

Вирулицидная активность импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра в отношении коронавируса SARS-CoV-2

А. Ю. Зверев, к.б.н., начальник научно-исследовательского отдела¹

С. В. Борисевич, д.б.н., проф., член-корр. РАН, начальник¹

Н. Я. Чепуренков, к.т.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела¹

Д. Н. Масякин, к.б.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела¹

Е. А. Ковальчук, к.м.н., н.с. научно-исследовательского отдела¹

В. А. Быков, к.т.н., н.с. научно-исследовательского отдела¹

В. В. Труфанова, м.н.с. научно-исследовательского отдела¹

А. В. Тутельян, д.м.н., член-корр. РАН, зав. лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи²

Е. В. Тиванова, рук. направления лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии²

О. А. Квасова, врач-эпидемиолог, рук. эпидемиологической службы²

В. Г. Акимкин, д.м.н., проф., акад. РАН, директор²

¹ФГБУ «48-й центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, г. Сергиев Посад

²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

Virucidal activity of pulsed ultraviolet radiation of continuous spectrum against SARS-CoV-2 coronavirus

A. Yu. Zverev, S. V. Borisevich, N. Ya. Chepurenkov, D. N. Masyakin, E. A. Kovalchuk, V. A. Bykov, V. V. Trufanova, A. V. Tutelyan, E. V. Tivanova, O. A. Kvasova, V. G. Akimkin

The 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of Russia, Sergiev Posad; Central Research Institute of Epidemiology, Moscow; Russia

Резюме

Изучено воздействие импульсного ультрафиолетового (УФ) излучения сплошного спектра на инактивацию нового коронавируса SARS-CoV-2 на металлических поверхностях. Подтверждена способность генераторов импульсного УФ-излучения сплошного спектра полностью инактивировать возбудитель COVID-19 в течение 3 минут («Альфа-06») и 6 минут 45 секунд («Альфа-09») работы установок. Показано, что применение установок высокоинтенсивного импульсного УФ-излучения сплошного спектра в общем комплексе санитарно-гигиенических мероприятий в течение длительного времени (5 месяцев) позволяет обезопасить персонал медицинских организаций, в частности сотрудников лабораторного ПЦР-центра, от заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19.

Ключевые слова: новый коронавирус, COVID-19, импульсное УФ-излучение, вирулицидное действие, обеззараживание воздуха и поверхностей.

Summary

The effect of pulsed ultraviolet (UV) radiation of a continuous spectrum on the inactivation of the novel SARS-CoV-2 coronavirus on metal surfaces was studied. The ability of generators of pulsed UV radiation of a continuous spectrum to completely inactivate the causative agent of COVID-19 within 3 minutes (Alpha-06) and 6 minutes and 45 seconds (Alpha-09) of the installation was confirmed. It has been shown that the use of high-intensity pulsed UV radiation of a continuous spectrum in the general complex of sanitary and hygienic measures for a long time (5 months) allows the personnel of medical organizations, in particular, employees of the laboratory PCR centre, to be protected from the disease of the new coronavirus infection COVID-19.

Key words: new coronavirus, COVID-19, pulsed UV radiation, virucidal effect, disinfection of air and surfaces.

Введение

В связи с пандемией COVID-19 государственные медицинские и противоэпидемические службы России и большинства стран мира предпринимают беспрецедентные меры по профилактике и ликвидации данной угрозы [1, 2, 3].

Основными путями передачи нового коронавируса SARS-CoV-2 являются воздушно-капельный (кашель и чихание) и контактный (через прикосновения). Коронавирус сохраняется в воздухе виде аэрозоля на протяжении 8–10 часов, на бумаге – 3 часа, на банкнотах – 4 дня, на дереве и одежде – 2 дня, на стекле – 4 дня, на металле и пластике – 7 дней [4]. Поэтому обязательному обеззараживанию должны подвергаться не только воздух, но и поверхности объектов в помещении [5, 6].

Наименее трудоемкими и универсальными методами, позволяющими одновременно обеззараживать воздух и поверхности помещений, являются аэрозольная обработка химическими дезинфектантами и облучение бактерицидным ультрафиолетовым излучением. Широкое использование аэрозольной дезинфекции ограничивается высокой токсичностью применяемых химических дезинфектантов и длительным временем (до 3–4 часов) воздействия, основная часть которого затрачивается на их нейтрализацию для безопасной эксплуатации помещений. При разработке конкретной бактерицидной установки на основе ультрафиолетовой технологии требуется знание ее биоцидных доз, которые необходимы для доказательства ее эффективности в отношении определенного микроорганизма или

вируса [7]. Значения этих доз необходимы для разработки оптимальных режимов работы бактерицидной установки для их инактивации в воздухе и (или) на открытых поверхностях. Режимы, сочетающие высокую степень инактивации конкретных микроорганизмов и вирусов (99,99–100%) за минимальное время обработки, смогут обеспечить высокую надежность дезинфекционных мероприятий в сочетании с низкой трудоемкостью.

В России и за рубежом в клиническую практику в качестве наиболее эффективного, оперативного и наименее трудоемкого метода активно внедряется ультрафиолетовая технология, использующая высокоинтенсивное ультрафиолетовое излучение сплошного спектра. Созданные на ее основе импульсные установки с ксеноновыми лампами, предназначенные для обеззараживания воздуха и открытых поверхностей помещений, демонстрируют высокую эффективность в отношении самых устойчивых микроорганизмов (MRSA, VRE, *C. difficile*, МЛТУ-, ШЛУ-ТБ) и вирусов (полиомиелит, грипп А, гепатит С, аденовирус) за минимальное время (от 1 минуты) [8, 9, 10].

Исследование возможности высокоэффективного обеззараживания поверхностей, загрязненных коронавирусом SARS-CoV-2, с помощью ультрафиолетового (УФ) излучения сплошного спектра и определение вирулицидных доз для получения требуемого эффекта являются актуальной задачей, позволяющей грамотно разработать методы и регламенты обеззараживания помещений импульсными бактерицидными установками.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования эффективности инактивации коронавируса на поверхности с помощью импульсного УФ-излучения сплошного спектра проводились на базе 48-го ЦНИИ Минобороны России.

Исследования проводились с учетом основных требований санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.3118–13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», руководства Р 3.5.1904–04 «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях», методическими указаниями МУ 3.5.2431–08 «Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств» (2010), а также по общепринятым методикам, разработанным в ЦНИИ Минобороны России.

Оборудование

В качестве источников импульсного УФ-излучения сплошного спектра в экспериментах использовались импульсные ксеноновые лампы, работающие в составе передвижной импульсной УФ-установки «Альфа-06» и переносной импульсной УФ-установки «Альфа-09». Установки генерируют импульсы света с частотами 2,5 и 3,3 Гц. Средняя электрическая мощность ксеноновой лампы установки «Альфа-06» составляла 1000 Вт, установки «Альфа-09» – 200 Вт. Соответственно пиковая мощность вспышки ультрафиолетового излучения достигала значений 900 и 170 кВт во всем диапазоне УФ-излучения.

Тест-объекты

В качестве тест-объектов использовались металлические поверхности размером 5×5 см из нержавеющей стали марки 12Х18Н10Т, равномерно загрязненные штаммами коронавируса.

Тест-вирус

В исследованиях использовалась живая культура вируса SARS-CoV-2 (изолят В от 16.03.2020) с исходной биологической активностью $5,8 \times 10^6$ БОЕ $\times$ мл⁻¹.

Определение биологической концентрации коронавируса (биологической активности, уровней контаминации) проводили на флаконах с монослоем суточного возраста клеток Vero C1008 (площадью 25 см²) методом негативных колоний под агаровым покрытием. Биологическую активность рассчитывали по формуле (1)

$$A = \frac{a_{cp} \cdot b_n}{c} \quad (1),$$

где A – биологическая активность (БОЕ $\times$ мл⁻¹); a_{cp} – среднее взвешенное число негативных колоний на флакон, рассчитывали по формуле (2) (БОЕ); b_n – степень наивысшего разведения; c – объем инокулята (мл).

$$A_{cp} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{b_n \left(\frac{1}{b_1} + \frac{1}{b_2} + \dots + \frac{1}{b_n} \right)} \quad (2),$$

где a_1 – a_n – среднее число негативных колоний с 1-го по n -е разведение исследуемого материала; b_1 – b_n – степень разведения исследуемого материала.

Уровни контаминации поверхности тест-объектов, соответственно инициальную и вторичную контаминации рассчитывали по формуле (3):

$$A_s = \frac{A \cdot V}{S} \quad (3),$$

где A_s – уровень контаминации (БОЕ $\times$ см⁻²); V – объем сорбирующей жидкости, используемой для смыва биологического материала с поверхности (мл); S – площадь контаминации тест-объекта (см²).

Статистическую обработку данных проводили на основании вычисления среднего квадратического отклонения по результатам пяти экспериментов.

Персонал, проводящий исследования с микроорганизмами I–II групп патогенности, был обеспечен рабочей и защитной одеждой, средствами индивидуальной защиты и личной гигиены по регламентированным нормам. Испытания осуществлялись в «заразной» зоне по условиям максимально изолированной лаборатории.

Порядок проведения испытаний

Испытания проводили в рабочем помещении «заразной» зоны при температуре воздуха 24 ± 1 °C и относительной влажности 42 ± 3 %.

Установку «Альфа-06» располагали боком к размещенным вертикально на высоте 1,0 м тест-объектам на расстоянии 2,0 м от них (рис. 1).



Рисунок 1. Схема облучения тест-объекта установкой «Альфа-06».

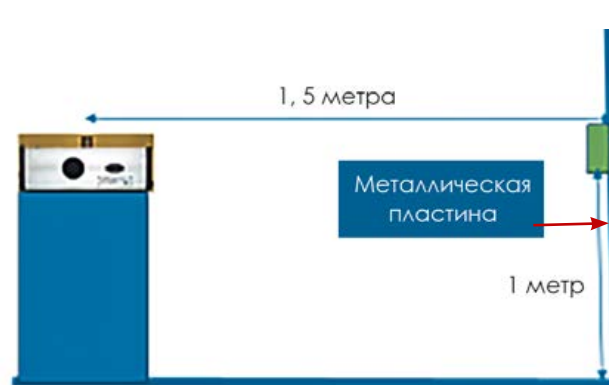


Рисунок 2. Схема облучения тест-объекта установкой «Альфа-09».

Установку «Альфа-09» располагали боком к размещенным вертикально на высоте 1,0 м тест-объектам на расстоянии 1,5 м от них (рис. 2).

Испытания установок проводились в штатных режимах работы «Бактерицидный», «Спороцидный», «Туберкулоцидный и фунгицидный», предназначенных для обеззараживания поверхностей (табл. 1).

Первоначально готовили монослой суточного возраста культуры клеток Vero во флаконах. Для этого из флаконов с монослоем клеток, отобранных для опыта, после термостатирования сливали ростовую среду и маркировали их. На тест-объекты наносили по 0,1 мл исходной культуры вируса с биологической активностью $1,0 \times 10^6$ БОЕ $\times$ мл⁻¹. Этот объем равномерно распределяли по всей поверхности тест-объекта стеклянным шпателем. Тест-объекты распределялись на контрольные и опытные. Контрольными служили тест-объекты на момент нанесения коронавируса, опытными – после их облучения с различной экспозицией с помощью импульсных УФ-установок. На каждом режиме облучалось по пять тест-объектов.

Пробы с тест-объектов до и после облучения отбирали методом смыва двумя марлевыми тампонами (увлажненным и сухим). Каждая проба подвергалась ручному встряхиванию в течение 3 минут в 10 мл сорбирующей жидкости.

Для определения в пробах биологической активности коронавируса в каждый флакон с монослоем вносили по 0,5 мл соответствующего разведения сорбирующей жидкости и, покачивая флакон, равномерно распределяли инокулят по всему монослою. Флаконы укладывали горизонтально, при этом поверхность с инфицированным клеточным монослоем находилась внизу. Флаконы инкубировали в термостате при температуре $37,0 \pm 0,5$ °C в течение 60 минут. После инкубирования инокулят удаляли пипеткой, и в каждый флакон вносили по 10 мл первичного агарового покрытия, доведенного до температуры $42,0 \pm 0,5$ °C. Далее флаконы укладывали горизонтально, при этом поверхность с инфицированным монослоем находилась внизу. После затвердевания покрытия (10–15 минут) флаконы переворачивали монослоем вверх и помещали в термостат с температурой $37,0 \pm 0,5$ °C на 48 часов. По истечении срока инкубации с целью окрашивания монослоя культуры клеток во флаконы вносили вторичное агаровое покрытие, содержащее нейтральный красный, в объеме

Таблица 1
Длительность облучения тест-объектов, контаминированных коронавирусом SARS-CoV-2, с помощью импульсных УФ-установок серии «Альфа»

Режимы обеззараживания поверхностей	Эффективное время воздействия	
	«Альфа-06»	«Альфа-09»
Режимы 1, 4 («Бактерицидный»)	2 мин.	3 мин. 39 с
Режимы 2, 5 («Спороцидный»)	3 мин.	6 мин. 45 с
Режимы 3, 6 («Туберкулоцидный и фунгицидный»)	6 мин. 30 с	14 мин. 3 с

10 мл и продолжали инкубировать при температуре $37,0 \pm 0,5$ °C в течение 24 часов. После чего подсчитывали количество негативных колоний. Испытания сопровождалось постановкой следующих контролей: контроль исходной биологической активности коронавируса; контроль разводящей (сорбирующей) жидкости, контроль культуры клеток Vero 1008.

Результаты исследований

Результаты определения уровней исходной и остаточной контаминации тест-объектов, контаминированных коронавирусом, а также эффективность их обеззараживания установкой «Альфа-06» для режимов № 1–3 представлены в табл. 2.

Результаты определения уровней исходной и остаточной контаминации тест-объектов, контаминированных коронавирусом, а также эффективность их дезинфекции установкой «Альфа-09» для режимов № 4–6 представлены в табл. 3.

Результаты экспериментов позволяют констатировать, что импульсное ультрафиолетовое излучение сплошного спектра, генерируемое установками «Альфа-06» и «Альфа-09» обладает высокой вирулицидной активностью в отношении коронавируса SARS-CoV-2 вплоть до полной его инактивации (100 %).

Испытания импульсных установок показали, что эффективность обработки поверхности установкой «Альфа-06» при использовании режима «Бактерицидный» составляет 99,98 % за 2 минуты воздействия, режимов «Спороцидный» и «Туберкулоцидный и фунгицидный» – 100 % за 3 минуты и 6 минут 30 секунд соответственно. Эффективность обработки поверхности установкой «Альфа-09» при использовании режима «Бактерицидный» составляет 99,99 % за 3

Таблица 2
Эффективность обеззараживания тест-объектов установкой «Альфа-06»

Среднее значение исходного уровня контаминации тест-объекта, $n \times 10^3$ БОЕ $\times$ см ⁻²		Значение остаточного уровня контаминации, БОЕ·см ⁻²		
		Режим 1 «Бактерицидный»	Режим 2 «Спороцидный»	Режим 3 «Туберкулоцидный и фунгицидный»
0 мин.	6,5 мин.	Среднее	Среднее	Среднее
3,62 ± 0,28	2,95 ± 0,16	0,72 ± 0,60	0	0

Таблица 3
Эффективность обеззараживания тест-объектов установкой «Альфа-09»

Среднее значение исходного уровня контаминации тест-объекта, $n \times 10^3$ БОЕ $\times$ см ⁻²		Значение остаточного уровня контаминации, БОЕ·см ⁻²		
		Режим 4 «Бактерицидный»	Режим 5 «Спороцидный»	Режим 6 «Туберкулоцидный и фунгицидный»
0 мин.	14,0 мин.	Среднее	Среднее	Среднее
3,62 ± 0,28	2,63 ± 0,21	0,48 ± 0,44	0	0

минуты 39 секунд воздействия, режимов «Спороцидный» и «Туберкулоцидный и фунгицидный» – 100 % за 6 минут 45 секунд и 14 минут 3 секунды соответственно.

Полученные результаты позволяют определить летальные поверхностные бактерицидные дозы импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра, требуемые для полного обезвреживания поверхностей от SARS-CoV-2. Так, для достижения 100%-ной его инактивации на металлической поверхности требуются бактерицидные дозы (в спектральном интервале 200–300 нм) до 30 мДж/см², а оценка пороговых доз (90%-ная эффективность) дает значения, не превышающие $D_{90} = 4$ мДж/см². Эти данные позволяют разработать режимы работы импульсных УФ-установок и порядок обработки помещений с позиций доказательной медицины.

Следует подчеркнуть, что эффективность высокоинтенсивного УФ-излучения сплошного спектра была не раз доказана в конкретных ситуациях с круглосуточным производственным циклом и необходимостью обеззараживания не только воздуха, но и поверхностей. В этих случаях недостаточно применения бактерицидных УФ-облучателей закрытого типа (не происходит обеззараживания рабочих поверхностей) или настенных бактерицидных УФ-облучателей открытого типа (необходимо длительное время [около часа] работы облучателя при отсутствии людей).

Лабораторный центр ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, выполняющий работы по приему и диагностике биоматериала от населения, потенциально содержащего новый коронавирус SARS-CoV-2, был оснащен российскими импульсными ультрафиолетовыми установками серии «Альфа». С их помощью для предупреждения циркуляции возбудителей вирусной инфекции круглосуточно проводится дезинфекция по типу заключительной более 50 лабораторных помещений центра с интервалом 2–3 часа между сеансами работы УФ-облучателей.

С начала марта по август текущего года в зоне повышенного эпидемиологического риска, которой являются помещения центра, круглосуточно находились около 40 сотрудников, выполняющих производственные операции по определению наличия РНК нового коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале пациентов. За указанный период лабораторным персоналом было проведено более

750 тысяч ПЦР-исследований при пропускной способности центра от 2500 анализов в сутки в марте до 10000 в июле. Применение установок высокоинтенсивного импульсного УФ-излучения сплошного спектра в общем комплексе мероприятий, обеспечивающих санитарно-эпидемиологическое благополучие медицинского персонала, позволило выдержать заданный график работы центра, что явилось чрезвычайно важным в период развития пандемии и экспоненциального роста заболеваемости новой коронавирусной инфекцией. У работающего персонала не было отмечено случаев заражения и вынужденной самоизоляции, поступления сотрудников центра в профильные стационары с диагнозом COVID-19.

Опыт практического применения установок, генерирующих высокоэффективное импульсное УФ-излучение сплошного спектра, а также полученные экспериментальные результаты позволяют рекомендовать использование подобного оборудования для обеззараживания помещений при проведении в них противоэпидемических мероприятий, связанных с высоким риском заноса и дальнейшего распространения возбудителя коронавирусной инфекции.

Список литературы

1. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия МЗ РФ и Роспотребнадзора – 1 (29.01.2020).
2. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Guidance for wearing and removing personal protective equipment in healthcare settings for the care of patients with suspected or confirmed COVID-19. Stockholm: ECDC; 2020.
3. Профилактика заноса и распространения COVID-19 в медицинских организациях. Временные методические рекомендации. Версия 2 от 14.05.2020. // Брико Н.И., Зуева А.П., и соавторы. 2020. 46 с.
4. Alex Chin, Julie Chu, Mahen Perera, Kenrie Hui, Hui-Ling Yen. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions // medRxiv. 2020–03–27.
5. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. СанПиН 2.1.3.2630–10, 2016.
6. Об инструкции по проведению дезинфекционных мероприятий для профилактики заболеваний, вызываемых коронавирусами. Письмо Роспотребнадзора № 02/770–2020–32 от 23.01.2020.
7. Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях. Руководство Р 351904–04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2005. 46 с.
8. Н.В. Шестопалов, В.Г. Акимкин и соавторы. Исследование бактерицидной эффективности обеззараживания воздуха и открытых поверхностей импульсным ультрафиолетовым излучением сплошного спектра. Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена, 2017, т. 2, № 18, стр. 5–8.
9. Stibich M., Stachowiak J., Tanner B., Berkheiser M., Moore L., Raad I., Chermaly R.F. Evaluation of a pulsed-xenon ultraviolet room disinfection device for impact on hospital operations and microbial reduction. Infection Control & Hospital Epidemiology, Mar 2011, vol. 32, N3, pp. 286–288.
10. Priya Sampathkumar, Carla Folkert, Jean E. Barth and other. A trial of pulsed xenon ultraviolet disinfection to reduce Clostridioides difficile infection. American Journal of Infection Control, 2019, vol. 47, pp. 406–408.

Для цитирования: Зверев А.Ю., Борисевич С.В., Чепуренков Н.Я., Масякин Д.Н., Ковальчук Е.А., Быков В.А., Труфанова В.В., Тутельян А.В., Тиванова Е.В., Квасова О.А., Акимкин В.Г. Вирулицидная активность импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра в отношении коронавируса SARS-CoV2. Медицинский алфавит. 2020; (18): 55–58. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-18-55-58>.

For citation: Zverev A. Yu., Borisevich S. V., Chepurenkov N. Ya., Masyakin D. N., Kovalechuk E. A., Bykov V. A., Trufanova V. V., Tutelyan A. V., Tivanova E. V., Kvasova O. A., Akimkin V. G. Virucidal activity of pulsed ultraviolet radiation of continuous spectrum against SARS-CoV2 coronavirus. Medical alphabet. 2020; (18): 55–58. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-18-55-58>.

