

РЕЗУЛЬТАТЫ НАДЗОРА ЗА ЦИРКУЛЯЦИЕЙ ПОЛИОВИРУСА В СТОЧНОЙ ВОДЕ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2018 ГОДУ

*Свирчевская Е.Ю.¹, Самойлович Е.О.¹, Ермолович М.А.¹, Ухова И.Ф.¹,
Борисевич С.И.², Головнева Г.П.³, Думова С.А.⁴, Крушинская Т.Г.⁵,
Задорожная Н.Н.⁶, Цеханович В.С.⁷, Лосева Е.М.⁸,*

*¹РНПЦ эпидемиологии и микробиологии и, ²Брестский областной ЦГЭиОЗ, ³Витебский областной ЦГЭиОЗ, ⁴Гомельский областной ЦГЭиОЗ, ⁵Гродненский областной ЦГЭиОЗ, ⁶Минский городской ЦГЭ, ⁷Минский областной ЦГЭиОЗ, ⁸Могилевский областной ЦГЭиОЗ
Республика Беларусь*

Исследование сточных вод играет важную роль в надзоре за полиомиелитом, позволяя выявлять скрытую циркуляцию полиовирусов. В 2018 году при исследовании 1163 образцов сточной воды вирусологическими лабораториями страны было получено 38 цитопатических агентов. Молекулярно-генетическая идентификация, проведенная в Национальном референс-центре по полиомиелиту, показала, что 4 образца (0,3% исследованных образцов и 10,5% от всех изолятов) содержали вакцинные полиовирусы серотипов 1 и 3. Непوليوмиелитные энтеровирусы составили 63,2% (24/38), аденовирусы – 21,1% (8/38), нетипируемые вирусы – 5,2% (2/38). В отсутствие применения оральной полиовакцины в Беларуси циркуляция полиовирусов в окружающей среде является крайне низкой и обусловлена завозами вируса.

***Ключевые слова:** эпидемиологический надзор; сточные воды; полиовирус.*

RESULTS OF THE SURVEILLANCE ON POLYOVIRUS CIRCULATION IN SEWAGE IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2018

*Svirchevskaya E.I.¹, Samoilovic E.O.¹, Yermalovich M.A.¹, Uhova I.F.¹,
Borisevich S.I.², Golovneva G.P.³, Dumova S.A.⁴, Krushinskaya T.G.⁵,
Zadoroznaya N.N.⁶, Tsekhanovich N.S., Loseva, E.M.⁷,*

*¹Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, ²Brest regional Hygiene Center for Epidemiology and Public Health, ³Vitebsk regional center for hygiene, epidemiology and public health, ⁴Gomel regional center for hygiene, epidemiology and public health, ⁵Grodno regional center for hygiene, epidemiology and public health, ⁶Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology, ⁷Minsk regional center for hygiene and epidemiology, ⁸Mogilev regional center for hygiene, epidemiology and public health,
Belarus*

Sewage testing plays an important role in poliomyelitis surveillance, making it possible to detect the latent circulation of polioviruses. In 2018, the country's virology laboratories have tested 1163 sewage samples and received 38 isolates. Their molecular genetic identification was carried out at the National Reference Center for Poliomyelitis and showed that 4 samples (0.3% of the studied samples and 10.5% of all isolates) contained vaccine polioviruses serotypes 1 and 3. Among other isolates 62.3% (24/38) were non-polio enteroviruses, 21.0% (8/28) - adenoviruses and 5.2% (2/38) - non-typable viruses. In the absence of oral polio vaccine in Belarus the circulation of polioviruses in the environment is extremely low and caused by the importation of the virus.

Key words: *epidemiological surveillance; sewage; poliovirus.*

Программа Глобальной ликвидации полиомиелита, начатая тридцать лет назад, находится на заключительной стадии выполнения. Из трех серотипов дикого полиовируса (ПВ1, ПВ2, ПВ3) нигде в мире с 1999 года не циркулируют дикие ПВ2, а с 2012 года – дикие ПВ3. Лишь три страны остаются эндемичными по дикому ПВ1 – Афганистан, Пакистан и Нигерия [1]. В 2018 году все 33 случая паралитического полиомиелита, обусловленные диким ПВ1, были выявлены в Афганистане и Пакистане, при этом в образцах окружающей среды этих стран было выделено более 230 диких ПВ1.

Серьезную проблему продолжают представлять нейровирулетные дериваты вакцинных ПВ, так называемые вакцинородственные ПВ. В 2018 году они обусловили 104 случая паралитического полиомиелита, и более 60 таких вирусов было выделено в разных странах из образцов окружающей среды [2]. Это подтверждает, что на современном этапе надзор за окружающей средой играет исключительно важную роль, поскольку позволяет выявлять скрытую циркуляцию диких, вакцинных и вакцинородственных ПВ, в том числе и при отсутствии случаев заболевания.

В Беларуси система эпидемиологического надзора за полиомиелитом также включает надзор за циркуляцией энтеровирусов в объектах окружающей среды. Осуществление этих мероприятий регулируется Санитарными нормами и правилами «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения полиомиелита» (утверждены Постановлением Министерства здравоохранения от 28.12.2015 г. № 137) и предусматривает ежемесячное исследование образцов сточной воды бытовых коллекторов жилых кварталов, коллекторов на территории инфекционных детских больниц, детских дошкольных учреждений, а также на станциях аэрации.

Целью настоящего исследования являлся анализ результатов выделения, идентификации и молекулярно-генетического изучения вирусов, полученных в

рамках надзора за полиомиелитом при исследовании сточной воды во всех регионах страны в 2018 году.

Материалы и методы. Выделение вирусов из образцов сточной воды проводилось вирусологическими лабораториями областных ЦГЭиОЗ и Минского городского ЦГЭ в культурах клеток RD и Hep2С. Образцы, содержащие цитопатогенные агенты (ЦПА), доставлялись для ретестирования и дальнейшего молекулярно-генетического изучения в Национальный референс-центр по полиомиелиту. При проведении ретестирования дополнительно была использована третья культура клеток – L20В (генетически модифицированная линия мышинных клеток, экспрессирующая человеческий рецептор к ПВ) [3].

Вирусную ДНК/РНК из вирусосодержащей культуральной жидкости выделяли с использованием набора «АртРНКMiniSpin» (АртБиоТех, Беларусь). Молекулярную идентификацию энтеровирусов проводили методом одностадийной ОТ-ПЦР [4]. Для детекции ПВ среди выявленных энтеровирусов образцы исследовали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с праймерами, специфичными к ПВ. Дополнительно проводили серотипирование ПВ в реакции нейтрализации с гипериммунными сыворотками к ПВ типов 1, 2 и 3 [3]. Принадлежность ПВ к вакцинным штаммам устанавливали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с праймерами, специфичными к вакцинным штаммам ПВ1 и ПВ3 [5, 6].

Идентификацию аденовирусов проводили методом ПЦР с использованием описанных в литературе праймеров [7]. Синтез ПЦР-продуктов анализировали методом электрофореза в 1,5% агарозном геле в трис-ацетатном буфере (рН 8,5). Изоляты, не идентифицированные как ПВ, неполиомиелитные энтеровирусы (НПЭВ) или аденовирусы, относили к нетипируемому ЦПА.

Результаты и обсуждение. В 2018 году в Беларуси в рамках надзора за полиомиелитом было исследовано 1163 образца сточной воды (Брестская область – 144, Витебская – 183, Гомельская – 181, Гродненская – 196, Минская – 154, Могилевская – 155, г. Минск – 150) из 274 точек отбора. Численность населения на обследуемой территории составила 8 967 683. При исследовании в культуре клеток было изолировано 38 ЦПА (1 – в Брестской области, 8 – в Витебской, 16 – в Гомельской, 6 – в Могилевской, 7 – в г. Минске). Частота выделения вирусов из образцов сточной воды на национальном уровне составила 3,3%.

Молекулярное и серологическое типирование показало, что 4 (10,5%) из 38 ЦПА являлись ПВ. В расчете на общее число исследованных образцов сточной воды доля полиовирус-положительных образцов была очень низкой и составила 0,3%. Все ПВ были изолированы в Могилевской области. В двух образцах содержались ПВ1, в одном ПВ3 и в одном – смесь ПВ1+ПВ3. Таким образом, после разделения смесей было получено 5 изолятов ПВ. На основании молекулярно-генетических данных было показано, что все изоляты соответствовали вакцинным вирусам Себина соответствующего серотипа.

В 24 (63,2%) образцах ЦПА была обнаружена РНК энтеровируса, но при этом изоляты не реагировали с праймерами и антителами к ПВ, на основании чего они были отнесены к неполиомиелитным энтеровирусам (НПЭВ). ЦПА, в которых не были идентифицированы энтеровирусы, были исследованы с праймерами к аденовирусам, и в 8 (21,1%) была выявлена ДНК аденовируса. В оставшихся 2 (5,2%) изолятах было исключено наличие ПВ, НПЭВ и аденовирусов, и, с учетом использованных методов, они были отнесены к нетипируемым вирусам.

Вирусологическое исследование сточных вод, проводимое в рамках надзора за полиомиелитом, охватывает территории, на которых проживает практически все население Беларуси, что позволяет считать убедительными полученные данные о циркуляции полиовирусов в стране. Результаты проведенных в 2018 году исследований свидетельствуют о редком (0,3% от исследованных образцов, 10,5% от выделенных ЦПА) обнаружении ПВ в сточной воде, которые во всех случаях были представлены вакцинными штаммами серотипов 1 и 3. Диких или вакцинородственных ПВ за этот период выявлено не было.

Несмотря на то, что оральная полиовакцина с мая 2016 года более не применяется в Беларуси, она широко используется во многих странах мира, в том числе России и Украине, и вследствие миграции населения живые вакцинные штаммы могут быть завезены на территорию нашей страны. Безусловно, такие завозы являются достаточно редким явлением, поэтому их обнаружение свидетельствует о высоком качестве проводимых исследований.

Основную долю вирусов (24/38; 63,2%), изолированных из сточной воды, составили НПЭВ. Считается, что энтеровирусы широко распространены среди людей, активно размножаются в кишечнике и, выделяясь во внешнюю среду, нередко присутствуют в сточных водах. Достаточно частой находкой являлись также аденовирусы, составив 21,1% всех изолятов. В ряде опубликованных в литературе исследований положительными на аденовирус были до половины образцов из окружающей среды, что существенно превышало частоту выявления энтеровирусов и могло определяться, в том числе, цикличностью эпидемического процесса инфекции [8].

Таким образом, в отсутствии применения живой оральной полиовакцины в Беларуси выявление ПВ в окружающей среде является крайне редкой находкой (0,3%), обусловленной завозами вируса, и свидетельствует о высоком качестве проводимых исследований. Несомненно, что эпидемиологический надзор за полиомиелитом на стадии элиминации инфекции и в дальнейшем должен включать вирусологическое исследование сточных вод с целью выявления скрытой циркуляции ПВ или подтверждения ее отсутствия на территории страны.

Список литературы

1. Всемирная организация здравоохранения. Полиомиелит [Electronic resource]. – 2019. – Mode of access: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/poliomyelitis> – Date of access: 24.02.2019.
2. Global Polio Eradication Initiative. Data and monitoring [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.polioeradication.org/Dataandmonitoring/Poliothisweek.aspx> – Date of access: 24.03.2019.
3. Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита. – Женева: ВОЗ, 2005. – 112 с.
4. Рекомендации по эпидемиологическому надзору за энтеровирусами для поддержки программы ликвидации полиомиелита. – Женева, 2005. – 27 с.
5. Group-specific identification of polioviruses by PCR using primers containing mixed-base or deoxyinosine residue at positions of codon degeneracy / D.R. Kilpatrick [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1996. – Vol. 34, № 12. – P. 2990–2996.
6. Diagnostic Assay Development for Poliovirus Eradication / N. Gerloff [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2018. – Vol. 56, № 2. – P 1617-1624.
7. Molecular identification of adenoviruses in clinical samples by analyzing a partial hexon genomic region / I. Casas [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol.43. – P.6176–6182.
Detection and molecular identification of human adenoviruses and enteroviruses in wastewater from Morocco / H. Amdiouni [et al.] // Lett. Appl. Microbiol. – 2012. – Vol. 54(4). – P. 359-366.