

614.777—022.3[576.858]—08:614.48

**VÝSLEDKY EXPERIMENTÁLNÍHO SROVNÁNÍ DEZINFEKČNÍHO ÚČINKU NĚKTERÝCH
PROSTŘEDKŮ PRO INDIVIDUÁLNÍ ÚPRAVU PITNÉ VODY
NA ZAMOŘENÍ PATOGENNÍMI VIRY**

V. FRAŇKOVÁ, J. KOLÁTOROVÁ, H. DUBANSKÁ

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

Experimenty, o kterých zde referujeme, byly provedeny na popud MNO-HT/ZS. Jejich účelem bylo porovnání účinnosti Pantocidu, chlórového preparátu, který byl dosud výhradním prostředkem určeným k individuální dezinfekci pitné vody v Československé lidové armádě, a jiných preparátů, které by pro tento účel eventuálně přicházely v úvahu. Konkrétně bylo ve srovnávacích experimentech vedle Pantocidu užito preparátů, jejichž dezinfekční účinek je podmíněn přítomností jódu a jeho sloučenin. Byl to jmenovitě Globalin (tetraglycin hydroperjodid) s obsahem 0,8 mg jódu v tabletě, výroba USA (Van Brode Milling Co. Inc., Clinton,

Massachusetts) a čs. výrobek firmy LACHEMA (pracovní název: tablety LACHEMA) s obsahem cca 0,5 mg jódu v tabletě. Bližší složení tohoto preparátu nebylo zatím publikováno.

Experimentální údaje: Dezinfekční prostředky byly použity v množství stanoveném návodem pro běžné použití v polních podmínkách, tj. 1 tableta na 750 ml vody. Pro stanovení dezinfekčního účinku na patogenní viry byla voda kontaminována experimentálně virem Coxsackie B1 (enterovirus 23). Tento virus byl zvolen jako model zamoření vody jednak proto, že patří k nejrezistentnějším virům, a to jak vůči chemickým, tak i fyzikálním vlivům a je

spolehlivým indikátorem účinnosti dezinfekčních prostředků na viry vůbec, jednak proto, že při přirozeném zamoření vod patogenními viry přichází především v úvahu právě zamoření enteroviry.

Virus byl použit ve formě purifikované, aby tak mohl být stanoven skutečný účinek dezinfekčního činidla na vlastní virion, jednak v nepurifikované formě, tak, jak se převážně vyskytuje v přírodních podmínkách, tj. chráněn organickými obaly zbytků původní hostitelské tkáně. Voda byla zamořena dávkou $10^{3.4}$ TCID₅₀ na 0,1 ml. Tato dávka překračuje vysoce pravděpodobnou koncentraci při přirozeném zamoření (a blíží se koncentraci, která se může event. vyskytovat ve stolici nemocných osob na vrcholu vylučování patogena).

Aby bylo možno posoudit vliv kvality vody na účinnost sledovaných prostředků, byla použita ve všech experimentech paralelně voda vltavská a vodovodní. Podobně pro stanovení vlivu teploty byly jednotlivé experimenty provedeny paralelně při +4 °C a při +20 °C. Účinek dezinfekčních prostředků byl sledován v intervalech 10, 20 a 30 minut expozice.

V jednotlivých experimentech bylo kontrolováno též pH vody a stanovena hladina volného chlóru (resp. jódu).

Materiál — metody

K modelové kontaminaci vody byl použit enterovirus 23, kmen Cocksackie B1, který byl jako prototypový kmen získán z katedry mikrobiologie FVLUK. Počet pasáží: M33, Tk 17, M3. Inf. titr pro Tk HeLa byl $10^{8.3}$ TCID₅₀/0,1 ml 10% suspenze mozků infikovaných sajících myší, resp. $10^{8.5}$ TCID₅₀/0,1 ml v suspenzi zmražené a rozmražené infikované buněčné kultury.

Purifikace a koncentrace viru byla provedena s použitím 3krát zmražené a rozmražené infikované buněčné kultury na kolonách DEAE celulózy. Infekční titr purifikátu byl $10^{10.3}$ TCID₅₀/0,1 ml.

K vyhodnocení infekčního titru vody experimentálně kontaminované před působením dezinfekčních prostředků a v různých intervalech v průběhu jejich působení bylo prováděno na buněčných liniích HeLa (jednovrstevných zkumavkových kulturách), infekční titr byl stanoven podle CPE výpočtem podle Reeda a Muenche jako TCID₅₀/0,1 ml vody. Reziduální infekční titry, zjištěné na tkáňových kulturách po inaktivaci zkoumanými dezinfekčními prostředky, byly prověřovány na přítomnost aktivního viru pasáží na sajících myších.

Voda: vltavská voda byla odebírána nad Prahou (v Bráníku), hrubý kal a sediment byl před zpracováním odstraněn. Vzorky vltavské i vodovodní vody byly 24 hodin před pokusem uchovávány při stanovené pokusné teplotě, při které pak byly uchovávány i v průběhu experimentů. Experimentální kontaminace byla

provedena paralelně s přidáním dezinfekčního prostředku s následujícím třepáním na automatické mechanické třepače po dobu 5 minut.

Aktivní chlor byl stanoven kolorimetricky pomocí o. tolidinu v kyselém prostředí. Zabarvení měřeno na fotokolorimetru Specol při 490 mm. (1). Jód stanoven titrací 0,005N sirnatem sodným. Indikátor: 0,4% škrob. (2).

Tab. 1

Účinek Pantocidu na virus Cocksackie B1 ve vodě

Expozice	Reziduální inf. titr (log. 10 TCID ₅₀ /0,1 ml vody)				Virus
	4 °C		20 °C		
	vltavská	vodovodní	vltavská	vodovodní	
10'	0	0	0	0	purifiko- vány
20'	0	0	0	0	
30'	0 (2,6)	0 (4,8)	0 (2,9)	0 (5,3)	
10'	0,3	0	0,5	0	nepurif- kovány
20'	0,3	0	0,3	0	
30'	0,3 (2,0)	0 (3,0)	0,3 (3,0)	0 (2,9)	

Poznámka: Čísla v závorkách udávají hladinu volného chlóru v mg/l po ukončené 30minutové expozici

Tab. 2

Účinek Globalinu na virus Cocksackie B1 ve vodě

Expozice	Reziduální inf. titr (log. 10 TCID ₅₀ /0,1 ml vody)				Virus
	4 °C		20 °C		
	vltavská	vodovodní	vltavská	vodovodní	
10'	0,5	0	0	0	purifiko- vaný
20'	0	0	0	0	
30'	0 (6,9)	0 (9,3)	0 (5,8)	0 (8,7)	
10'	0,8	0,3	0,5	0,08	nepurifi- kovaný
20'	0,5	0,3	0,3	0,08	
30'	0,5 (6,2)	0 (9,0)	0,3 (6,2)	0 (8,7)	

Poznámka: Čísla v závorkách udávají hladinu volného jódu v mg/l po ukončené 30minutové expozici

Tab. 3

Účinek tablety „LACHEMA“ na virus Cocksackie B1 ve vodě

Expozice	Reziduální inf. titr (log. 10 TCID ₅₀ /0,1 ml vody)				Virus
	4 °C		20 °C		
	vltavská	vodovodní	vltavská	vodovodní	
10'	3,3	0,3	0,5	0,5	purifiko- vány
20'	2,8	0,3	0,5	0,5	
30'	1,3	0	0,08	0	
10'	3,8	2,3	0,08	0,3	nepurifi- kovány
20'	1,5	1,8	0,3	0,3	
30'	1,3	0,08	0,3	0,3	

pH vody se pohybovalo okolo 6,0 při použití Pantocidu a 5,5 v případě použití Globalinu. Tyto hladiny pH nemají žádný vliv na stabilitu enterovirů.

Výsledky

Získané výsledky jsou shrnuty v tabulkách 1–3. Je z nich patrné, že optimální dezinfekční účinek na viry ve vodě měl v našich experimentech preparát Pantocid. Odstraňoval infekčnost kontaminované vody při použití purifikovaného viru ve vltavské i vodovodní vodě již během 10 minut. Při použití nepurifikovaného viru a vltavské vody zbývala však reziduální infektivita i po 30minutovém působení. Teplota vody neměla signifikantní účinek na průběh inaktivace. Účinek Globalinu byl v našich experimentech slabší. Reziduální infektivita byla odstraněna při použití nepurifikovaného viru pouze při kontaminaci vodovodní vody a to až po 30 minutách působení. Byl zaznamenán mírně příznivý vliv vyšší teploty na průběh dekontaminace.

Ve srovnání s předchozími preparáty byl účinek nově vyvinutých tablet „LACHEMA“ na inaktivaci virů ve vodě zcela nedostatečný. Reziduální infektivitu se podařilo odstranit pouze v experimentech s vodovodní vodou a purifikovaným virem, a to až po 30minutovém působení. Jak je patrné z tabulky, preparát je výrazně ovlivňován ve svém účinku teplotou vody. Při nízkých teplotách je jeho účinnost na viry mizivá.

Diskuse

Jak plyne z výše uvedených výsledků, optimální inaktivační účinek měl preparát Pantocid, nepatrně horší preparát Globalin a preparát „Lachema“ se ukázal pro inaktivaci virů ve

vodě jako nevhodný. Avšak i při použití Pantocidu za podmínek, které musíme předpokládat při přirozené kontaminaci povrchových vod, tj. při účinku na vltavskou vodu kontaminovanou nepurifikovaným virem, nejsou výsledky zcela spolehlivé. Zbývá reziduální infektivita bez ohledu na stejnou reziduální hladinu volného chloru, která při použití purifikovaného viru stačí k jeho plné inaktivaci. Jak plyne již z některých starších prací [3], je třeba v přítomnosti ochranných balastních látek, které váží chlor ve formě chloraminů, zvýšit dávky potřebné k úplné inaktivaci virů 10–15krát. Tato cesta však není schůdná při individuální dekontaminaci pitné vody.

Závěrem lze proto konstatovat, že ze zkoumaných prostředků optimální účinnost při inaktivaci patogenních virů ve vodě má preparát Pantocid, který však nezajišťuje plnou účinnost při působení na vody vysoce kontaminované patogenními enteroviry a znečištěné organickým balastem. Musí-li být takovéto vody použity jako zdroj pitné vody, měly by být improvizovaně upraveny sedimentací a filtrací, dávka Pantocidu i doba expozice by měla být přiměřeně zvýšena. V žádném případě nemá použití jódových preparátů typu Globalinu výrazné přednosti před použitím Pantocidu. Nový preparát „LACHEMA“, postoupený nám k přezkoušení HT/ZS, je pro indiv. dezinfekci vody nevhodný pro svoji malou účinnost na patogenní viry.

Literatura

1. Jednotné metody chemického rozboru vod, Praha, SNTL, 1965.
2. Tomíček, O.: Kvantitativní analýza. Praha, SZN 1958.
3. Kelley, S., Sanderson, W. W.: The effect of Chlorine in Water on Enteric Viruses. Am. J. Public Health, 48, 1958, s. 1323.