время профилактические меры в отношении легионелл являются обязательным элементом безопасной эксплуатации систем горячего водоснабжения и других потенциально опасных водных систем.

Легионелла – естественный обитатель природных пресноводных водоемов, способный к существованию в самом широком диапазоне условий внешней среды. Экологические исследования на базе современных методов показали, что культуру *Legionella spp.* можно выделить из 40% пресных



водоемов, а в 80% водоемов легионеллы выявляют методом ПЦР.

Температурный фактор является важнейшим в экологии легионелл и эпидемиологии легионеллезной инфекции. Легионеллы выделяют из систем горячего водоснабжения при температуре порядка 66°C и при 70°C из природной воды, но при температуре более 70°C выделить легионеллы не удавалось. Легионеллы способны выделять CO<sub>2</sub> при 51,6 °C, подтверждая активность ряда ферментных систем микроорганизма при этой температуре. Yee&Wadowsky показали, что в природе легионеллы активно размножаются при температуре от 25°C до 45°C, а оптимум лежит между 37 и 42°C. Этот температурный диапазон соответствует температурному режиму эксплуатации джакузи и спа-бассейнов. Аналогичную температуру достаточно часто выявляют в застойных участках системы горячего водоснабжения или в воде, циркулирующей в градирне.

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. Необходимо отметить, что основные типы потенциально опасных водных систем (градирни, джакузи, система горячего водоснабжения) и до открытия легионелл рассматривались как объекты, подлежащие дезинфекции, хотя и не всегда в основе

дезинфекционных мероприятий лежала забота о здоровье людей. Так, дезинфекцию оборотной воды градирен промышленных предприятий проводили для предотвращения «микробного зарастания» циркулирующей теплой воды, что в свою очередь снижало эффективность охлаждения производственного процесса.

К концу 90ых годов прошлого века для борьбы с легионеллами был апробирован достаточно широкий спектр химических агентов и физических факторов и были сформулированы основные подходы к профилактике легионеллеза, сохраняющие значение до настоящего времени (таблица 3).

Контроль температуры воды в системе горячего водоснабжения является важнейшим компонентом их безопасной эксплуатации в отношении легионелл. В большинстве Европейских стран и США максимальная температура горячей воды в системе водоснабжения в процессе эксплуатации не превышает 55°C. Данная температура инактивирует около 90% планктонных клеток *L. pneumophila* в модельных системах. Однако, в обычных водопроводных системах с учетом образования биопленок на поверхности труб и другого водопроводного оборудования; наличии ила, ржавчины и других отложений данный уровень температуры не достаточен для эффективного обеззараживания системы. В этом случае рекомендуется периодическое краткосрочное повышение температуры до 70-80°C (термический шок). Данная температура приводит к полной элиминации планктонных форм легионелл из системы водоснабжения. Тем не менее, практический опыт свидетельствует, что если термический шок не

сопровождается дополнительным использованием химических препаратов, возможна повторная колонизация системы легионеллами, которые, по всей видимости, сохранились в составе биопленок или «deadlegs». Современное водопроводное оборудование импортного производства не рассчитано на постоянную эксплуатацию при температуре выше 60°C, но выдерживает краткосрочное прогревание.

Постоянное применение гипохлорита натрия или кальция при концентрации свободного хлора 1-2 мг/л используется для контроля легионелл в системах горячего водоснабжения. Эффективность действия препарата зависит от качества воды, прежде всего рН (быстро снижается при значениях рН около 7), скорости потока воды и количества биопленок в системе. Длительное применение хлора способствует процессам коррозии. В случае сильной контаминации системы водоснабжения легионеллами или эпидемической ситуации применяется шоковое гиперхлорирование путем повышения и поддержания концентрации свободного хлора в воде до 50 мг/л в течение 1 ч или до 20 мг/л в течение 2 ч. Затем вода в системе заменяется на свежую до достижения остаточной концентрации хлора 0,5-1,0 мг/л.

В качестве альтернативных гипохлориту соединений хлора в Европейских странах используют двуокись хлора. Мощный окислитель не столь быстро разрушается при повышении температуры воды как хлор и по мнению ряда авторов более активно разрушает биопленки. Ряд исследователей свидетельствует, что рекомендуемая концентрация ClO<sub>2</sub> (0,5



мг/л) недостаточна для уничтожения амёб, в которых сохраняются легионеллы. В госпиталях США получен позитивный опыт применения монохлорамина. Проведенный анализ показал, что использование монохлорамина в концентрации 1,5-4,3 мг/литр препятствовало колонизации системы водоснабжения легионеллами и снижало риск возникновения случаев болезни легионеров по сравнению с медицинскими учреждениями, применявшими соли гипохлорита.

**Таблица 3**

**Сравнительная характеристика различных методов дезинфекции, используемых для профилактики легионеллеза в системах водоснабжения и градирнях**

Метод	Достоинства	Недостатки
Поддержание температуры <20°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Простота, эффективность и лёгкость контроля</li> <li>• Крайне слабый рост <i>Legionella</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• применим только для систем снабжения питьевой водой</li> </ul>
Поддержание температуры >55°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Простота, эффективность и лёгкость контроля</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Легионелла не уничтожается</li> <li>• постоянное поддержание такой температуры в водных системах затруднено</li> <li>• Требуется защита от ожогов</li> </ul>
Периодическое промывание горячей водой температурой более 70 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Простота, эффективность и лёгкость контроля</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Не может быть применима для систем холодного водоснабжения</li> <li>• Требуется защита от ожогов</li> <li>• Для достижения и поддержания заданных параметров требуется постоянная проверка</li> <li>• Возможна повторная колонизация легионеллами</li> </ul>
Обработка гипохлоритом натрия	<ul style="list-style-type: none"> <li>• эффективный метод дезинфекции</li> <li>• Прост в применении</li> <li>• Относительно недорогой метод</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Образование побочных продуктов дезинфекции – тригалометанов</li> <li>• Для пациентов на гемодиализе требуется защита, в том числе угольный фильтр</li> <li>• Метод токсичен для рыб</li> <li>• Влияет на вкус и запах воды</li> <li>• Вещество не устойчиво, в особенности в горячей воде</li> <li>• Повышает коррозию</li> </ul>

Обработка монохлораминном	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Более устойчивее хлор</li> <li>• Проникает в биоплёнку</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Для пациентов на гемодиализе требуется защита, в том числе угольный фильтр</li> <li>• Метод токсичен для рыб</li> <li>• Воздействует на резиновые компоненты</li> </ul>
Обработка диоксидом хлора	<ul style="list-style-type: none"> <li>• эффективный метод дезинфекции</li> <li>• Прост в применении</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Образование хлорита</li> <li>• Для пациентов на гемодиализе требуется защита, в том числе угольный фильтр</li> <li>• Требуется соблюдение техники безопасности (в зависимости от способа обработки)</li> </ul>
Обработка перекисью водорода	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Прост в применении</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Слабый дезинфектант</li> <li>• Способен вызывать мутации</li> </ul>
Сочетанное действие ионов серебра и меди	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Эффективный метод при заданной концентрации ионов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Необходимо постоянно контролировать уровень меди и серебра</li> <li>• Требуется предварительная подготовка и постоянный контроль pH и жесткости воды</li> <li>• Повышается концентрация меди и серебра в воде</li> </ul>
Облучение ультрафиолетом	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Прост в применении</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Эффективен только в месте облучения, но не для всего объема воды</li> <li>• Не применим для мутных вод</li> <li>• Не влияет на биоплёнки</li> </ul>
Использование фильтров конечной фильтрации	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Физический барьер</li> <li>• Легко установить с помощью адапторов</li> <li>• применяется для систем горячего и холодного водоснабжения</li> <li>• оптимален в отделениях групп риска ЛПУ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Требуется регулярная замена</li> <li>• Твёрдые частицы в воде снижают скорость течения воды и срок эксплуатации</li> <li>• Дорогой метод</li> </ul>
Обработка паром	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Профилактический метод быстрого действия</li> <li>• Легко применим в системах горячего водоснабжения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Не влияет на биоплёнки</li> <li>• Риск ожога</li> </ul>
Неокисляющие биоциды	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Эффективный метод для использования в градирнях</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Вода не пригодна для питья</li> <li>• Не применимы в бассейнах</li> <li>• Может сформироваться устойчивая популяция бактерий</li> <li>• Необходимо использовать два разных вида биоцидов</li> <li>• Сложно измерять концентрацию биоцидов</li> <li>• Сложно нейтрализовать биоцид при отборе проб воды</li> </ul>

Необходимо отметить, что использование большинства применяемых за рубежом методов профилактики в системах горячего водоснабжения



возможно в условиях нецентрализованного и локального водоснабжения отдельных зданий или групп зданий (больницы, отели, восстановительные центры, промышленные предприятия и т.д.), но не в рамках централизованного снабжения горячей водой населения крупных городов и мегаполисов. Эти методы либо основаны на применении химически активных веществ и представляют опасность с непредсказуемыми последствиями их применения в условиях централизованного водоснабжения, либо просто не рассчитаны на применение в этом режиме. Практически единственным методом, который можно рекомендовать для отечественных систем горячего водоснабжения закрытого типа, является термический шок, то есть кратковременное нагревание воды до температуры 70-75°C. За рубежом термический шок является наиболее распространенным для профилактики легионеллеза в системе горячего водоснабжения и применяется в 60% случаев проведения профилактических мероприятий, тогда как биоциды - в 45% случаев, ультрафиолет – в 9%, ионизация серебром и медью – в 8%, озонирование – в 3% случаев (в локальных сетях возможно применение нескольких методов).

Наряду с термическим шоком в Российской Федерации для применения в отделениях групп риска лечебно-профилактических организаций можно рекомендовать установку фильтров конечной фильтрации (в отделениях реанимации, трансплантологии, онкологии, гематологии и др.). Положительный опыт применения таких фильтров в Российской Федерации имеется.

Известно, что в экспериментальных условиях диапазон температур от 50°C до 60°C обладает бактериостатическим либо бактерицидным действием на планктонные формы легионелл, но не действует на биопленки, в которых легионеллы накапливаются и сохраняются в потенциально опасных водных системах, в том числе и в системах горячего водоснабжения. Лишь более высокие температуры термического шока позволяют на некоторое время освободить конкретный участок системы водоснабжения от легионелл.

В настоящее время в Российской Федерации практически отсутствует информация об уровне контаминации легионеллами горячей воды, поступающей населению из централизованных систем водоснабжения закрытого типа, так как лабораторно-инструментальные исследования горячей воды с центральных тепловых пунктов на легионеллы не проводятся. Например, в Москве микробиологические исследования, осуществляемые в порядке производственного контроля по заказу МОЭК, включают определение лишь санитарно-показательных микроорганизмов (ОМЧ, ОКБ и сульфит-редуцирующие клостридии).

В настоящее время доступна лишь информация об уровне контаминации легионеллами систем горячего водоснабжения закрытого типа общественных зданий (гостиницы, больницы, торговые центры), полученная в рамках научных исследований в Московском регионе в 2010-2012гг. Для исследования уровня контаминации *L.pneumophila* систем горячего водоснабжения были выбраны здания или комплексы зданий с централизованной системой холодного водоснабжения. Всего было

обследовано 12 систем горячего водоснабжения зданий или комплекса зданий общественного пользования (2 торговых центра, 1 офисный центр, 2 гостиницы, 7 ЛПУ).

Горячее водоснабжение объектов обеспечивалось нагреванием холодной воды в калориферах бойлерной до температуры 58°-65°С. Отбор проб воды и смывов осуществляли в «застойных», концевых и редко используемых участках системы горячего водоснабжения объекта. Исследовали образцы воды объемом 500-1000мл и смывы с внутренней поверхности труб, сеток душа, водопроводных кранов.

Контаминация *L.pneumophila* выявлена в «застойных», концевых или редко используемых участках системы горячего водоснабжения во всех 12 обследованных объектах (в воде или смыве душевого рожка – 15 положительных образцов; воде или смывах из водопроводных кранов – 10, непосредственно на выходе из бойлерной – 3) (табл. 4). Концентрация *L.pneumophila* в положительных пробах составляла от  $6 \times 10^1$  до  $8,4 \times 10^4$  КОЕ (геномных копий) на литр воды. Концентрация возбудителя, превышающая  $10^3$  КОЕ/л (допустимую), выявлена на 9 объектах. Среди выделенных изолятов 34% относились к *L.pneumophila* серогруппы 1, 66% к *L.pneumophila* других серогрупп. В 19% положительных проб были выделены изоляты *L.pneumophila* нескольких серогрупп, в том числе первой. По степени колонизации *L.pneumophila* объекты могут быть разделены на 2 группы: 1) 7 объектов, на которых выявлен только 1 участок, контаминированный возбудителем, 2) 5 объектов, на которых выявлено от 2



до 5 участков, контаминированных *L.pneumophila*, то есть колонизация носит системный характер. Среди ЛПУ 5 объектов относились к первой группе и 2 – ко второй. Максимальная температура нагрева воды в калорифере бойлерной составляла 58-60<sup>0</sup>С на 10 объектах, 61<sup>0</sup>С - на 1 объекте, 65<sup>0</sup>С - на 1 объекте. Из систем водоснабжения 2-х ЛПУ помимо легионелл были выделены изоляты *Ps.aeruginosa*.

**Таблица 4**

Уровень контаминации *Legionella pneumophila* систем горячего водоснабжения зданий общественного пользования

Объект	Концентрация <i>L.pneumophila</i> (КОЕ/л)		Температура горячей воды (С <sup>0</sup> )		Количество участков системы водоснабжения объекта, контаминированных <i>L.pneumophila</i>	Присутствие в воде <i>Ps.aeruginosa</i>
	Минимальная	максимальная	максимальная	минимальная		
1.	1,3 x10 <sup>2</sup>	3,6 x10 <sup>4</sup>	58	36	2	–
2.	1,2 x10 <sup>2</sup>	1,4 x10 <sup>3</sup>	58	42	2	–
3.	– *	2,8 x10 <sup>3</sup>	58	42	1	–
4.	–	1,6 x10 <sup>3</sup>	60	36	1	–
5.	–	8,4 x10 <sup>4</sup>	60	45	1	+
6.	6 x10 <sup>2</sup>	1,2 x10 <sup>4</sup>	58	42	3	–
7.	–	2 x10 <sup>2</sup>	60	44	1	–
8.	–	1,2 x10 <sup>2</sup>	58	45	1	–
9.	–	6 x10 <sup>2</sup>	58	44	1	+
10.	6 x10	3,6 x10 <sup>3</sup>	61	46	3	–
11.	–	1,8 x10 <sup>3</sup>	65	52	1	–
12.	3,1 x10 <sup>2</sup>	3,4 x10 <sup>4</sup>	58	36	5	+

\*Возбудитель обнаружен в одном участке системы водоснабжения

Показательны и результаты анализа контаминации легионеллами систем водоснабжения различных объектов, осуществлявшихся ФГУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в 31 муниципальном



образовании региона в 2009г. после вспышки легионеллеза в Верхней Пышме (Таблица 5).

**Таблица 5**

Контаминация легионеллами систем водоснабжения различных объектов в 31 муниципальном образовании Свердловской области

Наименование точки	Определение ДНК легионелл			Бактериологическое определение легионелл		
	Кол-во	в т.ч. положительных	%	Кол-во	в т.ч. положительных	%
Вода водопроводной сети коммунальных объектов	5	0	0,00	0	0	0
Вода водопроводной сети пищевых объектов	2	1	50,00	0	0	0
Горячая вода централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения	948	129	13,61	119	22	18,49
Вода в точке «перед подачей в распределительную сеть»	14	2	14,29	2	1	50,00
Вода централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения на магистралях	40	1	2,50	1	0	0,00
Всего	1009	133	12,98	123	23	18,70

Анализ полученных результатов свидетельствует, что градиент температуры в диапазоне 50-60°C не является критическим для сохранения, а возможно и размножения легионелл в системах горячего водоснабжения.

В качестве реального профилактического мероприятия может рассматриваться кратковременный «термический шок» при температуре не менее 70°C. В этом отношении значительный интерес представляет последний документ по эксплуатации систем централизованного горячего водоснабжения советского периода в котором, по-видимому, эмпирически без упоминания легионелл был предложен алгоритм, направленный на микробиологическую безопасность системы закрытого типа. В санитарных правилах «Санитарные правила устройства и эксплуатации систем централизованного горячего водоснабжения» СанПиН 4273-88 от 15.11.1988 указано:

«п.1.7 Температура горячей воды в местах водоразбора независимо от применяемой системы теплоснабжения должна быть не ниже 60°C и не выше 75°C.

**Примечание.** Для системы горячего водоснабжения из оцинкованных труб при закрытой системе водоснабжения допускается иметь температуру воды не ниже 50°C и не выше 60°C. В этих условиях после проведения ремонтных работ или возникновения аварийных ситуаций в системе поддерживать температуру на уровне 75°C в течение 48 часов».

Сформулированный в данном документе подход может быть взят за основу при проведении профилактических мероприятий по обеспечению микробиологической безопасности систем горячего водоснабжения закрытого типа, но на регулярной основе, а не только после проведения ремонтных работ или возникновения аварийных ситуаций. Эксплуатация

данного типа систем при температуре не менее 50°С должна сопровождаться регулярным лабораторно-инструментальным количественным исследованием горячей воды на легионеллы с центральных тепловых пунктов в рамках производственного контроля, выполняемого по заказу организации, осуществляющей горячее водоснабжение (постановление Правительства Российской Федерации от 06.01.2015 №10 «О порядке осуществления производственного контроля качества и безопасности питьевой воды, горячей воды) и периодическим (не реже 1 раза в квартал) краткосрочным повышением температуры воды в системе до уровня не менее 70°С.

## **2. Рекомендуемые значения для оценки уровня микробиологической безопасности систем водоснабжения.**

Практически единственным нормируемым количественным микробиологическим показателем в отечественных документах по санитарно-гигиеническому нормированию, посвященных качеству водопроводной воды, до последнего времени являлся показатель общего микробного числа (ОМЧ), не допускающий превышение более 50 КОЕ/мл. Показатель соответствует международным стандартам и не вызывает сомнений в качестве элемента санитарно-гигиенической характеристики воды. Для остальных санитарно-показательных микроорганизмов используется нулевой уровень.

В настоящее время в отношении легионелл практически во всех Европейских странах, США, Российской Федерации введены предельно допустимые концентрации микроорганизма для различных типов



потенциально опасных водных систем. Необходимо понимать, что все эти нормативы подобраны эмпирически на основании многолетнего опыта проведения профилактических мероприятий и анализа эпидемических вспышек легионеллеза в различных странах мира и охватывают некую «условную буферную зону» между концентрацией легионелл в природных и искусственных водных системах, не представляющую опасности для населения, и уровнем концентрации легионелл в потенциально опасных водных системах при вспышках болезни легионеров с установленным источником распространения возбудителя. Легионеллы являются убиквитарным микроорганизмом в водной среде. Поэтому в отличие от многих других возбудителей инфекционных заболеваний, способных к размножению в воде, полностью элиминировать легионеллы из водных объектов невозможно. Более того, существенное превышение допустимых концентраций легионелл в потенциально опасных водных системах не обязательно приводит к немедленному возникновению случаев инфекции. Тем не менее, создание нормативов и количественный мониторинг легионелл в потенциально опасных водных системах является важной составляющей профилактики легионеллеза.

Допустимые показатели для *L. pneumophila* в потенциально опасных водных системах были введены в Российской Федерации СанПином 3.1.2.2626-10 «Профилактика легионеллеза» и предусматривают уровень не более  $10^4$  КОЕ на литр воды для градирен и водного контура централизованных систем кондиционирования воздуха; не более  $10^3$  КОЕ на литр воды для систем

горячего водоснабжения; не более 10 КОЕ на литр воды для джакузи и вихревых ванн. Для горячей воды ЛПУ в отделениях групп риска рекомендован нулевой уровень.

При выборе нормативных значений для систем горячего водоснабжения необходимо учитывать, что концентрация легионелл  $10^3$  КОЕ/литр воды часто встречается в природных водоемах и основной путь заражения человека при контакте с водопроводной водой аспирационный, а не аэрозольный. Если при аэрозольном пути заражения концентрация легионелл в воде градиен составляет не менее  $10^6$  КОЕ/литр при вспышках легионеллеза, то при аспирационном пути концентрация легионелл в системе водоснабжения для создания эпидемической ситуации для того же контингента заболевших должна быть заведомо ниже. Для здорового человека риск заражения при аспирации контаминированной легионеллами водопроводной воды минимален. Напротив, для групп риска, прежде всего пациентов соответствующих отделений госпиталей, опасность аспирации контаминированной легионеллами водопроводной воды исключительно велика. Соответственно, выбор нормативов носит дифференцированный характер для общественной системы водоснабжения и систем водоснабжения в учреждениях, связанных с оказанием медицинской помощи (таблица 6).

Таблица 6

Допустимый уровень контаминации легионеллами водопроводной воды в ряде стран Европы

Страна	Концентрация легионелл (КОЕ/литр)	Комментарий
Франция	<1000	• для бытового водоснабжения
	<100	• для ЛПУ
	<50	• для отделений групп риска ЛПУ
Германия	1000	
Нидерланды	100	
Россия	<1000	• для бытового водоснабжения
	0	• для отделений групп риска ЛПУ

### 3. Экспериментальное исследование влияния температуры на жизнеспособность легионелл и других микроорганизмов в водной среде

#### 3.1. Материалы и методы

##### 3.1.1. Используемые в работе штаммы микроорганизмов

В работе были использованы штаммы *Legionella pneumophila*, *E.coli* и *Ps. aeruginosa* из коллекции ФГБУ ФНИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи (табл. 7):



Таблица 7

№ п/п	Штамм	Вид	Источник	Автор	АТСС
1.	Philadelphia1	<i>L.pneumophila</i>	Референс штамм, легочная ткань	Brenner et al. (1979)	33152
2.	Pyshma-3	<i>L.pneumophila</i>	Вода системы водоснабжения, г. В.Пышма	НИИЭМ им.Н.Ф.Гамалеи(2007)	
3.		<i>E. coli</i>	ГИСК им. Тарасевича	1986г	25922
4.		<i>Ps. aeruginosa</i>	ГИСК им. Тарасевича	1982г.	27853

### 3.1.2. Методы культивирования микроорганизмов

Штаммы легионелл выращивали на плотной агаризованной среде буферный угольно-дрожжевой агар (БУДРАГ, ВСУЕα) с ростовой добавкой («Oxoid») при 37°C в течение 48ч., также в качестве ростовых добавок применяли L-цистеин 400мг/л (Япония) и пирофосфат железа растворимый 250мг/л («Sigma») приготовленные в условиях лаборатории. Для выращивания легионелл в жидкой среде использовали Proteose-Pepton №3 («Difco») с добавлением L-цистеина, инкубировали на круговой качалке при 37°C в течение 72ч. Среды промышленного производства готовили в соответствии с прописями на этикетке. В условиях лаборатории среды готовили по следующей схеме:

Компоненты основы среды БУДРАГ (на 1 литр):

Дрожжевой экстракт – 10,0 г  
 Агар – 13,0 г  
 Активированный уголь – 2,0 г

а-кетоглутаровая кислота, калийная соль – 1,0г  
ACES-буфер (N-2-ацетамидо-2-аминоэтан-сульфанильная кислота) – 10г  
1 М КОН – 40 мл  
глицин – 3 г

Компоненты ростовой добавки (на 1 литр):

L-цистеин – 0,40 г  
Пирофосфат железа растворимый – 0,25 г

К навеске ACES-буфера добавляли 500 мл дистиллированной воды и выдерживали на водяной бане при 50°C, помешивая до полного растворения. К 440 мл дистиллированной воды добавляли 40 мл 1 М КОН и осторожно смешивали с первым раствором. Полученным раствором заливали смесь навесок дрожжевого экстракта, агара, активированного угля, кетоглутаровой кислоты и глицина и выдерживали на водяной бане при 50°C, помешивая до полного растворения всех компонентов. Среду автоклавировали 15 минут при 121°C, охлаждали до 50°C, после чего добавляли стерильные компоненты ростовой добавки. Навески L-цистеина и пирофосфата железа растворимого растворяли в 10 мл дистиллированной воды каждую, стерилизовали фильтрацией через мембранный фильтр и добавляли в среду.

Конечное значение рН среды – 6,95 ±0,02. Среду разливали в стерильные чашки Петри по 25мл и подсушивали в термостате при 36°C в течение часа. Среда имеет характерный черно-серый цвет.

Также в работе использовали для имитации показателя ОМЧ типовые штаммы *E.coli* и *Pseudomonasaeruginosa*. Бактериальные культуры выращивали на агаре Эндо, цетримидномагаре и кровяном агаре при 37°C.

### 3.1.3. Бактериологическое выделение

По 0,1 мл из прогретого при 40°C, 50°C, 60°C и 70°C в течение различного времени образца высевали на чашки со средой БУДРАГ с ростовой добавкой. Образец распределяли по поверхности питательной среды шпателем. Чашки инкубировали при 36°C до 7 дней во влажной атмосфере и в присутствии 2,5% CO<sub>2</sub>.

Просматривать чашки начинали с 2 суток, хотя из воды колонии легионелл могут вырасти на 5-7 сутки и в более поздние сроки.

На селективной среде колонии легионелл обычно имеют выросший центр, гранулярную или блестящую поверхность, серовато-голубоватую, иногда зеленоватую окраску. Колонии легионелл на 3-5 сутки небольшие, диаметром 1-2 мм, плоско-выпуклые, гладкие с острым краем.

Для идентификации бактерий рода *Legionella* использовали окраску мазков по Грамму, посев на среду БУДРАГ без селективной и ростовой добавок и латекс-агглютинацию.

В мазках легионеллы выглядели как небольшие грамм-отрицательные палочки длиной 2-3 мк. В 4-5 дневных колониях длина легионелл может достигать 10-15 мк.

Для подтверждения выросших колоний к виду *Legionella pneumophila*, использовали реакцию латекс-агглютинацию. Для постановки реакции каплю



изотонического солевого раствора вносили в лунку на стекле для агглютинации. Отбирали колонии легионелл, выросшие на буферном угольно-дрожжевом агаре с ростовой добавкой. С помощью петли колонии переносили в лунку и тщательно перемешивали с изотоническим солевым раствором в течение 1 минуты. В каждую из лунок последовательно добавляли одну каплю латексного реагента *Legionella*1 или одну каплю латексного реагента *Legionella* 2-15. Перемешивали каждую латексную суспензию отдельной стеклянной палочкой и осторожно покачивая стекло, наблюдали за появлением агглютинации в течение 1 минуты. Размер агглютината и скорость его появления переменна и зависит от концентрации антигена легионелл в суспензии.

Контроль специфичности латексного реагента: добавляли одну каплю каждого латексного реагента в отдельную лунку стекла. Добавляли в каждую лунку каплю изотонического солевого раствора и, осторожно покачивая стекло в течение 2 минут, наблюдали за появлением возможной агглютинации. В качестве положительного контроля использовалась культура *Legionella pneumophila* или соответствующий антиген.

#### **Учет результатов бактериологических исследований.**

Для определения количества бактерий в исследуемой пробе воды использовали формулу:

$$X = \frac{a * b}{c} * \frac{1}{s} ,$$

где:  $X$  – количество бактерий на литр в исследуемой пробе,

$a$  – количество бактерий, выросших на чашке,

$b$  – объем концентрата в мл,

$c$  – объем, высеянный на чашку в мл,

$s$  – объем исходной пробы в литрах.

Для определения количества бактерий в исследуемой пробе брали чашку с наибольшим количеством выросших колоний.

#### **3.1.4. Получение биоплёнок легионелл**

Для изучения способности выживания биопленок легионелл при воздействии на них воды различной температуры, использовали 4 штамма из коллекции лаборатории легионеллеза ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи.

Бактериальные культуры выращивали в протеозопептонном бульоне (Difco) или на агаре ВСУЕ $_{\alpha}$  (Oxoid) с добавлением L-цистеина и водорастворимой формы пиррофосфата железа при 37 $^{\circ}$ С в течение 72 ч.

В качестве вирулентной культуры использовали штамм *L.pneumophila*, *Philadelphia 1* (LD $_{50}$  для морских свинок не более 10 $^5$  КОЕ).

Тестирование всех штаммов легионелл проводили в 96 луночных плоскодонных пластиковых планшетах для иммуноферментного анализа (Costar). Выращенные в бульоне культуры тестируемых штаммов разводили свежей питательной средой 1:10. Полученные суспензии стерильно вносили по 150 мкл в лунки планшет (по 4 лунки для каждого штамма). Для контроля

фона также в 4 лунки вносили питательную среду, в которой инкубировали культуры. Планшет помещали в термостат на 96ч (при температуре 28°C) для подращивания. Оптическую плотность выросших планктонных клеток определяли на фотометре iEMSReaderMF «Labsystems» (Швеция) при длине волны 540 нм. Затем содержимое лунок осторожно отсасывали и вносили по 150 мкл дистиллированной воды и 15 мкл 1% спиртового раствора кристалл виолета. Планшеты инкубировали при комнатной температуре (20°C) в течение 45 мин. Затем краситель осторожно отсасывали и промывали лунки дважды дистиллированной водой. В отмытые от несвязавшейся краски лунки вносили по 200 мкл этилового спирта и оставляли на 45 мин при комнатной температуре. Интенсивность окрашивания спирта в лунках планшеты оценивали на фотометре при длине волны 540 нм.

Данные средних арифметических значений, полученные для каждой из четырех лунок при определении оптической плотности клеток и при определении интенсивности окрашивания спиртового раствора, обрабатывали по программе Excel.

### **3.2. Влияние температуры воды на планктонные формы легионелл и других микроорганизмов**

В работе были использованы штаммы *Legionell pneumophila*, *E.coli* и *Ps. aeruginosa* из коллекции ФГБУ ФНИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи (см. 3.1.1 Материалы и методы).

Культуру микроорганизмов получали в соответствии с методикой описанной ранее. Были приготовлены взвеси соответствующих



концентраций:  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  КОЕ на мл. Каждая концентрация была внесена по 1 мл во флаконы на 1л. воды. Для оценки действия температур на суспензию возбудителя использовали температуру  $40^0$ ,  $50^0$ ,  $60^0$  и  $70^0$  C<sup>0</sup>. Взвеси культуры различных концентраций были выдержаны 3, 6 и 24 часов при различных температурах.

Через различные интервалы времени взвесь микроорганизмов фильтровали, смыв с фильтра высевали на ВСУЕ агар, агар Эндоецетримидный агар соответственно, при  $37^0$ C. При наличии роста культуры проводили ее идентификацию и подсчет колоний, как указано выше.

В ходе проведенной работы были получены следующие результаты:

**Таблица 8**

Результат влияния температуры воды  $40^0$ C на жизнеспособность взвеси культуры легионелл и других микроорганизмов

Штаммы, используемые в работе	Время экспозиции	Суспензия микроорганизмов $10^3$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^4$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^5$ КОЕ/мл
<i>Philadelphia1</i>	При внесении	$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3 \times 10^5$
	Через 3 часа	$3,2 \times 10^3$	$3,4 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$
	Через 6 часов	$3,5 \times 10^3$	$4 \times 10^4$	$4,2 \times 10^5$
	Через 24 часа	$3,3 \times 10^3$	$4,2 \times 10^4$	$3,8 \times 10^5$
<i>Pyshma-3</i>	При внесении	$3,2 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 3 часа	$3,1 \times 10^3$	$2,7 \times 10^4$	$3,8 \times 10^5$
	Через 6 часов	$3,7 \times 10^3$	$3,2 \times 10^4$	$3,4 \times 10^5$
	Через 24 часа	$3,8 \times 10^3$	$2,8 \times 10^4$	$4,1 \times 10^5$



<i>E. coli</i>	При внесении		$3,1 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	$3,1 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$
	Через 6 часов	6	$3,5 \times 10^3$	$2,4 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 24 часа	24	$3,6 \times 10^3$	$2,7 \times 10^4$	$3,4 \times 10^5$
<i>Ps. aeruginosa</i>	При внесении		$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	$3,2 \times 10^3$	$2,2 \times 10^4$	$3,2 \times 10^5$
	Через 6 часов	6	$3,8 \times 10^3$	$2,3 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 24 часа	24	$3,3 \times 10^3$	$2,7 \times 10^4$	$3,4 \times 10^5$

**Таблица 9**

Результат влияния температуры воды  $50^{\circ}\text{C}$  на жизнеспособность взвеси культуры легионелл и других микроорганизмов

Штаммы, используемые в работе	Время экспозиции	Суспензия микроорганизмов $10^3$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^4$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^5$ КОЕ/мл	
<i>Philadelphia</i>	При внесении	$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3 \times 10^5$	
	Через 3 часа	3	$3,8 \times 10^2$	$1 \times 10^2$	$3,1 \times 10^3$
	Через 6 часов	6	$2 \times 10$	$4 \times 10$	$3,5 \times 10$
	Через 24 часа	24	Нет роста	3 кол	7 кол
<i>Pyshma-3</i>	При внесении	$3,1 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$	
	Через 3 часа	3	$1 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$
	Через 6 часов	6	$7 \times 10$	$9,7 \times 10$	$4 \times 10$
	Через 24 часа	24	Нет роста	2 кол	4 кол



<i>E. coli</i>	часа				
	При внесении		$3,1 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	$3 \times 10^2$	$2,1 \times 10^3$	$3,1 \times 10^4$
	Через 6 часов	6	$5 \times 10$	$2,4 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
<i>Ps. aeruginosa</i>	Через 24 часа	24	Нет роста	$1,3 \times 10$	60 кол
	При внесении		$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	$2,9 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	$3 \times 10^4$
	Через 6 часов	6	$7 \times 10$	$8 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
Через 24 часа	24	Нет роста	$2,7 \times 10$	80 кол	

**Таблица 10**

Результат влияния температуры воды  $60^{\circ}\text{C}$  на жизнеспособность взвеси культуры легионелл и других микроорганизмов

Штаммы, используемые в работе	Время экспозиции	Суспензия микроорганизмов $10^3$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^4$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^5$ КОЕ/мл	
<i>Philadelphia 1</i>	При внесении	$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3 \times 10^5$	
	Через 3 часа	3	$2,1 \times 10^1$	$4,5 \times 10^2$	$7 \times 10^4$
	Через 6 часов	6	Нет роста	$1,5 \times 10$	$1,2 \times 10^2$
	Через 24 часа	24	Нет роста	Нет роста	Нет роста
<i>Pyshma-3</i>	При внесении	$3,2 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$	
	Через 3 часа	3	$1,2 \times 10$	$2 \times 10$	$1,6 \times 10^4$
	Через 6 часов	6	Нет роста	Нет роста	$1,2 \times 10^2$
	Через 24 часа	24	Нет роста	Нет роста	30 кол.



<i>E. coli</i>	При внесении		$3,1 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	$1,1 \times 10^3$	$1,6 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$
	Через 6 часов	6	$2,3 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$7,2 \times 10^2$
	Через 24 часа	24	Нет роста	Нет роста	50 кол.
<i>Ps. aeruginosa</i>	При внесении		$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	$5,3 \times 10^3$	$1,6 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$
	Через 6 часов	6	$1,8 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$3,6 \times 10^2$
	Через 24 часа	24	Нет роста	Нет роста	20 кол

**Таблица 11**

Результат влияния температуры воды  $70^{\circ}\text{C}$  на жизнеспособность взвеси культуры легионелл и других микроорганизмов

Штаммы, используемые в работе	Время экспозиции	Суспензия микроорганизмов $10^3$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^4$ КОЕ/мл	Суспензия микроорганизмов $10^5$ КОЕ/мл
Philadelphia 1	При внесении	$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3 \times 10^5$
	Через 3 часа	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 6 часов	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 24 часа	Нет роста	Нет роста	Нет роста
Pyshma-3	При внесении	$3,2 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 3 часа	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 6 часов	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 24 часа	Нет роста	Нет роста	Нет роста



E. coli	При внесении		$3,1 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 6 часов	6	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 24 часа	24	Нет роста	Нет роста	Нет роста
Ps. aeruginosa	При внесении		$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$
	Через 3 часа	3	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 6 часов	6	Нет роста	Нет роста	Нет роста
	Через 24 часа	24	Нет роста	Нет роста	Нет роста

### 3.3. Влияние температуры воды на биопленки легионелл

В работе были использованы штаммы *Legionella pneumophila* из коллекции ФГБУ ФНИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи (см. 3.1.1 Материалы и методы).

Биопленки легионелл получали в соответствии с методикой описанной ранее. Для оценки действия температур на суспензию возбудителя использовали температуру  $40^{\circ}$ ,  $50^{\circ}$ ,  $60^{\circ}$  и  $70^{\circ}$  C<sup>0</sup>. Экспозиция биопленок легионелл при различных температурах для предотвращения жизнеспособности биопленок на пластиковой поверхности и воздействия на сформированную биопленку составляла 3, 6 и 24 часов.

Через различные интервалы времени после нагрева при различных температурах, взвесь биопленок высевали на ВСУЕ агар. При росте культуры проводили ее идентификацию и подсчет колоний, как указано выше.

В результате проведенной работы были получены следующие результаты:

**Таблица 12**

Результат влияния температуры воды на жизнеспособность биопленок легионелл

Штаммы, используемые в работе	температура Время экспозиции	Биопленка легионелл			
		40 <sup>0</sup> C <sup>0</sup>	50 <sup>0</sup> C <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup> C <sup>0</sup>	70 <sup>0</sup> C <sup>0</sup>
Philadelphia 1	Через 3 часа	+	+	+	-
	Через 6 часов	+	+	<u>+</u>	-
	Через 24 часа	+	+	-	-
Pyshma-3	Через 3 часа	+	+	+	-
	Через 6 часов	+	+	<u>+</u>	-
	Через 24 часа	+	+	-	-

#### **3.4. Экспериментальное обоснование выбора профилактического температурного режима при эксплуатации систем горячего водоснабжения**

Полученные экспериментальные результаты и анализ действия различных температурных режимов на планктонные формы легионелл и их



модельные биопленки, а также другие не споровые микроорганизмы свидетельствуют, что в диапазоне температур от 50° до 60°С происходит значительное снижение количества жизнеспособных клеток легионелл и других микроорганизмов. В то же время полной гарантированной элиминации микроорганизмов при температуре 60°С в условиях эксперимента не происходило. Более того, модельные биопленки легионелл частично сохраняли жизнеспособность при температуре 60°С и лишь экспозиция при температуре 70°С приводила к гибели биопленок легионелл и планктонных форм бактерий. Конечно, результаты полученные на модельных биопленках, нельзя полностью экстраполировать на природные биопленки микроорганизмов, образующиеся в трубах систем горячего водоснабжения в условиях многолетней эксплуатации, т.к. они, скорее всего, будут отличаться более высокой устойчивостью. Но с учетом того, что полной элиминации легионелл из системы горячего водоснабжения не требуется в соответствии с действующим законодательством (СанПин 3.1.2.2626-10 «Профилактика легионеллеза»), наиболее выраженное бактерицидное действие на планктонные формы легионелл в системе и значительное снижение жизнеспособности бактериальных клеток в биопленках в условиях прогрева при 70°С не позволит концентрации легионеллами превысить допустимый уровень  $10^3$  КОЕ на литр при периодическом краткосрочном прогревании воды в системе водоснабжения при данной температуре.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.**

Анализ различных методических подходов к обеспечению микробиологической безопасности эксплуатации систем горячего водоснабжения закрытого типа у нас в стране и за рубежом, данные об уровне контаминации горячей воды централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения легионеллами в России, результаты экспериментальных исследований влияния температуры воды на жизнеспособность микроорганизмов позволяют сделать вывод о недостаточной профилактической эффективности действующего в настоящее время температурного режима эксплуатации при температуре не менее 60<sup>0</sup>С. (Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения, изменение к СанПиН 2.1.4.1074-01, СанПиН 2.1.4.2496-09).

Рекомендуем для систем горячего водоснабжения закрытого типа в качестве оптимального энергосберегающего температурного режима температуру воды не ниже 50<sup>0</sup>С (в соответствии с ранее действовавшими санитарными правилами устройства и эксплуатации систем централизованного горячего водоснабжения» СанПиН 4273-88 от 15.11.1988) при обязательном выполнении комплекса профилактических мероприятий. Эксплуатация данного типа систем при температуре не менее 50<sup>0</sup>С должна сопровождаться:

- обязательным периодическим (не реже 1 раза в квартал) краткосрочным (не менее 24 часов) профилактическим повышением температуры воды в системе до уровня не менее 70<sup>0</sup>С;

-регулярным лабораторно-инструментальным количественным исследованием горячей воды на легионеллы с центральных тепловых пунктов в рамках производственного контроля (помимо общепринятых санитарно-показательных микроорганизмов: ОМЧ, ОКБ и сульфит-редуцирующие клостридии), проводимым по заказу организации, осуществляющей горячее водоснабжение с той же периодичностью ,что и для санитарно-показательных микроорганизмов;

- при превышении допустимого уровня концентрации легионелл в системе (более  $10^3$  КОЕ на литр), а также при запуске систем горячего водоснабжения на новых объектах, после проведения ремонтных и профилактических работ или возникновения аварийных ситуаций необходимо поддерживать температуру на уровне  $70^{\circ}\text{C}$  в течение 48 часов , после чего проводится дополнительный микробиологический анализ для определения концентрации легионелл.



## Литература

- 1.Онищенко Г.Г., Лазикова Г.Ф.,Чистякова Г.Г. и др. Эпидемиологическая характеристика вспышки легионеллеза в Верхней Пышме. Журн. микробиол.,2008,2:82-85.
- 2.Тартаковский И.С., Гинцбург А.Л., Михайлова Д.О. и др. Применение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области. Клин. микроб. Антимикроб.химиотер.,2007,9(4):361-368.
- 3.Онищенко Г.Г., Никонов Б.И., Гурвич В.Б. и др. Опыт организации промывки и дезинфекции системы централизованного горячего водоснабжения в городе Верхняя Пышма при колонизации ее легионеллами. Журн.микробиол., 2008,2:113-117.
4. Тартаковский И.С., Демина Ю.В. Методология и стандарты профилактики легионеллеза. Жизньбезопасности.2010 (4):108-120.
- 5.Тартаковский И.С., Груздева О.А., Галстян Г.М., Карпова Т.И. Профилактика, диагностика и лечение легионеллеза. Москва 2013.
6. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного микроорганизма? Микробиология. 2007, 76:149-163.
- 7.Тартаковский И.С., Пантелеева Л.Г., Демина Ю.В. и др. Опыт применения в градирнях промышленного предприятия дезинфицирующих средств для профилактики легионеллеза. Дезинфекц. дело ,2010,1:46-50.
8. Карпова Т.И., Дронина Ю.Е., Алексеева Н.В. и др. Формирование биопленок *Legionella spp.* в эксперименте. Журн.микробиол., 2008, 1:3-7.

9. Онищенко Г.Г., Демина Ю.В., Тартаковский И.С. Современная концепция организации эпидемиологического надзора за легионеллезной инфекцией. Журн.микробиол. 2009, 5:85-91.
10. Садретдинова О.В., Груздева О.А., Карпова Т.И. с соавт., Контаминация *Legionella pneumophila* систем горячего водоснабжения зданий общественного назначения, в том числе лечебно-профилактических учреждений. Клин.микробиол.антимикроб.химиотер. 2011, 2:163-167.
- 11.СПЗ.1.2.2626-10 «Профилактика легионеллеза» 2010г.
- 12.МУК 4.2.2217- 07 «Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды» 2007.
- 13.Санитарные правила устройства и эксплуатации систем централизованного горячего водоснабжения» СанПиН 4273-88 от 15.11.1988
14. Питьевая вода и водоснабжение населенных мест. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения СанПиН 2.1.4.1074-01;
15. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения ,изменение к СанПиН 2.1.4.1074-01, СанПиН 2.1.4.2496-09;
- 16.Санитарно-эпидемиологические требования к условиям проживания в жилых зданиях и помещениях.СанПиН 2.1.2.2645-10.
17. 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.
- 18.Legionellosis-United States,2000-2009.MMWR.,2011,60,32:1083-1086.

- 19.3<sup>rd</sup> European Legionnaires Disease Surveillance Network annual meeting report. Dresden, Germany. 2012.
20. EWGLI Technical guidelines for investigation, control and prevention of Travel associated Legionnaires Disease. 2011. ECDC
21. Guidelines for preventing health-care associated pneumonia 2003: recommendation of CDC and the Health care Infection Control Practices Advisory Committee. MMWR Recomm. Rep. 2004, 26, 53(RR-3):1-36.
22. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. WHO. 2004.
23. France Gouvernement Guidelines. Relative to the prevention of Risks Linked to Legionella in Health Establishments DGS/SD7A/SD5C/E4 No.2002/243 of 22/04/02 Guidelines.
24. Cooper A, Barnes HR, Myers ER. Assessing risk of Legionella. ASHRAE Journal. 2004, 46(4): 22-26.
25. Legionella and prevention of Legionellosis. Ed. by J. Bartram., WHO, 2007.
26. Altotkmany Lobna , Nordal Bo., Overview of Legionella infection control and treatment methods. Effstock 2009 :3-12 .
27. HSE, Legionnaires disease – a guide for employers. 2004, London.
28. Yee R.B., Wadowsky R.M. Multiplication of Legionella pneumophila in unsterilized tap water. Appl. Environm. Microbiol., 1982, 43:1330-1334.
29. Voronina O.L., Kunda M.S., Bitkina V.V. et al. The microbial composition of biofilms maintaining Legionella pneumophila in cooling towers and autonomous water systems. Abst. of 26<sup>th</sup> EWGLI meeting , Vienna, 2011:59.
30. ISO 11731-2:2004 ISO Standard: Water quality – detection and enumeration of Legionella.



31. Exner M., Kramer A., Lajoje L. et.al. Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *Am. J. infection control.*2005, 33(5):26-40.
32. HSCE (Health and Safety Commission, United Kingdom), Legionnaires Disease. The control of Legionella bacteria in water systems. Approved code of practice and guidance.,2003.