

Лечение и профилактика

УДК 619:616.995.1

DOI:

Поступила в редакцию 28.08.2015

Принята в печать 14.01.2016

Для цитирования:

Липатов Е. И., Соснин Э. А., Авдеев С. М. Инактивация яиц гельминтов узкополосным ультрафиолетовым излучением эксимеров. // Российский паразитологический журнал. – М., 2016. – Т.35. – Вып. 1. – С.

For citation:

Lipatov E. I., Sosnin E. A., Avdeev S. M. The inactivation of helminth eggs with the narrow-bandwidth radiation of excimer lamps. Russian Journal of Parasitology, 2016, V.35, Iss.1, pp.

ИНАКТИВАЦИЯ ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ УЗКОПОЛОСНЫМ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ЭКСИМЕРОВ

Липатов Е. И., Соснин Э. А., Авдеев С. М.

Институт сильноточной электроники СО РАН

634055, г. Томск, пр-т Академический, 2/3, e-mail: lipatov@loi.hcei.tsc.ru

Реферат

Цель исследований – изучение влияния узкополосного ультрафиолетового излучения на яйца *Opisthorchis felinus* и *Diphyllbothrium latum*.

Материалы и методы. Яйца гельминтов обнаруживались методом мазка по Като. Обнаруженные яйца смывались дистиллированной водой в пластиковый контейнер и подвергались облучению ультрафиолетом. Инактивацию яиц определяли при микроскопии.

Результаты и обсуждение. Установлено, что обеззараживание воды от яиц гельминтов излучением на 222 нм на 40–70 % эффективнее, чем при облучении на 282 нм. При этом поверхностная доза облучения на 222 нм (до 5 мДж/см²) была на порядок меньше, чем при облучении на 282 нм (до 100 мДж/см²). При дозе облучения на поверхности воды до 100 мДж/см² УФ-излучением на 282 нм обнаружено уничтожение яиц *O. felinus* до 30 % от изначального числа. При дозе облучения на поверхности воды до 5 мДж/см² УФ-излучением на 222 нм обнаружено уничтожение яиц *O. felinus* до 85 % от изначального числа. При аналогичных поверхностных дозах облучения на 222 нм уничтожалось до 56 % яиц *D. latum*. Более коротковолновое излучение на 222 нм эффективнее разрушает оболочку яиц *O. felinus* за счет большей энергии фотонов. Меньшая эффективность инактивации яиц *D. latum* при облучении на 222 нм предположительно связана с особенностями строения оболочки яиц.

Ключевые слова: инактивация, гельминты, яйца, обеззараживание, ультрафиолет, эксимер.

Введение

На территории Сибири широко распространены описторхоз (возбудитель *Opisthorchis felinus*) и дифиллоботриоз (возбудитель *Diphyllbothrium latum*). Возбудители этих болезней имеют трехстадийный жизненный цикл. Попадая в водоёмы, яйца этих гельминтов заражают пресноводных моллюсков или зоопланктон. Возбудителем второй стадии являются личинки – мирацидий и процеркоид, вторым носителем – пресноводные рыбы, которые в мышцах и

внутренних органах содержат возбудителей третьей стадии – метацеркарии и плероцеркоиды. Конечным носителем является человек и хищные млекопитающие: кошки, собаки, лисицы, песцы, волки, а также свиньи.

Перспективна профилактика заражения первой и третьей стадий развития гельминтов, третьей – обеспечивается соответствующей обработкой рыбы, употребляемой в пищу человеком и животными, и соблюдением комплексных гигиенических мер. Необходимо предотвратить заражение водоемов яйцами гельминтов путем обеззараживания промышленных и бытовых стоков. Для дегельминтизации сточных вод в очистных сооружениях применяют отстойники, аэрацию и воздействие окислительными реагентами. Но при этом погибает не более 75 % яиц гельминтов [1], что приводит к возникновению устойчивых очагов гельминтозов.

Обеззараживание ультрафиолетовым (УФ) излучением может служить дополнительным процессом в комплексе мер по дегельминтизации сточных вод. Воздействие УФ-излучения на биологические объекты имеет различный характер в зависимости от длины волны излучения и поглощенной дозы. Излучение в спектральном диапазоне 320–400 нм (УФ-А) присутствует в солнечном свете, поэтому живые организмы имеют предусмотренную эволюцию защиту от такого излучения или используют его, например, в процессе фотосинтеза. Спектральный диапазон 290–320 нм, условно называемый УФ-В диапазоном, присутствует в солнечном свете весной и летом. Умеренные дозы УФ-В излучения оказывают стимулирующее действие на биологические объекты, вызывают пигментацию и синтез полезных веществ. Большие дозы УФ-В излучения действуют негативно на живые организмы, приводят к неконтролируемому делению клеток, повреждают ДНК. К УФ-С диапазону относят излучение в спектральной области 200–290 нм. На поверхности Земли на уровне моря в спектре солнечного света излучение УФ-С диапазона отсутствует в любое время года. Поэтому у живых организмов нет природной защиты от УФ-С излучения, и даже его малые дозы оказывают инактивирующее действие на их развитие и размножение.

Широко применяемые для дезинфекции и стерилизации ртутные лампы низкого давления (РЛНД) имеют линейчатый спектр (рис. 1), вызывающий инактивацию различных биосистем. Однако РЛНД содержат ртуть. При разбивании ртутной лампы, содержащей 80 мг металла, при условии его полного испарения, происходит загрязнение воздуха до уровня ПДК в помещении 300 000 м³ [2]. Поэтому для применения в биологии, медицине и ветеринарии в странах ЕС было принято решение о постепенном выводе из хозяйственного оборота РЛНД.

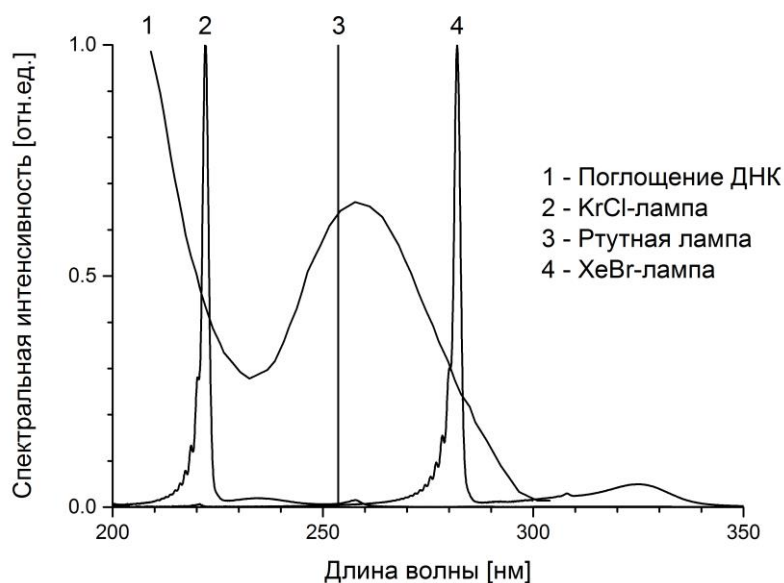


Рис. 1. Спектры поглощения и излучения:

1 – общий спектр поглощения ДНК; 2 – спектр излучения KrCl-эксилампы барьерного разряда с максимумом на 222 нм; 3 – линия ртутной лампы на 253,7 нм; 4 – спектр излучения XeBr-эксилампы барьерного разряда с максимумом на 282 нм

Развитие новых источников УФ-излучения – эксиламп – вывело их из разряда опытных образцов на уровень промышленного производства [3, 4]. Эксилампы с рабочими молекулами KrBr, KrCl, XeBr и XeCl излучают на различных длинах волн, что позволяет проводить комбинированное воздействие в спектральном диапазоне 206–308 нм [5]. При этом доза, необходимая для инактивации типичных вирусов и бактерий, составляет от 5 до 20 мДж/см².

По сравнению с РЛНД, по ряду позиций эксилампы имеют лучшие параметры, при этом не содержат ртуть, что создает им перспективу для использования в различных бактерицидных установках [5–7].

Целью данной работы было изучение влияния излучения KrCl- и XeBr-эксилампами со спектральными максимумами на 222 и 282 нм соответственно на яйца *Opisthorchis felinus* и *Diphyllbothrium latum* в воде с целью их инактивации.

Материалы и методы

Образцы для исследований были подготовлены в Лаборатории паразитологических исследований Центра гигиены и эпидемиологии Томской области. Объект изучения – яйца гельминтов, которые обнаруживали при исследовании образцов кала, поступающих в Лабораторию паразитологических исследований из медицинских учреждений г. Томска.

Образцы готовили методом толстого мазка по Като [8]. Для этого тонкий слой фекалий на предметном стекле покрывали гигроскопическим целлофаном, пропитанным контрастным раствором (смесь глицерина, водного раствора фенола 6 % и бриллиантовой зелени 3 %).

Готовый образец исследовали методом микроскопии (микроскоп медицинский МИКМЕД-6, снабженный фотокамерой). Число яиц подсчитывали визуально. На рисунке 2 приведены микрофотографии яиц *Opisthorchis felinus*, сделанные при проведении настоящих исследований с увеличением $\times 10$. Количество яиц в образце – от 80 до 950 экз.

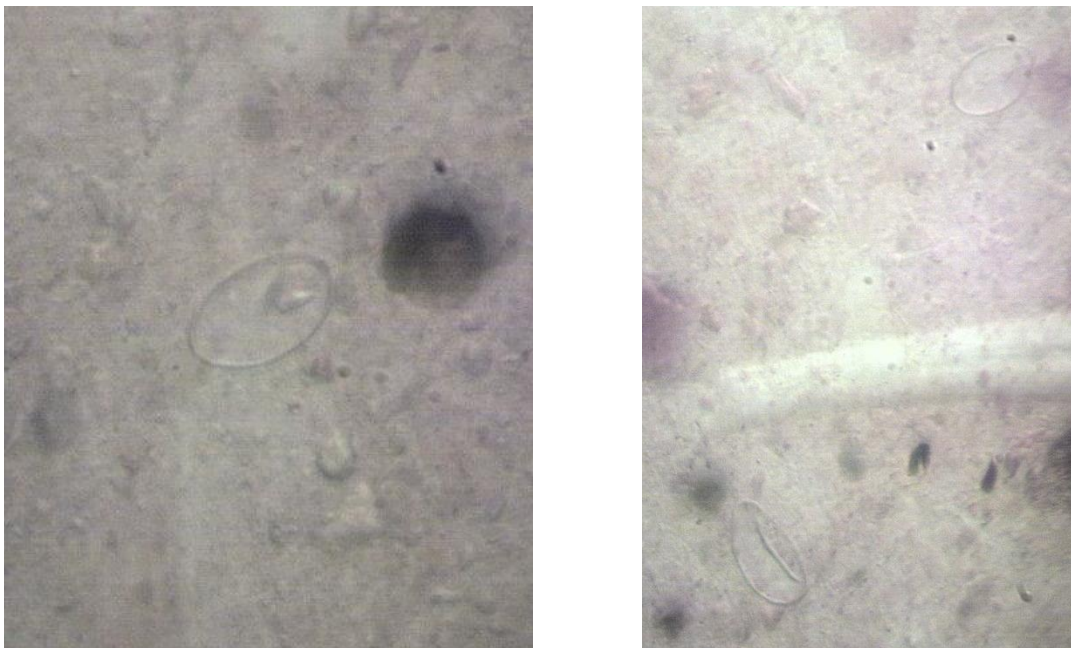


Рис. 2. Микрофотографии яиц *Opisthorchis felineus* (увеличение $\times 10$)

Биологический материал, содержащий яйца гельминтов, смывали с предметного стекла дистиллированной водой в индивидуальный для каждого образца пластиковый контейнер. Объем воды в образце – 250–350 см³ при толщине слоя 1–2 см.

Содержимое контейнера через открытую крышку облучали KrCl- или XeBr-эксилампами с поверхностной дозой излучения от 0,3 до 10 мДж/см² или от 4 до 100 мДж/см², соответственно. Время облучения – от 15 до 120 с.

Облученную жидкость переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали 5 мин при частоте 1000 об./мин. Надосадочную жидкость удаляли.

Осадок переносили на предметное стекло и микроскопировали для визуального подсчета числа яиц и анализа их морфологического строения.

Образцы воды, зараженные яйцами *O. felineus*, подвергали облучению KrCl- или XeBr-эксилампами, образцы воды, зараженные яйцами *Diphyllbothrium latum*, – только KrCl-эксилампой. Облучение проводили однократно.

Для проведения УФ-облучения образцов использовали KrCl- и XeBr-эксилампы ($\lambda_{\text{KrCl}} = 222$ нм, $\lambda_{\text{XeBr}} = 282$ нм), разработанные в Институте сильноточной электроники СО РАН [4]. Спектры излучения этих источников УФ-излучения приведены на рисунке 1. Средняя мощность излучения составляла $P_{222} \cong 9$ мВт/см² и $P_{282} \cong 30$ мВт/см² на поверхности колбы эксилампы.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что инактивация яиц *O. felineus* излучением KrCl-эксилампы более эффективна по сравнению с облучением XeBr-эксилампой, поскольку при средней мощности KrCl-эксилампы в 3 раза меньшей, чем у XeBr-эксилампы доля яиц *O. felineus*, сохранившихся после облучения, на 40–70 % меньше, чем для случая XeBr-эксилампы (рис. 3). Максимум излучения KrCl-эксилампы соответствует энергии фотона 5,6 эВ, что заметно выше, чем энергия фотонов излучения XeBr-эксилампы ($\lambda_{\text{XeBr}} = 282$ нм) – 4,4 эВ. Мы предполагаем, что фотоны с большей энергией эффективнее разрушают оболочку яиц *O. felineus*. В условиях проведенного эксперимента доля яиц *O. felineus*, сохранившихся после облучения на 222 нм, составила 15–30 % при поверхностных дозах излучения 5,1–0,3 мДж/см². При облучении на 282 нм доля

сохранившихся яиц *O. felineus* составила 70-90 % при поверхностных дозах излучения 116–4 мДж/см².

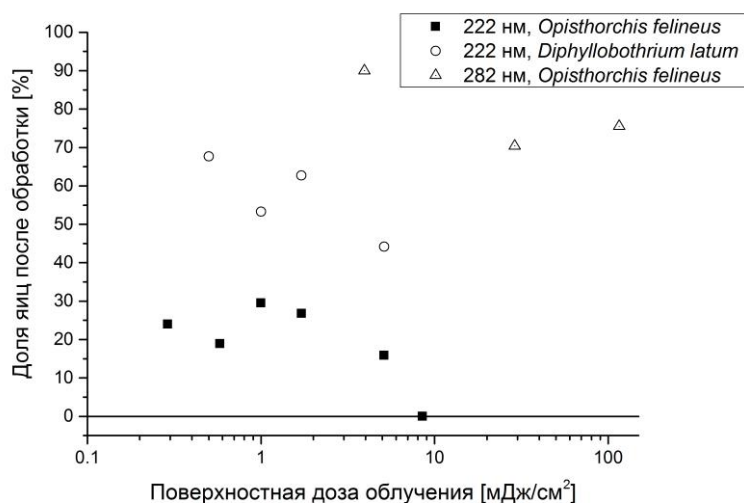


Рис. 3. Доля яиц *Opisthorchis felineus* и *Diphyllbothrium latum*, сохранившихся после облучения в зависимости от дозы облучения KrCl- и XeBr-эксиламп

Для одного из образцов воды, содержащего яйца *O. felineus*, после воздействия излучением на 222 нм с поверхностной дозой 8,5 мДж/см², наблюдали полное отсутствие яиц в образце. Линейная аппроксимация зависимости доли яиц *O. felineus* при облучении на 222 нм (без учета нулевого экспериментального значения при 8,5 мДж/см²) позволяет оценить величину поверхностной дозы, необходимую для полной инактивации – 15,6 мДж/см².

Облучение образцов воды, содержащих яйца *D. latum*, показало меньшую эффективность инактивации излучением на 222 нм, чем для образцов, содержащих яйца *O. felineus*. В условиях проведенного эксперимента доля яиц *D. latum*, сохранившихся после облучения на 222 нм, составила 44–68 % при поверхностных дозах излучения 5,1–0,5 мДж/см².

Различия в достигнутых уровнях инактивации на $\lambda = 222$ нм для случая яиц *O. felineus* и *D. latum* могут быть связаны с большей стойкостью защитной оболочки яиц *D. latum*, а также различием условий проведения эксперимента (объем воды, мутность, распределение яиц).

Заключение

В работе приведены первые результаты исследования метода обеззараживания воды, содержащей яйца *O. felineus* и *D. latum*, УФ-излучением эксиламп барьерного разряда со спектральными максимумами излучения при 222 и 282 нм (KrCl- и XeBr-эксилампы, соответственно).

Уровень инактивации яиц *O. felineus* при УФ-облучении на $\lambda = 222$ нм выше на 40–70 % по сравнению с УФ-облучением на 282 нм. При УФ-облучении на 222 нм воды, зараженной яйцами *O. felineus*, при поверхностной дозе УФ-излучения 5,1–0,3 мДж/см² доля сохранившихся яиц составила 15–30 % от изначального числа.

Уровень инактивации яиц *D. latum* при УФ-облучении на $\lambda = 222$ нм значительно меньше по сравнению с инактивацией той же эксилампой яиц *O. felineus* при сравнимых условиях. При поверхностной дозе 5,1–0,5 мДж/см² УФ-излучения на 222 нм доля сохранившихся яиц *D. latum* составила 44–68 % от изначального числа. Различие эффективности обеззараживания воды от яиц различных гельминтов излучением на одной длине волны можно объяснить влиянием неконтролируемого распределения яиц в контейнере, неравномерной их

засветкой и различной мутностью воды в образцах. Для уверенного измерения зависимости доли яиц после облучения от поверхностной дозы необходимо проведение систематических исследований в одинаковых условиях проведения экспериментов (количество воды, мутность образца, равномерное распределение яиц в воде и т. д.). При этом нельзя исключать, что визуально наблюдаемые методом микроскопии яйца гельминтов после облучения эксилампами потеряли жизнеспособность. Кроме того, защитная оболочка яиц различных гельминтов может содержать пигмент (например, билирубин), что снижает эффективность УФ-воздействия.

Авторы благодарят Администрацию Института сильноточной электроники СО РАН в лице директора член-корр. РАН Н. А. Ратахина и зам. директора по НР к.ф.-м.н. И. Ю. Турчановского за идейную и организационную поддержку работы, а также Лабораторию паразитологических исследований Центра гигиены и эпидемиологии по Томской области в лице заведующей Т. Н. Полторацкой и сотрудника Е. Р. Вежиной за подготовку и исследование образцов.

Литература

1. Шевцов Д. А., Долженко Л. А., Гримайло Л. В. и др. Способ дегельминтизации хозяйственно-бытовых сточных вод. Патент RU 2167825. – Приоритетная дата: 21.12.1999. – Дата публикации: 27.05.2001.
2. Байнева И., Байнев В. От ламп накаливания к энергоэкономичным источникам света: аспекты перехода // Фотоника. – 2011. – № 6. – С. 30.
3. Соснин Э. А., Тарасенко В. Ф. Эксилампы – перспективный инструмент фотоники // Фотоника. – 2015. – № 1. – С. 60–69.
4. Бойченко А. М., Ломаев М. И., Панченко А. Н. и др. Ультрафиолетовые и вакуумно-ультрафиолетовые эксилампы: физика, техника и применения. – Томск: STT, 2011. – 512 с.
5. Соснин Э. А., Тарасенко В. Ф., Жданова О. С., Красножонов Е. П. Эксилампы – новый инструмент для проведения фотобиологических исследований // Биотехносфера. – 2012. – №3–4. – С. 52–59.
6. Tarasenko V. F., Sosnin E. A., Zhdanova O. S., Krasnozhenov E. P. Applications of excilamps in microbiological and medical investigations // in Book “Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security” (NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology) (Eds. By Z. Machala, K. Hensel, Yu. Akishev). Springer, 2012. – P. 251–263
7. Новые направления в научных исследованиях и применении эксиламп / С. В. Автаева, О. С. Жданова, А. А. Пикулев и др. – Томск: STT, 2013. – 246 с.
8. МУК 4.2.3145-13. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов. Методические указания, утв. Роспотребнадзором 26.11.2013

References

1. Avtaeva S. V., Zhdanova O. S., Pikulev A. A. et al. *Novye napravleniya v nauchnyh issledovaniyah i primenenii eksilamp*. [Recent trends in scientific research and application of excimer lamps]. Tomsk, STT, 2013. 246 p.
2. Bayneva I., Baynev V. From glow lamps to energy efficient light sources: aspects of changeover. *Fotonika* [Photonics], 2011, no. 6, p. 30.
4. Boychenko A. M., Lomaev M. I., Panchenko A. N. et al. *Ul'trafiioletovye i vakuumno-ul'trafiioletovye eksilampy: fizika, tehnika i primeneniya*. [Ultraviolet and vacuum ultraviolet excimer lamps: physics, techniques and usage]. Tomsk, STT, 2011. 512 p.

5. Shevtsov D. A., Dolzhenko L. A., Grimaylo L. V. et al. *Sposob degel'mintizacii hozjajstvenno-bytovyh stochnyh vod* [The way of dehelminthization of domestic waste water]. Patent RF no. 2167825, 2001.

3. Sosnin Je. A., Tarasenko V. F. Excimer lamps – a perspective photonic instrument *Fotonika* [Photonics], 2015, no.1, pp. 60–69.

5. Sosnin E. A., Tarasenko V. F., Zhdanova O. S., Krasnozhenov E. P. Excimer lamps – a new instrument for photobiological studies. *Biotehnosfera* [Biotechnosphere], 2012, no. 3–4, pp. 52–59.

6. Tarasenko V. F., Sosnin E. A., Zhdanova O. S., Krasnozhenov E. P. Applications of excimer lamps in microbiological and medical investigations. *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security (NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology)*, Springer, 2012, pp. 251–263.

7. *Novye napravleniya v nauchnyh issledovaniyah i primenenii jeksilamp* / S. V. Avtaeva, O. S. Zhdanova, A. A. Pikulev i dr. – Tomsk: STT, 2013. – 246 s.

8. *Metody kontrolya. Biologicheskie i mikrobiologicheskiye faktory. Laboratornaya diagnostika gel'mintozov i protozoozov. Metodicheskie ukazaniya.* [Methods of control. Biological and microbiological factors. Laboratory diagnostics of helminthiasis and protozoan diseases. Method. Guidelines approved by Rospotrebnadzor 26.11.2013], 2013.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V.35, Iss.1

Received 26.08.2015

Accepted 14.01.2016

THE INACTIVATION OF HELMINTH EGGS WITH THE NARROW-BANDWIDTH RADIATION OF EXCIMER LAMPS

Lipatov E. I., Sosnin E. A., Avdeev S. M.

Institute of High Current Electronics SB RAS,

2/3 Akademichesky prosp., Tomsk, Russia

lipatov@loi.hcei.tsc.ru

Abstract

Objective of research: to study the inactivation of eggs of *Opisthorchis felinus* and *Diphyllbothrium latum* in the water by the narrowband ultraviolet excimer lamp radiation 222 and 282 nm depending on the surface radiation dose.

Materials and methods: Helminth eggs were detected by the Kato technique. The revealed eggs were flushed into a plastic container with the distilled water and exposed to UV. The inactivation of eggs was confirmed by the method of optical microscopy.

Results and discussion: It was found that the recovery of helminth eggs from water was 40-70% more efficient by using UV radiation at 222 nm than at 282 nm.

In addition, the surface radiation dose at 222 nm (up to 5 mJ/cm²) was one order less than at 282 nm (up to 100 mJ/cm²).

Up to 30 % of the initial amount of *Opisthorchis felinus* eggs were inactivated at 282 nm surface radiation dose (up to 100 mJ/cm²).

Up to 85 % of the initial quantity of *Opisthorchis felinus* eggs were inactivated at 222 nm radiation on the water surface (up to 5 mJ/cm²).

Up to 56 % of *Diphyllbothrium latum* eggs were inactivated at the comparable 222 nm surface radiation dose.

Due to the higher photon energy, the more intensive shortwave radiation at 222 nm breaks shells of *Opisthorchis felineus* eggs more effectively.

We have a reason to suppose that some features of *Diphyllbothrium latum* egg shells make its inactivation at 222 nm less efficient in comparison with the inactivation of *Opisthorchis felineus* eggs at the same wavelength of radiation.

Keywords: inactivation, helminth, disinfection, ultraviolet, excimer lamps.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)