

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 578.42:616-036.22]:628.3-047.36

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-386-397>

Поступила в редакцию 21.06.2022

Received 21.06.2022

**Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, Ю. Б. Колтунова, И. В. Бельская, Ю. А. Шилова**

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
Минск, Республика Беларусь*

## **КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВИРУСНОЙ КОНТАМИНАЦИИ СТОЧНЫХ ВОД КАК ЭЛЕМЕНТ КОНТРОЛЯ ЗА ЦИРКУЛЯЦИЕЙ КИШЕЧНЫХ ВИРУСОВ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

**Аннотация.** Эпидемиология сточных вод – новое направление исследований в системе надзора за циркуляцией кишечных вирусов. Целью настоящей работы был анализ результатов мониторинга сточных вод в Республике Беларусь в отношении кишечных вирусов в 2020–2021 гг. Детекция РНК ротавирусов А, норовирусов 1-й и 2-й геногрупп, энтеровирусов, ДНК аденовирусов F осуществлялась с помощью ОТ-ПЦР, определение количества нуклеиновых кислот – с применением количественной модификации метода, генотипирование возбудителей – путем секвенирования информативных для этого регионов генома вирусов.

В 2020–2021 гг. из исследованных 1038 проб сточных вод 487 (46,9 %) содержали нуклеиновую кислоту (НК) одного или нескольких вирусов. В 2021 г. имело место снижение активности циркуляции большинства кишечных вирусов по сравнению с 2020 г., обусловленное, вероятно, более строгим соблюдением санитарно-гигиенических правил во время пандемии COVID-19. Преобладание в сточных водах ДНК аденовирусов F могло быть обусловлено их широким бессимптомным носительством и большей устойчивостью ДНК возбудителя во внешней среде. Количественный анализ содержания вирусных НК в сточной воде показал, что большинство проб с высокими концентрациями НК кишечных вирусов были отобраны из точек, куда осуществлялся сброс сточных вод непосредственно из учреждений здравоохранения. По результатам молекулярного типирования в исследованных сточных водах присутствовали наиболее распространенные гено- или серотипы возбудителей – норовирус GI.4[P16], аденовирус 41-го типа, энтеровирусы Коксаки В3, В5, ECHO 30 и ECHO 13.

Полученные данные, основанные на количественном анализе содержания кишечных вирусов в сточных водах, представляют ценную информацию об их циркуляции в человеческой популяции, которая позволяет оценивать текущую эпидемиологическую ситуацию и прогнозировать ее развитие в ближайшей перспективе.

**Ключевые слова:** ротавирус А, норовирус, аденовирус F, энтеровирус, сточная вода, мониторинг, заболеваемость, эпидемиология

**Для цитирования:** Качественный и количественный анализ вирусной контаминации сточных вод как элемент контроля за циркуляцией кишечных вирусов в Республике Беларусь / Н. В. Поклонская [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 386–397. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-386-397>

**Natallia V. Paklonskaya, Tamara V. Amvroseva, Yuliya B. Kaltunova, Ina V. Belskaya, Yuliya A. Shilova**

*Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus*

## **QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF WASTEWATER VIRAL CONTAMINATION AS A CONTROL ELEMENT FOR THE CIRCULATION OF ENTERIC VIRUSES IN THE REPUBLIC OF BELARUS**

**Abstract.** Wastewater epidemiology is a new field of research that has great potential in the system of enteric virus surveillance. The purpose of the presented study was to analyze the results of wastewater monitoring of enteric viruses in 2020–2021 in the Republic of Belarus. Detection and quantification of nucleic acids of rotaviruses A, noroviruses 1 and 2, enteroviruses and adenoviruses F were carried out using a quantitative real time RT-PCR followed by nucleic acid sequence genotyping. In 2020–2021, 487 (46.9 %) of 1038 wastewater samples contained nucleic acid of one or more viruses. The results indicated that there was a decrease in the circulating activity of the most enteric viruses in 2021 compared to 2020, likely due to stricter hygiene practices during the COVID-19 pandemic. Predominance of adenoviruses F in wastewater could be associated with their wide asymptomatic spread, on the one hand, and with greater resistance of pathogen DNA in the external environment, on the other. The quantitative analysis showed that the highest viral nucleic acid concentrations were found in hospital wastewater samples. According to the results of molecular typing, wastewater contained norovirus GI.4 [P16], adenovirus type 41, Cocksackievirus B3, B5 and Echovirus 13, the most common genotypes of enteric viruses in human population.

Quantitative analysis and genotyping of nucleic acids of viruses from wastewater can be a source of valuable information for tracking their circulation in the human population to assess the current epidemiological situation and to predict its development in the short term.

**Keywords:** rotavirus A, norovirus, adenovirus F, enterovirus, wastewater, surveillance, morbidity, epidemiology

**For citation:** Paklonskaya N. V., Amvroseva T. V., Kaltunova Yu. B., Belskaya I. V., Shilova Yu. A. Qualitative and quantitative analysis of wastewater viral contamination as a control element for the circulation of enteric viruses in the Republic of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 386–397 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-386-397>

**Введение.** Эпидемиология, основанная на исследовании сточных вод (wastewater-based epidemiology), – относительно новое направление эпидемиологических исследований, базирующееся на химическом анализе или выявлении различных биомаркеров в сточных водах для получения качественных и количественных данных, касающихся различных аспектов жизнедеятельности и здоровья жителей определенных географических регионов. Впервые эпидемиология, основанная на исследовании сточных вод (ЭСВ), была использована в 2001 г. как инструмент для оценки активности употребления нелегальных и легальных наркотических средств жителями мегаполисов [1]. Впоследствии была показана эффективность применения ЭСВ для оценки воздействия на популяцию различных веществ-контаминантов окружающей среды [2] и для контроля за циркулирующей патогенных агентов [3, 4].

Мониторинг циркуляции возбудителей инфекционных болезней традиционно основан на системах дозорного надзора и анализе этиологической структуры регистрируемой заболеваемости. Несмотря на безусловную эффективность и значимость этих инструментов, существуют некоторые пробелы в получаемой информации. Эти пробелы обусловлены тем, что значительная часть инфекций протекает в легкой форме, субклинически, или бессимптомно, вследствие чего инфицированные не обращаются за медицинской помощью. При этом каждый из них выделяет ежедневно с фекалиями и/или мочой до  $10^{11}$  вирусных частиц, которые попадают в сточную воду. Поэтому ЭСВ является важным дополнением к классическим методам эпидемиологического надзора. На сегодняшний день ЭСВ признана одним из наиболее эффективных подходов к контролю за циркуляцией вирусов, раннему выявлению новых и вновь возникающих инфекций на популяционном уровне. Исследования, основанные на ЭСВ, проводились для контроля за инфекциями, вызванными адено-, бока-, норо- и энтеровирусами, вирусами гепатита А и Е и рядом других [5]. В настоящее время такого рода исследования широко проводятся во многих странах в отношении SARS-CoV-2 [6].

Использование ЭСВ для слежения за кишечными вирусами – актуальное направление исследований в связи со следующими обстоятельствами: во-первых, эти возбудители широко распространены в популяции; во-вторых, кишечник – основное место их репликации, поэтому выделение вирионов в сточную воду происходит весьма активно; в-третьих, кишечные вирусы довольно часто вызывают субклинические и легкие формы болезни, вследствие чего заболевшие не обращаются за медицинской помощью, но являются источником инфекции для других людей. Поэтому ЭСВ кишечных инфекций базируется на возможности выявления возбудителей, которые уже достаточно широко распространились среди человеческой популяции, но еще официально не идентифицированы в качестве ведущих агентов заболеваемости. При этом нарастание концентрации кишечных вирусов в пробах сточных вод свидетельствует о росте интенсивности их циркуляции среди людей. Такого рода исследования ранее были проведены в Ирландии, и их результаты свидетельствовали о том, что концентрация норовирусов в сточных водах достоверно коррелировала с уровнем заболеваемости в популяции [7]. После установления этого факта исследования были расширены и продолжены: помимо определения количественных показателей вирусов в сточных водах проводилось их генотипирование и сравнение с вирусами, идентифицированными в биологическом материале пациентов. Результаты исследований японских ученых [8], которые в течение 3 лет проводили динамическое наблюдение за скрытой циркуляцией норовирусов в популяции путем определения их концентрации в пробах сточных вод и биологическом материале с последующим генотипированием, подтвердили ранее полученные данные о том, что концентрации вирусов в сточных водах коррелируют с уровнем заболеваемости норовирусной инфекцией. При этом установлено, что норовирусный генотип GII.P17/GII.17, вызвавший резкий подъем заболеваемости в Японии в 2014 г., скрыто циркулировал в популяции в течение предшествующих двух лет, о чем свидетельствовали результаты его мониторинга в сточных водах [8]. Аналогичные исследования

в отношении рота-, норо-, адено-, энтеро-, парэховирусов, вирусов гепатита А и Е были проведены во Франции. Динамическое наблюдение, основанное на исследовании сточных вод и биологического материала пациентов, проводилось в течение года и позволило установить несколько важных фактов. Во-первых, показано, что энтеровирус D68, который вызывал тяжелые респираторные инфекции у пациентов других стран, скрыто циркулировал и на территории Франции до регистрации клинических случаев связанного с ним заболевания; во-вторых, вирусы гепатитов А и Е характеризовались достаточно активной скрытой циркуляцией среди населения, несмотря на относительно низкое число вызываемых ими клинических случаев заболевания [9]. Таким образом, полученные в ходе исследований на основе использования ЭСВ результаты позволяют получить чрезвычайно важную информацию для адекватной оценки и прогнозирования эпидемиологической ситуации по вирусным кишечным инфекциям.

В Республике Беларусь на протяжении последних двух лет проводятся исследования, направленные на создание системы мониторинга сточных вод в отношении кишечных вирусов. В связи с пандемией COVID-19 в перечень отслеживаемых возбудителей был дополнительно включен SARS-CoV-2.

Цель работы – анализ результатов мониторинга сточных вод в отношении кишечных вирусов в 2020–2021 гг.

**Материалы и методы исследования.** В 2020 г. исследовано 548 проб сточных вод (4 – из г. Брест и Брестской обл., 71 – из г. Витебск и Витебской обл., 61 – из г. Гомель и Гомельской обл., 78 – из г. Гродно и Гродненской обл., 130 – из г. Минска, 156 – из Минской обл., 47 – из г. Могилев и Могилевской обл.).

В 2021 г. проанализировано 490 проб (44 – из г. Брест и Брестской обл., 52 – из г. Витебск и Витебской обл., 67 – из г. Гомель и Гомельской обл., 29 – из г. Гродно и Гродненской обл., 153 – из г. Минска, 122 – из Минской обл., 51 – из г. Могилев и Могилевской обл.).

Для отбора и концентрирования проб использовали «Набор для сбора и концентрирования вирусов из питьевой воды в системе децентрализованного хозяйственно-питьевого водоснабжения, поверхностных и сточных вод» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), основанный на методе адсорбции-элюции вирусов, в соответствии с инструкцией производителя.

Исследования по выявлению генетического материала актуальных возбудителей кишечных вирусных инфекций (ротавируса А, норовирусов 1-й и 2-й геногрупп, аденовирусов F, энтеровирусов) осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени. Для выделения вирусных нуклеиновых кислот применяли коммерческие наборы «НК-экстра» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), для постановки ОТ-ПЦР в одной пробирке – «Набор для выявления ДНК (РНК) кишечных вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «ОКВИ-ПЦР» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь).

Молекулярное типирование проводили на основании анализа информативных для этой цели фрагментов генома кишечных вирусов, последовательности которых получали с помощью секвенирования по Сэнгеру [10]. Для молекулярного типирования норовирусов 2-й геногруппы секвенировали фрагменты генов РНК-полимеразы и основного капсидного белка VP1 [11–13]. Молекулярное типирование аденовирусов осуществляли путем секвенирования фрагмента гена гексона, содержащего гипервариабельный регион [14]. Для типирования энтеровирусов использовали фрагмент гена основного капсидного белка VP1, накопленный в ОТ-ПЦР с праймерами, описанными ранее [15, 16].

Продукты реакции термоциклического секвенирования, полученные с помощью набора GenomeLab DTCS – Quick Start Kit (Beckman Coulter, США), анализировали с помощью CEQ8000 (Beckman Coulter).

Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST [17]. Филогенетическую реконструкцию проводили методом максимального правдоподобия, статистическую достоверность топологии оценивали с помощью бутстреппинга (1000 псевдорепликатов). Компьютерный анализ последовательностей выполняли с помощью программы MEGA версии 7.0 [18]. Для генотипирования норовирусов использовали программу Norovirus Genotyping Tool Version 1.0 [19].

Концентрацию плазмидной ДНК измеряли флуориметрически с помощью прибора Qubit Fluorometer (Invitrogen, США), используя интеркалирующий краситель ZUBR Green I («Прайм-тех», Беларусь), специфичный к двухцепочечной ДНК. Конверсию масса-моли для используемых векторов осуществляли на основании рассчитанной концентрации и размеров кольцевой ДНК.

Достоверность обнаруживаемых различий оценивали на основании критерия  $\chi^2$ , доверительные интервалы долей рассчитывали по распределению Пуассона (через  $\chi^2$ ) [20].

**Результаты исследования.** В 2020–2021 гг. из исследованных 1038 проб сточных вод 487 (46,9 %) содержали нуклеиновую кислоту (НК) одного или нескольких вирусов (39,6 % проб содержали НК одного возбудителя, 7,3 % – нескольких). Всего было идентифицировано 487 изолятов разных кишечных вирусов и SARS-CoV-2. Спектр и доля различных вирусных агентов, выявленных в пробах сточных вод, представлены на рис. 1.

В 2020 г. из 548 исследованных проб сточных вод 319 (58,2 % [ДИ 95: 52,0 %; 64,96 %]) содержали НК детектируемых возбудителей – в 264 (48,1 %) образцах присутствовала НК одного вирусного агента, в 65 (11,8 %) – нескольких. В 2021 г. из 490 исследованных проб 168 содержали вирусную РНК (34,29 % [ДИ 95: 29,3 %; 39,88 %]) – 157 (32,0 %) образцов содержали одного возбудителя, 11 (2,2 %) проб – нескольких. Как видно из представленных данных, частота выявления НК вирусов в пробах сточных вод в 2021 г. была достоверно ниже, чем в 2020 г. ( $p < 0,05$ ).

Сравнительная частота обнаружения НК различных вирусов в 2020 и 2021 гг. представлена на рис. 2. В 2020 г. ротавирусы А, аденовирусы F, энтеровирусы выявлялись в 1,4–2,6 раза чаще, чем в 2021 г., тогда как частота выявления норовирусов 2-й геногруппы была одинакова. Обнаруживаемые различия были достоверны в отношении ротавируса А ( $p < 0,001$ ), норовирусов 1-й геногруппы ( $p = 0,005$ ), аденовирусов F ( $p = 0,004$ ) и энтеровирусов ( $p < 0,001$ ).

В связи с тем что для большинства кишечных вирусов характерна сезонность вызываемой ими заболеваемости, а распространение SARS-CoV-2 во время пандемии имеет выраженный волновой характер, проведен сезонный анализ частоты выявления кишечных патогенов (рис. 3).

Согласно полученным результатам, ДНК аденовируса F выявлялась в пробах наиболее часто, вне зависимости от сезона. Исключением стали только II квартал 2020 г. и IV квартал 2021 г., когда доля проб, в которых присутствовала РНК ротавирусов А, была несколько выше, чем доля проб с аденовирусом F (24,3 и 21,1 % во II квартале 2020 г., 13,3 и 6,7 % в IV квартале 2021 г. соответственно). Пики детекции РНК ротавируса А в пробах сточной воды были зарегистрированы в I–II квартале 2020 г., I квартале 2021 г. и IV квартале 2021 г., что соответствует сезонным подъемам заболеваемости ротавирусной инфекцией в холодное время года. При этом частота его

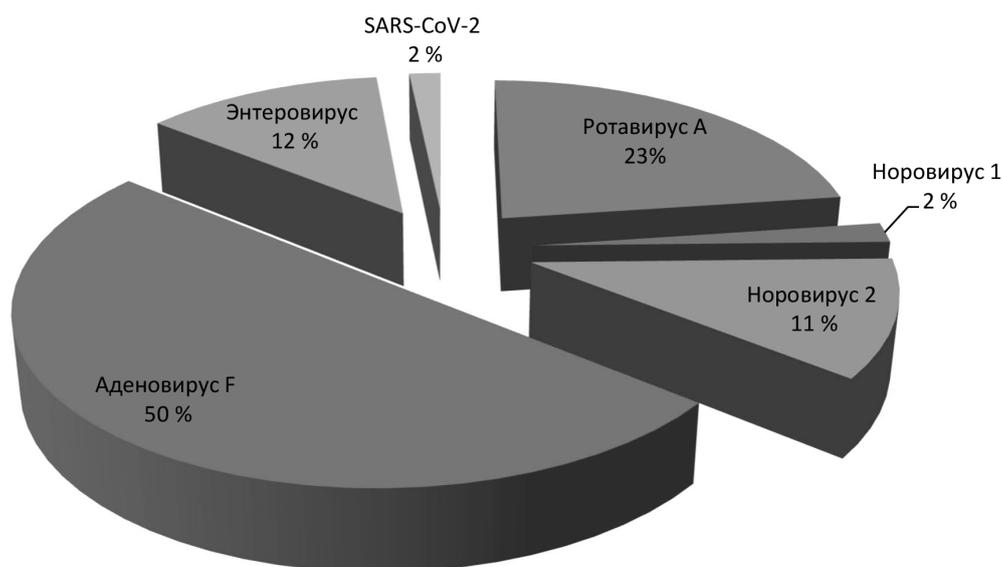


Рис. 1. Структура типового разнообразия идентифицированных в сточных водах вирусных агентов

Fig. 1. Structure of type diversity of viral agents identified in wastewater

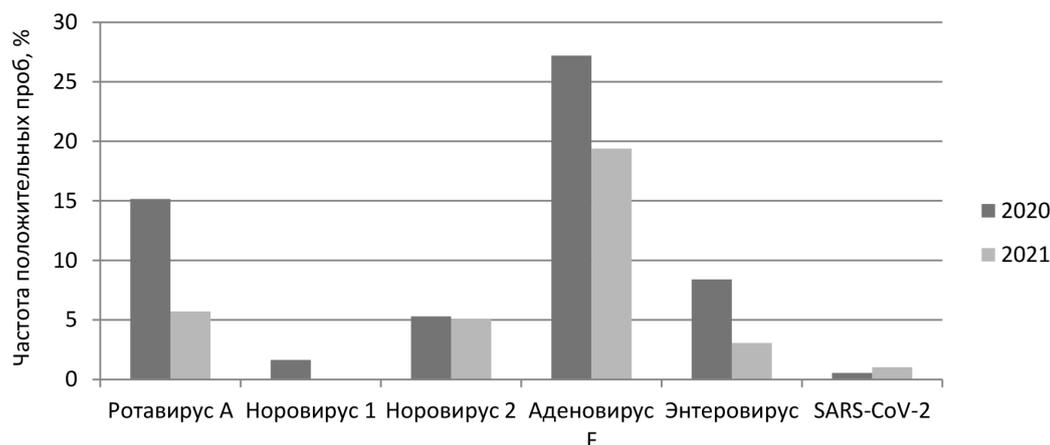


Рис. 2. Частота детекции НК кишечных вирусов и SARS-CoV-2 в пробах сточных вод в 2020 и 2021 гг.

Fig. 2. Detection frequency of NK enteric viruses and SARS-CoV-2 in wastewater samples in 2020 and 2021

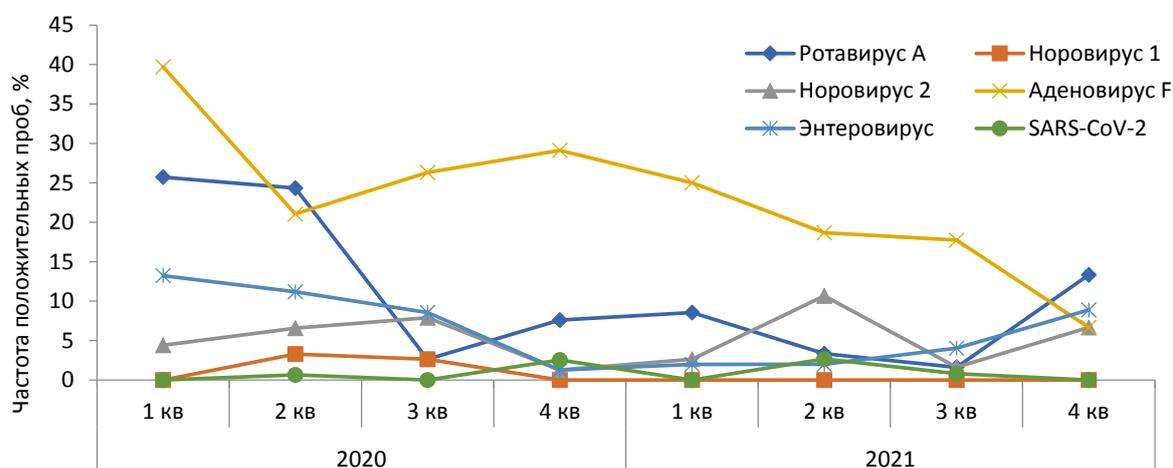


Рис. 3. Частота детекции НК кишечных вирусов и SARS-CoV-2 в пробах сточных вод по кварталам (2020–2021 гг.)

Fig. 3. Detection frequency of NK enteric viruses and SARS-CoV-2 in wastewater samples by quarters (2020–2021)

детекции в I–II квартале 2020 г. была достоверно выше, чем в течение всего последующего периода наблюдения (25,0 % [ДИ 95: 19,5 %; 31,5 %] – средняя частота выявления РНК ротавируса А в I–II квартале 2020 г., 5,1 % [ДИ 95: 3,6 %; 7,1 %] – средняя частота детекции РНК ротавируса А в III квартале 2020 г. – IV квартале 2021 г.). Максимальная доля проб, в которых выявлялась РНК энтеровируса, регистрировалась в I–III квартале 2020 г. Сравнение частоты детекции в I–III квартале 2020 г. и в последующий период также обнаружило достоверные различия: 10,9 % [ДИ 95: 8,0 %; 14,5 %] проб содержали РНК ЭВ в I–III квартале 2020 г. и 2,9 % [ДИ 95: 1,7 %; 4,7 %] – в последующий период наблюдения. Снижение частоты детекции РНК энтеровируса также могло быть обусловлено уменьшением интенсивности его циркуляции в связи с более жестким соблюдением санитарно-гигиенических правил населением страны. Детекция РНК норовируса 2-й геногруппы обнаружила два пика – в III квартале 2020 г. и во II квартале 2021 г., хотя выявленные различия по сравнению с другими периодами не были статистически достоверны. Частота детекции норовирусов 1-й геногруппы в целом была достаточно низкой, доля положительных проб, регистрируемых в разное время года, не имела достоверных отличий.

РНК SARS-CoV-2 в сточных водах была выявлена во II и IV кварталах 2020 г. и во II и III кварталах 2021 г. Пробы сточной воды, в которых обнаружено присутствие РНК SARS-CoV-2, были получены во II квартале 2020 г. из Могилевской обл. (г. Горки) – 1 изолят, в IV квартале 2020 г. из Гомельской обл. (г. Рогачев и г. Мозырь) – 2 изолята, в 2021 г. из г. Минска – в I квартале 1 изолят, во II квартале 3 изолята.

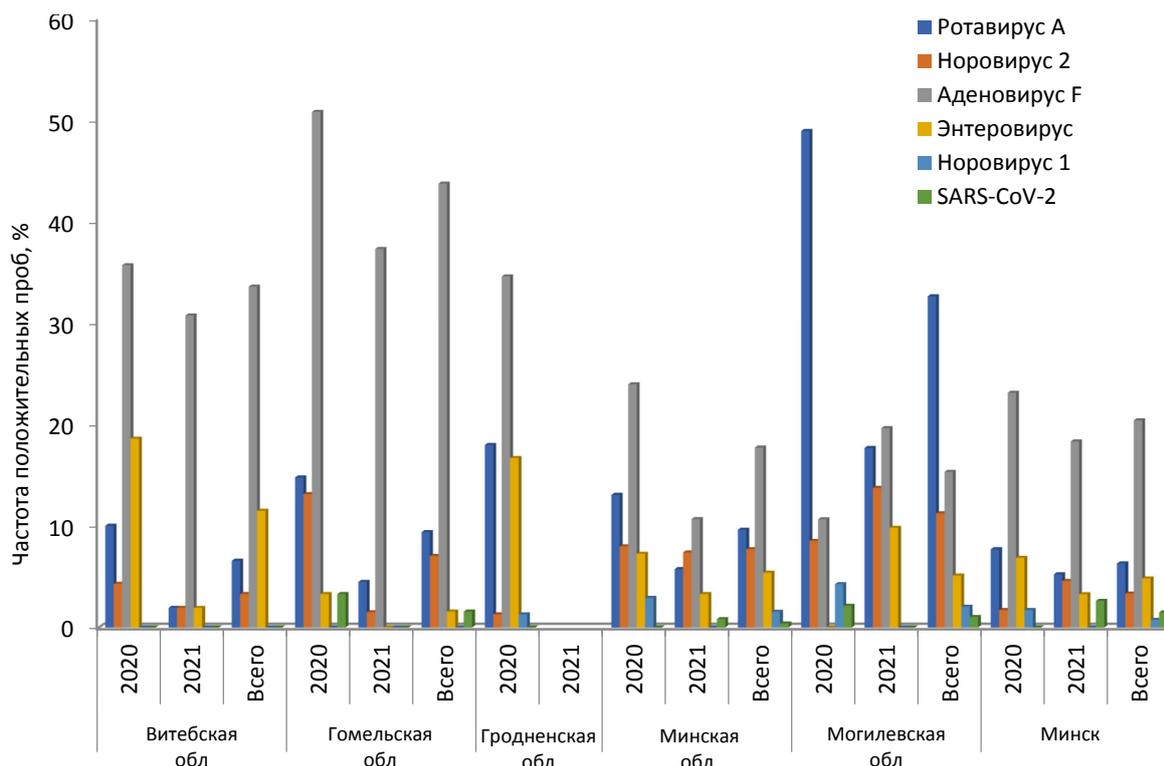


Рис. 4. Частота выявления НК различных кишечных вирусов и SARS-CoV-2 на территории различных областей Беларуси

Fig. 4. Detection frequency of various NK enteric viruses and SARS-CoV-2 in the territory of various regions of Belarus

Сравнение активности циркуляции кишечных вирусов в разных регионах страны проводили на основании анализа частоты их детекции в сточных водах разных областей Беларуси (рис. 4).

В анализ не включали результаты, полученные в Брестской обл. в 2020–2021 гг. и в Гродненской обл. в 2021 г., что обусловлено нерегулярным поступлением и малым количеством проб из этих областей. Как видно из рис. 4, в сточных водах всех регионов, за исключением Могилевской обл., чаще всего в течение всего периода наблюдения детектировались аденовирусы F (от 17 % [ДИ 95: 8,6 %; 25,3 %] в Минской обл. до 43,7 % [ДИ 95: 33,0 %; 56,8 %] в Гомельской обл.). Частота детекции ДНК аденовируса F была в 2 раза и более выше, чем РНК других кишечных вирусов ( $p < 0,05$ ). При сравнении регионов между собой установлено, что ДНК аденовируса F достоверно чаще выявлялась в Витебской и Гомельской областях, чем в Минской, Могилевской областях и г. Минске. В Могилевской обл. в 2020 г. РНК ротавируса A детектировалась в 4 раза чаще, чем других кишечных вирусов (48,9 % [ДИ 95: 31,0 %; 73,4 %],  $p < 0,05$ ), а в 2021 г. частота выявления РНК ротавируса A и ДНК аденовируса F была практически одинакова (17,6 % [ДИ 95: 8,0 %; 33,5 %] и 19,6 % [ДИ 95: 9,4 %; 36,0 %] соответственно). Частота детекции РНК норовирусов 2-й геногруппы на различных территориях не имела достоверных отличий и составляла от 3,3 % [ДИ 95: 0,9 %; 8,4 %] в Витебской обл. до 11,2 % [ДИ 95: 5,6; 20,0 %] в Могилевской обл. РНК энтеровирусов достоверно чаще обнаруживалась в сточных водах Витебской обл., чем в Гомельской обл. (11,5 % [ДИ 95: 6,3 %; 19,3 %] и 1,6 % [ДИ 95: 0,2 %; 5,6 %] соответственно). Частота выявления в сточных водах различных регионов РНК норовирусов 1-й геногруппы и SARS-CoV-2 была низкой и не имела достоверных различий.

Для определения концентрации кишечных вирусов в сточных водах использовали количественную ПЦР. С этой целью был сконструирован комплект калибраторов на основе плазмид, содержащих вставки-мишени для набора «ОКВИ-ПЦР», концентрации которых установлены спектрофотометрически. Из каждой плазмиды было приготовлено 4 разведения –  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  и  $10^7$  ГЭ/мл, которые использовались как калибраторы для определения концентраций РНК ротавируса A, норовирусов 1 и 2, ДНК аденовируса F и РНК энтеровируса.

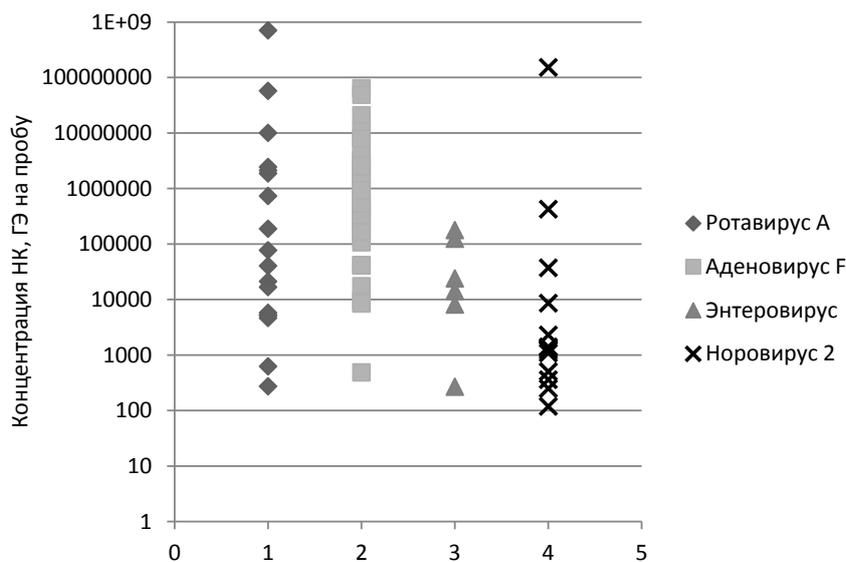


Рис. 5. Концентрация НК кишечных вирусов в пробах сточных вод

Fig. 5. Concentration of NK enteric viruses in sewage samples

Концентрации НК кишечных вирусов определяли в пробах, полученных в 2021 г. (рис. 5).

РНК ротавирусов А присутствовала в образцах в концентрациях  $6,3 \cdot 10^2$ – $1,5 \cdot 10^{10}$  ГЭ на пробу, средняя концентрация –  $0,8 \cdot 10^8$  ГЭ на пробу, медианная концентрация –  $7,7 \cdot 10^4$  ГЭ на пробу; ДНК аденовирусов обнаруживалась в диапазоне  $4,8 \cdot 10^2$ – $3,3 \cdot 10^9$  ГЭ на пробу, средняя концентрация –  $7,3 \cdot 10^7$  ГЭ на пробу, медианная концентрация –  $5,8 \cdot 10^5$  ГЭ на пробу; РНК норовирусов 2-й геногруппы детектировали в концентрации  $1,2 \cdot 10^2$ – $1,5 \cdot 10^8$  ГЭ на пробу, средняя концентрация –  $1,1 \cdot 10^7$  ГЭ на пробу, медианная концентрация –  $1,3 \cdot 10^3$  ГЭ на пробу; РНК энтеровирусов выявляли в диапазоне  $2,7 \cdot 10^2$ – $1,8 \cdot 10^5$  ГЭ на пробу, средняя концентрация –  $5,8 \cdot 10^4$  ГЭ на пробу, медианная концентрация –  $1,9 \cdot 10^4$  ГЭ на пробу. При этом, как видно из представленных выше данных, в ряде проб были обнаружены чрезвычайно высокие концентрации НК кишечных вирусов (см. таблицу).

#### Характеристика проб сточных вод с высокой концентрацией НК кишечных вирусов

#### Characteristics of wastewater samples with high concentration of NK enteric viruses

№ образца	Тип кишечного вируса	Концентрация НК, ГЭ на пробу	Место отбора
26034	Ротавирус	10 095 968	Быховская ЦРБ, Могилевская обл.
26977		57 588 443	г. Чериков, Могилевская обл.
28263		707 236 958	Климовичская ЦРБ, Могилевская обл.
27612		14 757 256 632	Витебская ОКИБ
25873	Аденовирус	64 236 103	г. Березино, Минская обл.
25874		49 115 950	Клецкая ЦРБ, Минская обл.
28068		8 151 445	г. Минск, Лучины, 28
28075		3 371 810	ДИКБ г. Минска
26703	Норовирус	152 448 543	Бельничская ЦРБ, Могилевская обл.

Как видно из представленных данных, большинство (6 из 9) проб с высокой вирусной нагрузкой были отобраны в точках сброса сточных вод из лечебных учреждений. Вполне закономерно, что концентрация НК кишечных вирусов в этих пробах была существенно выше, чем в пробах, которые отбирались в точках сброса городских сточных вод.

В отношении кишечных вирусов, которые присутствовали в пробах сточных вод в относительно высоких концентрациях, проведено молекулярное типирование, в результате которого идентифицированы норовирус GI.4[P16], аденовирусы 41-го типа (5 изолятов), энтеровирусы Коксаки В3, В5, ЕСНО 30 и ЕСНО 13. Следует отметить, что все идентифицированные в сточных

водах типы кишечных вирусов относились к доминирующим в этот период времени гено-/серо-типам возбудителей.

**Обсуждение.** Полученные в ходе мониторинга сточных вод результаты свидетельствуют о том, что аденовирусы F наиболее активно циркулируют среди населения страны. Общая частота их детекции в 2020–2021 гг. составила 50,1 % [ДИ 95: 44,0 %; 56,8 %], что достоверно выше, чем частота ротавирусов A (22,8 % [ДИ 95: 18,8 %; 27,45 %]), норовирусов 2-й геногруппы (11,1 % [ДИ 95: 8,3 %; 14,5 %]), энтеровирусов (12,5 % [ДИ 95: 9,6 %; 16,0 %]), норовирусов 1-й геногруппы (1,6 % [ДИ 95: 0,7 %; 3,2 %]). При этом следует отметить, что в качестве этиологического агента различных форм острых кишечных инфекций в Республике Беларусь в 2020–2021 гг. аденовирусы F выступали существенно реже, чем ротавирусы A и норовирусы 2-й геногруппы (по неопубликованным данным, обнаружены всего у 2,2 %–3,3 % пациентов с острыми гастроэнтеритами в 2020–2021 гг.). На основании этих результатов можно предположить, что значительная часть инфекций, вызванных аденовирусами F, протекает бессимптомно или со слабо выраженными клиническими проявлениями, которые не требуют обращения за медицинской помощью. Вместе с тем биологические свойства аденовирусов F, геном которых представлен двухцепочечной молекулой ДНК, обеспечивают их большую стабильность в условиях окружающей среды, что также может влиять на значительно более высокую частоту их детекции в пробах сточных вод. Высокая частота присутствия аденовирусов, в том числе аденовирусов F, в сточной воде позволяет заключить, что они являются более предпочтительными вирусными индикаторами фекального загрязнения воды. Это подтверждается и ранее полученными нами результатами исследования питьевой воды, где аденовирусы F выявлялись существенно чаще, чем используемые в настоящее время в качестве индикаторных организмов энтеровирусы [21].

Анализ частоты детекции кишечных вирусов в сточных водах в течение 2020 и 2021 гг. показал, что в 2021 г. имело место снижение активности циркуляции большинства кишечных вирусов среди населения. Общая доля проб, содержащих НК какого-либо вируса, в 2021 г. была достоверно ниже, чем в 2020 г., что, по-видимому, было связано с более строгим соблюдением санитарно-гигиенических норм, обусловленных пандемией COVID-19. Частота детекции аденовирусов F, ротавирусов A, энтеровирусов в 2021 г. была достоверно ниже, чем в 2020 г., тогда как в отношении норовирусов 2-й геногруппы достоверных различий в частоте обнаружения в сточной воде в 2020 и 2021 гг. не выявлено.

Результаты анализа сезонной частоты выявления НК кишечных вирусов показали, что в отношении ротавирусов A максимальные их уровни регистрировались в холодное время года, что, вероятно, отражало сезонность вызванной ими заболеваемости среди населения. Частота детекции ДНК аденовирусов F постепенно снижалась в течение 2020–2021 гг., без заметных сезонных подъемов и спадов. Заболеваемость аденовирусным гастроэнтеритом не имеет сезонности, что, по-видимому, объясняет отсутствие соответствующих колебаний уровней его ДНК в сточной воде. Пики детекции РНК норовирусов 2-й геногруппы в сточных водах не совпадали с сезонными подъемами вызванной ими заболеваемости и были зарегистрированы в III квартале 2020 г. и во II квартале 2021 г.

Изучение географических особенностей выявления НК кишечных вирусов в сточных водах показало, что на территории всех областей, кроме Могилевской, чаще всего выявлялась ДНК аденовирусов F. При этом на территории Витебской, Гомельской и Гродненской областей она обнаруживалась в 1,5–2 раза чаще, чем в Минской, Могилевской областях и г. Минске. В Могилевской области в 2020 г. РНК ротавирусов A обнаруживалась достоверно чаще, чем ДНК аденовирусов F, а в 2021 г. частота детекции НК обоих возбудителей была одинакова. Что лежит в основе обнаруживаемых различий, на данный момент сказать сложно, но более вероятно, что региональные особенности организации процесса отбора проб оказывают большее влияние, чем реальные уровни заболеваемости каждой из инфекций.

На сегодняшний день существует довольно много работ, авторы которых изучали концентрации НК кишечных вирусов в сточных водах. Проведение таких исследований, как правило, основано на отборе пробы сточных вод определенного объема (обычно 1–10 л) с последующим концентрированием вирусов-контaminантов разными методами. Такой подход позволяет определять

концентрацию вирусных НК в 1 л сточных вод. Альтернативой этому методу является концентрирование вирусов из проб в потоке сточной воды с использованием пакетов с адсорбентом. Такая методика отбора проб применяется в России [22], она же лежит в основе коммерческих наборов, которые были использованы при проведении настоящих исследований. Суть этого метода заключается в том, что пакет с адсорбирующим материалом помещается на определенное время в ток сточных вод, после чего адсорбировавшиеся за это время вирусы элюируются в лаборатории. Использование такого подхода не позволяет достоверно определить исследованный объем сточных вод, из которых адсорбировались вирусы, поэтому расчет концентрации вирусной НК на единицу объема сточных вод невозможен. В представленной работе концентрация вирусов оценивалась нами в пересчете на пробу. Полученные нами результаты показали, что определенные нами с использованием пакетов с адсорбентом концентрации вирусов были сопоставимы с концентрациями, которые определялись другими исследователями при пересчете на 1 л сточных вод. Так, по нашим данным, концентрация РНК ротавирусов А составила  $6,3 \cdot 10^2 - 1,5 \cdot 10^{10}$  ГЭ на пробу, тогда как по результатам других авторов –  $1 \cdot 10^1 - 8,7 \cdot 10^8$  ГЭ/л [23, 24], ДНК аденовирусов F присутствовала в концентрации  $4,8 \cdot 10^2 - 3,3 \cdot 10^9$  ГЭ на пробу, по данным зарубежных исследователей – в диапазоне  $5 \cdot 10^4 - 3,3 \cdot 10^{10}$  ГЭ/л [25, 26], концентрация РНК норовирусов 2-й геногруппы составила  $1,2 \cdot 10^2 - 1,5 \cdot 10^8$  ГЭ на пробу, по данным литературных источников –  $0,00 - 2,6 \cdot 10^9$  ГЭ/л [26, 27], РНК энтеровирусов определялась нами в диапазоне  $2,7 \cdot 10^2 - 1,8 \cdot 10^5$  ГЭ на пробу, по данным других исследователей –  $3,8 \cdot 10^8 - 2,4 \cdot 10^9$  ГЭ/л [28]. Максимальные концентрации НК кишечных вирусов выявлялись, как правило, в пробах госпитальных сточных вод, что согласуется с результатами других исследователей.

Цель и задачи настоящего исследования первоначально были направлены только на мониторинг кишечных вирусов в сточных водах, однако пандемия COVID-19 привела к включению SARS-CoV-2 в перечень отслеживаемых вирусов. Все образцы сточных вод, поступившие в лабораторию, были исследованы на предмет присутствия в них РНК SARS-CoV-2. Полученные результаты позволили обнаружить РНК SARS-CoV-2 в 7 образцах сточных вод, что составило 0,6 % от всех исследованных проб и 2 % от всех идентифицированных вирусов. Поскольку нам удалось обнаружить лишь единичные положительные в отношении SARS-CoV-2 пробы, делать какой-либо вывод на их основании преждевременно. Малая частота выявления РНК SARS-CoV-2 была обусловлена, по-видимому, отсутствием оптимизированных методов пробоподготовки. Наборы, использованные для отбора проб, были разработаны и оптимизированы в отношении безоболочечных кишечных вирусов, эффективность их применения для адсорбции-элюции оболочечных вирусов, к которым принадлежит SARS-CoV-2, может быть гораздо ниже. Кроме того, оболочечные вирусы являются значительно более уязвимыми к воздействию неблагоприятных факторов, таких как детергенты и поверхностно-активные вещества, которые присутствуют в сточных водах в больших количествах. Исходя из этого очевидна необходимость оптимизации методов улавливания SARS-CoV-2 из сточных вод, их концентрирования и последующей детекции.

**Заключение.** Мониторинг сточных вод в отношении доминирующих групп кишечных вирусов (ротавирусов А, норовирусов 1-й и 2-й геногрупп, аденовирусов F, энтеровирусов), включающий количественное определение содержания их НК был проведен в Беларуси впервые. В ходе его проведения исследовано более 1000 проб из разных регионов Беларуси, полученных в течение 2020–2021 гг. Анализ полученных результатов свидетельствовал о том, что в 2021 г. имело место снижение активности циркуляции большинства кишечных вирусов по сравнению с 2020 г., которое, вероятно, было обусловлено более строгим соблюдением санитарно-гигиенических правил во время пандемии COVID-19. Преобладание в сточных водах ДНК аденовирусов F могло быть связано с их широким бессимптомным носительством, с одной стороны, и большей устойчивостью ДНК возбудителя во внешней среде – с другой. Зарегистрированное повышение частоты детекции РНК ротавирусов А в холодное время года было обусловлено скорее всего сезонными подъемами заболеваемости. Вместе с тем в отношении норовирусов 2-й геногруппы такой закономерности не выявлено. Обнаружены региональные особенности частоты выявления НК различных кишечных вирусов, однако их причины требуют дальнейшего выяснения. Количественный анализ содержания вирусных НК в сточных водах показал, что метод концентрирования вирусов с помощью

пакетов с адсорбентом может быть использован для мониторинга их концентраций. Большинство проб с высокими концентрациями НК кишечных вирусов были отобраны из точек, куда осуществлялся сброс сточных вод непосредственно из учреждений здравоохранения. По результатам молекулярного типирования в исследованных сточных водах присутствовали наиболее распространенные гено- или серотипы возбудителей – норовирус GI.4[P16], аденовирус 41-го типа, энтеровирусы Коксаки В3, В5 и ЕСНО 13.

Полученные данные, основанные на количественном анализе содержания кишечных вирусов в сточных водах, представляют ценную информацию об их циркуляции в человеческой популяции, которая позволяет оценивать текущую эпидемическую ситуацию и прогнозировать ее развитие в ближайшей перспективе.

#### Список использованных источников

1. Daughton, C. Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences / C. Daughton // *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues Edition: Symposium Series 791*. – Washington : Am. Chem. Soc., 2001. – Ch. 20. – P. 348–364.
2. Wastewater-based epidemiology as a novel biomonitoring tool to evaluate human exposure to pollutants / E. Gracia-Lor [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2018. – Vol. 52, N 18. – P. 10224–10226. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01403>
3. Sims, N. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level // N. Sims, B. Kasprzyk-Hordern // *Environ. Int.* – 2020. – Vol. 139. – Art. 105689. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
4. Xagorarakis, I. Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks / I. Xagorarakis, E. O'Brien // *Women in Water Quality: Investigations by Prominent Female Engineers* / ed. D. O'Bannon. – Cham, 2019. – P. 75–97.
5. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems / W. Ali [et al.] // *J. Hazard Mater.* – 2021. – Vol. 414. – Art. 125439. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>
6. Wastewater-based epidemiology as an early warning system for the spreading of SARS-CoV-2 and its mutations in the population / T. Mackulak [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* – 2021. – Vol. 18, N 11. – Art. 5629. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115629>
7. Norovirus genotypes present in oysters and in effluent from a wastewater treatment plant during the seasonal peak of infections in Ireland in 2010 / P. Rajko-Nenow [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2013. – Vol. 79, N 8. – P. 2578–2587. <https://doi.org/10.1128/aem.03557-12>
8. Environmental surveillance of norovirus genogroups I and II for sensitive detection of epidemic variants / S. Kazama [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2017. – Vol. 83, N 9. – P. e03406-16. <https://doi.org/10.1128/aem.03406-16>
9. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015 / M. Bisseux [et al.] // *Eurosurveillance.* – 2018. – Vol. 23, N 7. – pii 17-00237. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2018.23.7.17-00237>
10. Sanger, F. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1977. – Vol. 74, N 12. – P. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
11. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India / S. George [et al.] // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2012. – Vol. 30, N 1. – P. 24–29. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.93016>
12. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses / S. Kojima [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 2002. – Vol. 100, N 1–2. – P. 107–114. [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(01\)00404-9](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(01)00404-9)
13. Development of enhanced primer sets for detection of norovirus / B. H. Kong [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/103052>
14. Lu, X. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene / X. Lu, D. D. Erdman // *Arch. Virol.* – 2006. – Vol. 151, N 8. – P. 1587–1602. <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0722-7>
15. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak / A. Mirand [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2006. – Vol. 78, N 12. – P. 1624–1634. <https://doi.org/10.1002/jmv.20747>
16. Nix, W. A. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens / W. A. Nix, M. S. Oberste, M. A. Pallansch // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, N 8. – P. 2698–2704. <https://doi.org/10.1128/jcm.00542-06>
17. Basic local alignment search tool / S. F. Altschul [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 1990. – Vol. 215, N 3. – P. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
18. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Mol. Biol. Evol.* – 2016. – Vol. 33, N 7. – P. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
19. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses / A. Kroneman [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2011. – Vol. 51, N 2. – P. 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.03.006>
20. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
21. Possible indicator role of adenoviruses for assessing viral contamination of water / T. V. Amvrosieva [et al.] // *Proc. of the 11th Eastern European young water professional conference, 01–05.10.2019, Praha / Univ. of Chem. and Technol. – Praha, 2019. – P. 76–81.*

22. МУК 4.2.2029-05. Санитарно-вирусологический контроль водных объектов : метод. указания. – Введ. : 2005-11-18. – М. : Роспотребнадзор, 2006. – 40 с.
23. One-year monthly survey of rotavirus, astrovirus and norovirus in three sewage treatment plants (STPs) in Beijing, China and associated health risk assessment / X. Q. He [et al.] // *Water Sci. Technol.* – 2011. – Vol. 64, N 6. – P. 1202–1210. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.080>
24. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants / T. Prado [et al.] // *Water Res.* – 2011. – Vol. 45, N 3. – P. 1287–1297. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.012>
25. Detection and quantitation of infectious human adenoviruses and JC polyomaviruses in water by immunofluorescence assay / B. Calgua [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 2011. – Vol. 171, N 1. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.09.013>
26. UV inactivation of human infectious viruses at two full-scale wastewater treatment plants in Canada / Y. Qiu [et al.] // *Water Res.* – 2018. – Vol. 147. – P. 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.057>
27. High occurrence of hepatitis E virus in samples from wastewater treatment plants in Switzerland and comparison with other enteric viruses / F. G. Masclaux [et al.] // *Water Res.* – 2013. – Vol. 47, N 14. – P. 5101–5109. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.050>
28. Qualitative and quantitative molecular detection of enteroviruses in water from bathing areas and from a sewage treatment plant / E. Schvoerer [et al.] // *Res. Microbiol.* – 2001. – Vol. 52, N 2. – P. 179–186. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(01\)01190-1](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(01)01190-1)

## References

1. Daughton C. Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences. *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues Edition: Symposium Series 791*. Washington D. C., American Chemical Society, 2001, Ch. 20, pp. 348–364.
2. Gracia-Lor E., Rousis N., Hernández F., Zuccato E., Castiglioni S. Wastewater-based epidemiology as a novel biomonitoring tool to evaluate human exposure to pollutants. *Environmental Science and Technology*, 2018, vol. 52, no. 18, pp. 10224–10226. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01403>
3. Sims N., Kasprzyk-Hordern B. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environment International*, 2020, vol. 139, art. 105689. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
4. Xagorarakis I., O'Brien E. Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks. *Women in Water Quality: Investigations by Prominent Female Engineers*. Cham, 2019, pp. 75–97.
5. Ali W., Zhang H., Wang Zh., Chang Ch., Javed A., Ali K., Du W., Niazi N. K., Mao K., Yang Zh. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 414, art. 125439. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>
6. Mackulák T., Gál M., Špalková V., Fehér M., Briestenská K., Mikušová M., Tomčíková K., Tamáš M., Škulcová A. B. Wastewater-based epidemiology as an early warning system for the spreading of SARS-CoV-2 and its mutations in the population. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, vol. 18, no. 11, art. 5629. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115629>
7. Rajko-Nenow P., Waters A., Keaveney S., Flannery J., Tuite G., Coughlan S., O'Flaherty V., Doré W. Norovirus genotypes present in oysters and in effluent from a wastewater treatment plant during the seasonal peak of infections in Ireland in 2010. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, vol. 79, no. 8, pp. 2578–2587. <https://doi.org/10.1128/aem.03557-12>
8. Kazama S., Miura T., Masago Y., Konta Y., Tohma K., Manaka T., Liu X., Nakayama D., Tanno T., Saito M., Oshitani H., Omura T. Environmental surveillance of norovirus genogroups I and II for sensitive detection of epidemic variants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, vol. 83, no. 9, pp. e03406-16. <https://doi.org/10.1128/aem.03406-16>
9. Bisseux M., Colombet J., Mirand A., Roque-Afonso A.-M., Abravanel F., Izopet J., Archimbaud C., Peigue-Lafeuille H., Debroas D., Bailly J.-L., Henquell C. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015. *Eurosurveillance*, 2018, vol. 23, no. 7, pii 17-00237. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2018.23.7.17-00237>
10. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1977, vol. 74, no. 12, pp. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
11. George S., Menon V. K., Ramani S., Kang G. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2012, vol. 30, no. 1, pp. 24–29. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.93016>
12. Kojima S., Kageyama T., Fukushi Sh., Hoshino F. B., Shinohara M., Uchida K., Natori K., Takeda N., Katayama K. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *Journal of Virological Methods*, 2002, vol. 100, no. 1–2, pp. 107–114. [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(01\)00404-9](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(01)00404-9)
13. Kong B. H., Lee S.-G., Han S.-H., Jin J.-Y., Jheong W.-H., Paik S.-Y. Development of enhanced primer sets for detection of norovirus. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/103052>
14. Lu X., Erdman D. D. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene. *Archives of Virology*, 2006, vol. 151, no. 8, pp. 1587–1602. <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0722-7>
15. Mirand A., Archimbaud Ch., Henquell C., Michel Y., Chambon M., Peigue-Lafeuille H., Bailly J.-L. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak. *Journal of Medical Virology*, 2006, vol. 78, no. 12, pp. 1624–1634. <https://doi.org/10.1002/jmv.20747>

16. Nix W. A., Oberste M. A., Pallansch M. S. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, vol. 44, no. 8, pp. 2698–2704. <https://doi.org/10.1128/jcm.00542-06>
17. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
18. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
19. Kroneman A., Vennema H., Deforche K., Avoort H. V. D., Peñaranda S., Oberste M. S., Vinjé J., Koopmans M. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *Journal of Clinical Virology*, 2011, vol. 51, no. 2, pp. 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.03.006>
20. Glants S. *Medico-biological statistics*. Moscow, Praktika Publ., 1998. 459 p. (in Russian).
21. Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Belskaya I. V., Laziuk S. K., Kazinets O. N., Shilova Yu. A. Possible indicator role of adenoviruses for assessing viral contamination of water. *Proceedings of the 11th Eastern European young water professional conference, 01–05.10.2019, Praha*. Praha, 2019, pp. 76–81.
22. MUK 4.2.2029-05. *Sanitary and virological control of water bodies: method. instructions. Introduced: 2005-11-18*. Moscow, Rospotrebnadzor Publ., 2006. 40 p. (in Russian).
23. He X. Q., Cheng L., Zhang D. Y., Xie X. M., Wang D. H., Wang Z. One-year monthly survey of rotavirus, astrovirus and norovirus in three sewage treatment plants (STPs) in Beijing, China and associated health risk assessment. *Water Science and Technology*, 2011, vol. 64, no. 6, pp. 1202–1210. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.080>
24. Prado T., Silva D. M., Guilayn W. C., Rose T. L., Gaspar A. M. C., Miagostovich M. P. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. *Water Research*, 2011, vol. 45, no. 3, pp. 1287–1297. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.012>
25. Calgua B., Barardi C. R. M., Bofill-Mas S., Rodriguez-Manzano J., Girones R. Detection and quantitation of infectious human adenoviruses and JC polyomaviruses in water by immunofluorescence assay. *Journal of Virological Methods*, 2011, vol. 171, no. 1, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.09.013>
26. Qiu Y., Li Q., Lee B. E., Ruecker N. J., Neumann N. F., Ashbolt N. J., Pang X. UV inactivation of human infectious viruses at two full-scale wastewater treatment plants in Canada. *Water Research*, 2018, vol. 147, pp. 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.057>
27. Masclaux F. G., Hotz Ph., Friedli D., Savova-Bianchi D., Oppliger A. High occurrence of hepatitis E virus in samples from wastewater treatment plants in Switzerland and comparison with other enteric viruses. *Water Research*, 2013, vol. 47, no. 14, pp. 5101–5109. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.050>
28. Schvoerer E., Ventura M., Dubos O., Cazaux G., Serceau R., Gournier N., Dubois V., Caminade P., Fleury H. J. A., Lafon M.-E. Qualitative and quantitative molecular detection of enteroviruses in water from bathing areas and from a sewage treatment plant. *Research in Microbiology*, 2001, vol. 52, no. 2, pp. 179–186. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(01\)01190-1](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(01)01190-1)

### Информация об авторах

*Поклонская Наталья Владимировна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>

*Амвросьева Тамара Васильевна* – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [amvrosieva@gmail.com](mailto:amvrosieva@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>

*Колтунова Юлия Борисовна* – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>

*Бельская Инна Валерьевна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>

*Шилова Юлия Александровна* – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0002-4521-6599>

### Information about authors

*Natallia V. Paklonskaya* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>

*Tamara V. Amvrosieva* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [amvrosieva@gmail.com](mailto:amvrosieva@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>

*Yuliya B. Kaltunova* – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>

*Ina V. Belskaya* – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>

*Yuliya A. Shilova* – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com). <https://orcid.org/0000-0002-4521-6599>