

УДК: 614.4:616.98:578.835.15Poliovirus:001.8  
DOI: 10.62963/2073-2899-2025-48-34-40

## ЭПИДНАДЗОР ЗА ПОЛИОВИРУСАМИ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ, КАК ЧАСТЬ ГЛОБАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ПО ЛИКВИДАЦИИ ПОЛИОМИЕЛИТА

О.И. Реброва<sup>1</sup>, В.И. Резник<sup>1,2</sup>, Л.А. Лебедева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае», Российская Федерация, г. Хабаровск;

<sup>2</sup>ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Российская Федерация, г. Хабаровск

*В соответствии с планом действий на 2022-2024 гг., утвержденным Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Минздравом Российской Федерации, на территории Российской Федерации на современном этапе проводятся мероприятия по поддержанию свободного от полиомиелита статуса населения. Одним из существенных разделов плана является мониторинг за циркуляцией полиовирусов в окружающей среде. Хабаровский Региональный центр эпидемиологического надзора за полио/ОВП, действующий на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае», провел анализ комплекса исследований, регламентируемых «алгоритмом выделения и идентификации полиовирусов из проб сточной воды», осуществляемых лабораториями 10 территорий, прикрепленных к Хабаровскому региональному центру. Проведена оценка частоты выявления энтеровирусов, в том числе полиомиелита, из 2466 проб, исследованных в 2023 г., зависимости выделения вирусов от частоты и динамики сбора проб, сроков их доставки в лабораторию, методов концентрации вирусов из проб, сроков проведения исследований и организационной работы по информированию соответствующих подразделений о результате исследования.*

**Ключевые слова:** эпиднадзор за полиомиелитом, полиовирусы во внешней среде, мониторинг за циркуляцией полиовирусов

## EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE OVER POLIOVIRUS IN ENVIRONMENT AS A PART OF GLOBAL POLIO ERADICATION PROGRAM

O.I. Rebrova<sup>1</sup>, V.I. Reznik<sup>1,2</sup>, L.A. Lebedeva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FBUZ "Center of hygiene and epidemiology in the Khabarovsk krai", Russian Federation, Khabarovsk;

<sup>2</sup>FBUN "Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor)", Russian Federation, Khabarovsk

*Measures to maintain the polio-free status of the population of the Russian Federation are currently being performed in accordance with the plan of action for 2022-2024 that was approved by the Federal service for surveillance on consumer rights protection and human wellbeing and the Ministry of Health of the Russian Federation. One of the essential sections of the plan is surveillance over circulation of polioviruses in the environment. The Khabarovsk Regional Center for epidemiological surveillance over Polio/AFP, which is currently operating on the basis of the FBUZ "Center of hygiene and epidemiology in the Khabarovsk Krai" has conducted an analysis of a set of studies regulated by the "algorithm for the isolation and identification of polioviruses from wastewater samples" which was carried out by laboratories of ten territories that are supervised by the Khabarovsk Regional Center. Assessment of frequency detection of enteroviruses, including poliomyelitis in 2466 samples was carried out in 2023 and dependence of the results on virus isolation methods, frequency and dynamics of sample collection, timing of samples delivery in the laboratory, methods of virus concentration, testing duration and work organization on informing relevant departments about the results of the tests was evaluated.*

**Key words:** epidemiological surveillance over poliomyelitis, poliovirus in environment, surveillance over poliovirus circulation

Программа Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по ликвидации полиомиелита позволила к 2023 г. добиться положительных результатов в мире. Лишь две страны – Афганистан и Пакистан остаются эндемичными в отношении дикого полиовируса I типа [3,4,5]. С 2015 г. прекратилась циркуляция полиовируса II типа, близко к объявлению отсутствие циркуляции дикого полиовируса III типа. В то же время, по данным ВОЗ, в 2023 году увеличилось число стран, где возникли вспышки, вызванные полиовирусами вакцинного происхождения, которые дивергировали от вакцинных, обладают нейровирулентностью и способны к длительной трансмиссии [2,4,8]. Хотя в России в настоящее время ситуация по полиомиелиту благополучна, предупреждение рисков заноса полиовирусов и выявления возникающих вирусов – дериватов требует постоянного надзора. Выявление полиовирусов в бытовых сточных водах является весьма чувствительным индикатором их циркуляции среди населения. Регламентирующим документом являются рекомендации ВОЗ [6].

**Цель работы.** Провести анализ исследований сточных вод, дать сравнительную оценку методов концентрации, сроков исследования и других показателей, предусмотренных алгоритмом выделения и идентификации энтеро- и полиовирусов из сточных вод.

**Материалы и методы.**

Во исполнение резолюции региональных совещаний «Реализация мероприятий по поддержанию свободного от полиомиелита статуса РФ» [7], Хабаровским региональным центром по надзору за полио/ОВП (РЦ) проведен анализ результатов исследований 2466 проб сточных вод, выполненных в лабораториях Центров гигиены и эпидемиологии, прикрепленных к Хабаровскому РЦ (в 10 субъектах Дальневосточного федерального округа и Иркутской области). Дана оценка методам выделения энтеро- и полиовирусов и соответствия их алгоритму выделения и идентификации полиовирусов из проб сточной воды [1], а также соблюдению организационных мероприятий при проведении всего комплекса исследований.

В лабораториях, прикрепленных к Хабаровскому РЦ, детекция полио- и неполиомиелитных энтеровирусов проведена с использованием методов полимеразной цепной реакции (ПЦР), выделение энтеровирусов осуществлено в культурах клеток RD, HEP-2, L-20B. Типирование положительных проб для выявления полиовирусов проведено методами ПЦР и в реакции нейтрализации.

Двумя лабораториями (в Забайкальском и Хабаровском краях) исследованы пробы сточных вод только в культурах клеток, остальными 8 лабораториями – ПЦР-методом и выделением в клеточных культурах. Концентрация проб сточных вод проведена в разных лабораториях двумя группами методик: сорбционными и мембранной фильтрацией.

**Результаты и обсуждение.** Всего исследовано в 2023 году 2466 проб сточных вод. Методом ПЦР энтеровирусы выявлены в  $9,6 \pm 0,6\%$ , на культурах клеток в  $10,7 \pm 0,6\%$ . При обследовании 868 проб двумя указанными методами энтеровирусы (ЭВ) выявлены в  $31,2 \pm 1,6\%$ , из них по ПЦР –  $22,5 \pm 1,4\%$ , только в культурах клеток –  $2,9 \pm 0,6\%$ , а одновременно каждым методом –  $5,9 \pm 0,8\%$  (табл. 1).

Таблица 1.

Выявление энтеровирусов из проб сточных вод в территориях ДФО и Иркутской области в 2023 г.

Территория	Исследовано только методом ПЦР			Исследовано двумя методами									Исследовано только на культуре клеток		
	всего	из них, с выявлением ЭВ		всего	из них, с положительным результатом								всего	с выявлением ЭВ	
		абс.	%		любыми методами		только ПЦР		только культура клеток		обоими методами			абс.	%
					абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
Амурская область	209	9	4,3	16	16	100,0	5	31,3	0	0	11	68,8	84	4	4,8
Р. Бурятия	0	0	0	99	20	20,2	13	13,1	4	4,0	3	3,0	101	12	11,9
ЕАО	117	1	0,9	16	16	100,0	10	62,5	0	0	6	37,5	0	0	0
Забайкальский край	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	141	14	9,9
Иркутская область	0	0	0	281	119	42,3	97	34,5	7	2,5	15	5,3	0	0	0
Камчатский край	0	0	0	103	38	36,9	14	13,6	14	13,6	10	9,7	0	0	0
Приморский край	0	0	0	112	5	4,5	0	0	0	0	5	4,5	516	1	0,2
Сахалинская область	132	34	25,8	180	53	29,4	53	29,4	0	0	0	0	0	0	0
Хабаровский край	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	239	91	38,1
Р. Саха (Якутия)	0	0	0	61	4	6,6	3	4,9	0	0	1	1,6	59	0	0
<b>Всего</b>	<b>458</b>	<b>44</b>	<b>9,6</b>	<b>868</b>	<b>271</b>	<b>31,2</b>	<b>195</b>	<b>22,5</b>	<b>25</b>	<b>2,9</b>	<b>51</b>	<b>5,9</b>	<b>1140</b>	<b>122</b>	<b>10,7</b>

Согласно алгоритму, вирусологическое исследование для подтверждения наличия или отсутствия в пробе сточной воды полиовирусов является обязательным.

Анализ динамики отбора проб по месяцам выявил отклонение от регламента алгоритма. В ряде территорий отмечено неравномерное количество собранных проб в разные месяцы. В Забайкальском крае разница в количестве ежемесячных исследований составила от 0-3 проб до 20-23. Так как целью данного вида надзора является выявление именно полиовирусов, которые круглогодично могут присутствовать в стоках, необходимо стремиться к более равномерному ежемесячному забору проб.

Динамика выявления энтеровирусов была типичной для эпидемиологии этих инфекций – максимум положительных проб пришёлся на июль – сентябрь. Доставка проб в лабораторию в большинстве территорий осуществлялась в течение 24-48 часов после сбора. Так из 10 территорий в шести 94,0-100,0% проб доставлялось в первые сутки, в трех территориях 8,9 – 28,0% проб доставлялись в течение 48 часов, и лишь в одной 8,7% проб доставлялись после 48 часов и 11,6% после 72-х часов (табл. 2).

Таблица 2.

**Сроки доставки проб сточной воды в лабораторию после отбора**

Территория	Всего доставлено	24 ч.		25-48 ч.		49-72 ч.		Более 72 ч.	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Амурская область	309	145	46,9	101	32,7	27	8,7	36	11,6
Бурятия	200	192	96,0	3	1,5	3	1,5	2	1,0
ЕАО	133	131	98,5	0	0	1	1,3	1	0,8
Забайкальский край	141	141	100,0	0	0	0	0	0	0
Иркутская область	281	281	100,0	0	0	0	0	0	0
Камчатский край	103	103	100,0	0	0	0	0	0	0
Приморский край	628	529	84,2	56	8,9	6	1,0	37	5,9
Сахалинская область	312	240	79,5	50	16,0	9	2,9	13	4,2
Хабаровский край	239	159	66,5	67	28,0	5	2,1	8	3,3
Якутия	120	113	94,2	2	1,7	5	4,2	0	0
<b>ВСЕГО</b>	<b>2466</b>	<b>2034</b>	<b>82,5</b>	<b>279</b>	<b>14,3</b>	<b>56</b>	<b>2,3</b>	<b>97</b>	<b>3,9</b>

При анализе зависимости частоты выявления энтеровирусов из проб сточных вод от сроков доставки материала установлено, что суммарно при исследовании всеми методами наибольший показатель частоты обнаружения (23,6±0,9%) был среди проб, доставленных в первые 24 часа после взятия пробы (табл. 3).

Таблица 3.

**Зависимость результатов выявления энтеровирусов от сроков доставки проб сточных вод в лабораторию**

Сроки доставки в лабораторию	Доставлено проб сточной воды	Положительные результаты на ЭВ					
		Всеми методами		Выделено ЭВ на культуре клеток		Из них выделено полиовирусов	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
24 часа	2034	481	23,6	166	8,2	69	3,4
25-48ч.	279	47	16,8	25	9,0	8	2,9
49-72ч.	56	6	10,7	3	5,4	2	3,6
> 72ч.	97	10	10,3	3	3,1	1	1,0
<b>Всего</b>	<b>2466</b>	<b>544</b>	<b>22,1</b>	<b>197</b>	<b>8,0</b>	<b>80</b>	<b>3,2</b>

В пробах, доставленных через 25-48 часов, выявляемость составила 16,8±2,2%, а в последующие 49-72 час. и более 72 час. – была ещё меньше (10,7±4,1% и 10,3±3,1% соответственно). Общая выявляемость по 10 территориям (независимо от сроков доставки) составила 22,1±0,8%. Выделение энтеровирусов с использованием культур клеток установлено в 8,0±0,5% случаев, при этом вирусологически наибольшая выделяемость также пришлась на пробы, доставленные в первые двое суток – 8,2±0,6% и 9,0±1,7%. Полиовирусы выделены на культурах клеток в 3,2±0,4% исследованных проб. В пробах с доставкой в сроки до 24 часов, через 25-48 часов и 49-72 час. показатели находок полиовирусов были близки – от 2,9±0,1% до 3,6±2,5%.

Сравнительные результаты выявления энтеровирусов в зависимости от метода концентрации показано в таблицах 4 и 5. Для концентрации энтеровирусов в разных лабораториях применяли два вида методов: в семи лабораториях использовали сорбционные методы концентрации, в пяти – метод мембранной фильтрации. В четырех лабораториях для концентрации использовали наборы «Виросорб» с тремя элюентами. Положительные результаты при выделении энтеровирусов двумя мето-

дами (ПЦР и вирусологическим) значительно различались в разных лабораториях (табл. 4). В Сахалинской области положительные находки были в 27,9±2,5%, в республике Бурятия - 16,0±2,6%, в Амурской области – 6,3±2,7%, в республике Саха (Якутия) – 4,5±4,5%. В то же время, наиболее важные для эпиднадзора результаты выделения полиовирусов в культуре клеток выявлены лишь в лаборатории Бурятии – 5,0±1,5%. В двух лабораториях, где применялись наборы «Виросорб» с одним элюентом двумя методами выявлены энтеровирусы в 18,0±1,5% в Приморском крае и в 12,8±2,9% в ЕАО. Но вирусы полиомиелита на культуре клеток выделены только в ЕАО – 2,3±1,3%.

Набор для сбора и концентрации вирусов из объектов окружающей среды производства Республики Беларусь применялся в Иркутской области и показал наилучшие результаты среди сорбционных наборов. Выявлено 42,3±2,9% положительных проб и выделено 7,8±1,6% полиовирусов.

С наименьшей результативностью концентрации вирусов оказался метод сбора сточной воды с помощью марлевых тампонов, применяемый в республике Саха (Якутия).

Таблица 4.

**Выявление энтеровирусов из проб сточных вод в зависимости от методов концентрации в территориях ДФО и Иркутской области в 2023 году**

Субъект	Сорбционные методики	2023 год						
		Исслед. проб	С положитель. результатом		В том числе, с выделением вирусов		Из них, с выделением полиовирусов	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Амурская область	«Виросорб», форма (с тремя элюентами)	79	5	6,3	3	3,8	0	0
Р. Бурятия	«Виросорб», форма (с тремя элюентами)	200	32	16,0	18	9,0	10	5,0
ЕАО	«Виросорб», форма Б-10 (с одним элюентом)	133	17	12,8	6	4,5	3	2,3
Иркутская область	Набор для сбора и концентрации вирусов из ООС (Беларусь)	281	119	42,3	22	7,8	22	7,8
Приморский край	«Виросорб», форма Б-10 (с одним элюентом)	628	113	18,0	6	1,0	0	0
Сахалинская область	«Виросорб», форма (с тремя элюентами)	312	87	27,9	0	0	0	0
Р. Саха (Якутия)	«Виросорб», форма (с тремя элюентами)	22	1	4,5	0	0	0	0
Р. Саха (Якутия)375	Марлевый тампон	79	1	1,3	1	1,3	0	0
<b>Всего</b>		<b>1734</b>	<b>375</b>	<b>21,6</b>	<b>56</b>	<b>3,2</b>	<b>35</b>	<b>2,0</b>
<b>Метод мембранной фильтрации</b>								
Амурская область	Предфильтр дисковый ПП-190-142 и мембранный дисковый фильтр ММПА+ - 020-142	230	24	10,4	12	5,2	2	0,9
Забайкальский край		141	14	9,9	14	9,9	3	2,1
Камчатский край		103	38	36,9	24	23,3	6	5,8
Хабаровский край		239	91	38,1	91	38,1	34	14,2
Р. Саха (Якутия)		19	2	10,5	0	0	0	0
<b>Всего</b>		<b>732</b>	<b>169</b>	<b>23,1</b>	<b>141</b>	<b>19,3</b>	<b>45</b>	<b>6,1</b>

В лабораториях, где вирусы концентрировались методом мембранной фильтрации, положительные находки по ПЦР и вирусологическим методом составляли от 9,9±2,5% проб до 38,1±3,1%. При этом выделение энтеровирусов в культурах клеток проведено в 4-х из 5-и лабораторий и составляло от 5,2±1,5% до 38,1±3,1%. В этих четырех лабораториях были выделены и полиовирусы.

Суммарные по всем 10 анализируемым территориям результаты зависимости индикации энтеровирусов от методов концентрации выявили более высокие показатели при исследовании методом мембранной фильтрации, чем сорбционными методами (табл. 5). Вирусологически энтеровирусы выявлены при концентрации методом мембранной фильтрации в 19,3±1,5% проб, против 3,2±0,4%

при сорбционных методах, то есть больше в 9,1 раза ( $p < 0,001$ ). При этом полиовирусы выделены в  $6,1 \pm 0,9\%$  проб, против  $2,0 \pm 0,3\%$  соответственно ( $p < 0,001$ ).

Таблица 5.

**Суммарные результаты обнаружения энтеровирусов при разных методах концентрации из проб сточных вод**

Методики концентрации	2023 год						
	Исследовано проб	с положительным результатом		в том числе, с выделением энтеровирусов		из них, с выделением полиовирусов	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
«Виросорб», форма (с тремя элюентами)	613	125	20,4	21	3,4	10	1,6
«Виросорб», форма Б-10 (с одним элюентом)	761	130	17,1	12	1,6	3	0,4
Марлевый тампон	79	1	1,3	1	1,3	0	0
Набор для сбора и центрирования вирусов из ООС (Беларусь)	281	119	42,3	22	7,8	22	7,8
Всего сорбционным методом	1734	375	21,6	56	3,2	35	2,0
Всего методом мембранной фильтрации	732	169	23,1	141	19,3	45	6,1
<b>ИТОГО:</b>	<b>2466</b>	<b>544</b>	<b>22,1</b>	<b>197</b>	<b>8,0</b>	<b>80</b>	<b>3,2</b>

Вирусные изоляты, подлежащие внутритиповой дифференциации полиовирусов, были получены в семи лабораториях. Регламентированный трехдневный срок отправки изолятов с признаками ЦПА на культуре клеток L-20В, для 100% проб, был соблюден в Иркутской области и Забайкальском крае. Однако для последнего, общий срок от момента получения проб до передачи в национальную лабораторию составил 29 дней, что превышает регламентированную максимальную продолжительность исследования. Имели место случаи задержки отправки изолятов из Амурской области, Республики Бурятия и Хабаровского края. В Амурской области в нескольких случаях положительные результаты выделения вирусов на культуре клеток выдавались после 60-80 дней (при рекомендованных 21 дне), также выдавались и отрицательные результаты (при рекомендованных 14 днях). В ЕАО все положительные результаты выдавались после 21 дня. В Забайкальском крае все положительные результаты выданы после 21-25 дней и большинство отрицательных после 20 дней. В Приморском крае и Республике Саха (Якутия) отмечены случаи выдачи отрицательных результатов на 4-5-8 день от момента поступления пробы в лабораторию, что не соответствует требованиям нормативных документов по проведению вирусологических исследований.

Новый алгоритм исследования сточных вод, в части выбора методов исследования, не был соблюден в трех субъектах: в Амурской, Сахалинской областях и ЕАО. В первом случае 67%, а во втором – 42% проб сточной воды исследовались только методом ОТ-ПЦР, без выделения вирусов в клеточной культуре. Одна территория (ЕАО) не имеет вирусологического метода исследований. Процедура выделения на культурах клеток для всех проб соблюдается только в Хабаровском, Забайкальском краях, и ЕАО (все ПЦР-положительные пробы исследуются на базе Хабаровского РЦ), для части проб – в Приморском крае, Республиках Бурятия и Саха (Якутия). Лаборатории Иркутской области и Камчатского края продолжают дублировать выделение в клеточной культуре ПЦР-детекцией, которая не входит в алгоритм исследования.

Новый алгоритм исследований в части выполнения методики (соблюдение площади посева) не соблюдается или соблюдается частично в Сахалинской области, Приморском крае, Республиках Бурятия и Саха (Якутия).

**Выводы**

1. Проведенный анализ результатов исследования сточной воды на наличие полиовирусов показал значительное различие их индикации в разных территориях. В трех территориях вирусы полиомиелита вообще не удалось выделить в культурах клеток.

2. Показана положительная результативность выявления полиовирусов при сокращении сроков доставки проб в лабораторию.

3. Отмечен значительно более эффективный результат выделения полиовируса при концентрации методом мембранной фильтрации.

4. Использование только вирусологического метода выделения полиовируса, при четком соблюдении методики позволило получить наилучшие показатели индикации вируса.

5. Для улучшения качества вирусологического мониторинга за наличием полиовируса в сточных водах следует четко придерживаться алгоритма, рекомендованного ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» и ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора.

**Литература**

1. Алгоритм выделения и идентификации полиовирусов из проб сточной воды: Приложение к письму Роспотребнадзора от 19.05.2020 №02/9800-2020-32.

2. Иванова О.Е. Полиомиелит в современных условиях: достижения и перспективы // Журнал инфектологии. – 2018. – Том 10, № 2. – С. 17-29. DOI: 10.22625/2072-6732-2018-10-2-17-29.

3. Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А., Брико Н.И. и др. Позиция Экспертов Союза педиатров России в отношении ухудшения глобальной ситуации с вирусом полиомиелита. Сентябрь 2022 // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2022. – Т. 21, № 6. – С. 104-106.

4. О реализации мероприятий по поддержанию свободного от полиомиелита статуса Российской Федерации в 2021 г.: Письмо Роспотребнадзора от 06.06.2022 № 02/11965-2022-32.

5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022. – 340 с.

6. Рекомендации по надзору за вирусом полиомиелита в окружающей среде. ВОЗ, 2003 (пункт 2.10.).

7. Реализация мероприятий по поддержанию свободного от полиомиелита статуса Российской Федерации. Энтеровирусная (неполио) инфекция – эпидемиологическая ситуация, надзор и профилактика» в 2023 г.: Письмо Роспотребнадзора, 2024 (пункт 6, подпункт 6.1.).

8. Yang C., Naguib T., Yang S., Nasr E., Jorba J., Ahmed N. et al. Circulation of endemic type 2 vaccine-derived poliovirus in Egypt from 1983-1993 // J. Virol. – 2003. – Vol. 77, N 15. – P. 8366-8377.

**Сведения об ответственном авторе:**

**Реброва Ольга Ивановна** – биолог вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае» Роспотребнадзора, email: fbuz@27.khv.ru.