

Надзор за сточными водами и окружающей средой

Резюме по холере

Пилотная версия от 6 декабря 2024 г.



В этом документе содержится информация о надзоре за сточными водами и окружающей средой (НСВОС) на наличие патогенного вибриона *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*), вызывающего холеру. Другие виды *Vibrio* и непатогенные штаммы *V. cholerae* не рассматриваются. Данный документ следует использовать вместе с сопутствующим *Руководством НСВОС по одному или нескольким патогенам*, которое включает общую и сквозную информацию (доступно [здесь](#)). Если иное не указано, информация, актуальная на момент написания, взята из общедоступных источников ВОЗ и ЦКЗ США.

Краткий обзор НСВОС в отношении холеры

- В целом фактических данных для определения оптимального вклада НСВОС в контроль холеры и меры реагирования недостаточно. Необходимы дальнейшие исследования.

Таблица 1. Краткая оценка ключевых критериев НСВОС в отношении *V. cholerae* (при наличии и отсутствии канализации)^{a,b}

Условия	Категориальная оценка (CA)		Значимость для общественного здравоохранения	Осуществимость / Относительная ценность	Техническая осуществимость	Операционная осуществимость	Приемлемость	Оптимизация	
	Убедительность доказательств в (SoE)	CA						Комплексный ответ на заболевание	Многоцелевой НСВОС
Наличие канализации	CA	High	High	High	High	High	High	High	High
	SoE	High	High	High	High	High	High	High	High
Отсутствие канализации	CA	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
	SoE	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low

Обозначения:

1. Категориальная оценка (CA) критериев

Категория	Код	Описание
Высокая	High	Критерии оцениваются как соблюдающиеся на самом высоком уровне
Средняя	Medium	Критерии оцениваются как соблюдающиеся на промежуточном уровне (возможно, что соблюдаются не все подкомпоненты критериев)
Низкая	Low	Соблюдение критериев оценивается как низкое
Не поддерживается	Not supported	Критерии оцениваются как не поддерживающиеся
Неприменимо	Not applicable	Критерий неприменим ИЛИ не может оцениваться из-за недостаточных фактических данных

2. Убедительность доказательств (SoE)

Уровень доказательств	Код	Описание
Сильный	High	Высококачественные последовательные доказательства, в том числе из нескольких соответствующих исследований/условий, масштабируемых, в течение длительного периода, с фактическими данными из условий выполнения программы, а не только из исследовательских работ или краткосрочных проектов.
Умеренный	Medium	Соответствующие доказательства доступны, но не отвечают критериям классификации уровня «Сильный» ^c .
Недостаточные доказательства	Low	Имеющиеся доказательства недостаточны, и необходимы дальнейшие исследования/оценки

^a Более подробное описание критериев, используемых для оценки применимости НСВОС в отношении конкретного патогена, а также методов, используемых для оценки этих критериев, включено в *Руководство НСВОС по одному или нескольким патогенам*. Оценка в таблице 1 отражает краткую характеристику на глобальном уровне, но оценка на уровне отдельной страны может отличаться.

^b Под наличием канализации понимается наличие закрытых канализационных сетей. Под отсутствием канализации понимается наличие различных установок, не объединенных в «канализационные сети», включая открытый дренаж и коллективные точки отбора проб. Небольшие септик-танки

отдельных жилых домов или зданий не подходят для индивидуального отбора проб и отдельно здесь не рассматриваются. На сегодняшний день большая часть данных НСВОС получена с использованием канализационных сетей, зачастую в районах с высоким уровнем дохода. Тем не менее в мире большая часть населения пользуется разнородными неканализационными сооружениями, и это имеет значение для оценки различных категорий НСВОС.

^c Доказательства, классифицированные как «умеренные», соответствуют одному или нескольким из следующих критериев: получены не из многочисленных источников, в течение короткого периода, без фактических данных на уровне выполнения программы, и/или когда результаты не являются последовательными или высококачественными.

ПРОЕКТНАЯ ВЕРСИЯ

Резюме

- Холера — это острое диарейное заболевание, которое при отсутствии лечения может в течение нескольких часов привести к летальному исходу. Поэтому своевременная информация о распространенности инфекции среди населения является актуальной и **имеет большое практическое значение** для местных органов здравоохранения.
- Возбудитель заболевания, токсигенный вибрион *V. cholerae* серогруппы O1 или O139, остается патогеном, сохраняющим постоянное **глобальное значение для здравоохранения** и приоритетное направление для контроля. В мире ежегодно регистрируются миллионы случаев холеры, приводящие к десяткам тысяч летальным исходам.
- Эта болезнь в первую очередь связана с **низким уровнем доходов** при отсутствии доступа к безопасной воде и санитарно-гигиеническим услугам. В этих обстоятельствах приоритетом является улучшение методов контроля.
- В 2017 году была запущена Глобальная стратегия по борьбе с холерой «Ликвидация холеры: глобальная дорожная карта до 2030 года», предусматривающая сокращение смертности от холеры на 90%. Усиление контроля может потенциально поддержать **мониторинг и действия** в рамках достижения этой цели.
- Проведение НСВОС в отношении *V. cholerae* демонстрирует **техническую осуществимость** ряда методов, включая культуральные и молекулярные, с различными вариантами обогащения, методы количественного и качественного обнаружения и секвенирования. Однако в плане принятия мер в области общественного здравоохранения существуют ограничения в интерпретации полученных данных из-за других встречающихся в природе вибрионов и необходимости множественных целевых анализов для подтверждения патогенности потенциально вызывающего холеру *V. cholerae*. Поэтому срочно требуется проведение высококачественных пилотных исследований для уточнения критериев НСВОС в отношении *V. cholerae* и сокращения критических пробелов в знаниях при различных обстоятельствах.
- Значение проведения НСВОС в отношении *V. cholerae* для оценки бремени инфекции и заболевания **ограничено автохтонным характером резервуара** патогена в окружающей среде. Чтобы улучшить значение НСВОС для *V. cholerae*, необходимо использовать праймеры и зонды, ориентированные на гены вирулентности (например, ген токсина), учитывая при этом, что ген токсина может присутствовать и в нехолерных вибрионах.
- Существующий **глобальный практический опыт** использования программ НСВОС для контроля распространенности холеры в оперативных контекстах **очень ограничен**, при этом работа на сегодняшний день сводится к пилотным и научным исследованиям.
- Ответные меры по линии НСВОС ограничены целевыми географическими районами и системным уровнем и не влияют на лечение конкретного пациента. Теоретически они могут включать продвижение первичной и повторной вакцинации, создание центров лечения холеры (СТС) или пунктов оральной регидратации (ОРП), усиленное наблюдение за симптомами и поощрение надлежащих практик в области ВССГ посредством образования.

Содержание

1.	Общая информация.....	1
1.1.	Возбудитель, сопутствующее заболевание и факторы риска	1
1.2.	Глобальное бремя, географическое распределение и сезонность	1
1.3.	Пути передачи	1
1.4.	Зоонозные хозяева и потенциальные резервуары	1
1.5.	Пандемический потенциал для человека	2
2.	<i>V. cholerae</i> и их присутствие в сточных и природных водах	3
2.1.	Потенциальные источники попадания в сточные и природные воды	3
2.2.	Устойчивость целевых штаммов <i>V. cholerae</i> в сточных водах и окружающей среде	3
2.3.	Опыт применения НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i>	4
3.	Контроль распространения холеры	5
3.1.	Общий контроль присутствия <i>V. cholerae</i> и меры реагирования.....	5
3.2.	Существующие системы контроля и источники данных.....	5
4.	Задачи НСВОС и соответствующие действия в области общественного здравоохранения.....	8
4.1.	Рутинное использование НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i>	8
4.2.	Гибкий режим НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i>	9
4.3.	Возможные действия по линии общественного здравоохранения, возникающие в результате добавления НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i>	10
5.	Дополнительные методологические соображения по НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i>	11
5.1.	Методы отбора проб.....	11
5.2.	Лабораторные методы	11
5.3.	Отчетность и коммуникации	13
5.4.	Приемлемость НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i>	13
6.	Соображения по комплексному контролю и многоцелевому НСВОС.....	14
6.1.	Интеграция НСВОС в отношении <i>V. cholerae</i> в существующие системы контроля и реагирования для <i>V. cholerae</i>	14
6.2.	Интеграция результатов многоцелевого контроля НСВОС вместе с данными по <i>V. cholerae</i>	14
7.	Основные пробелы в знаниях и приоритеты прикладных исследований.....	15
	Список литературы	16

1. Общая информация

1.1. Возбудитель, сопутствующее заболевание и факторы риска

Vibrio cholerae — вид грамотрицательных бактерий, некоторые штаммы которых являются патогенными для человека. Классическим симптомом заражения *V. cholerae* токсикогенных серогрупп O1 и реже O139 является острая водянистая диарея. Особенно патогенной была седьмая пандемическая линия El Tor серогруппы O1 *V. cholerae* (7PET). Симптомы обычно сохраняются в течение нескольких дней и проходят сами собой. Может возникать сильное обезвоживание, приводящее к госпитализации и даже смерти. Лечение включает в себя быструю регидратацию пациента для снижения риска летального исхода. Эти симптомы острого гастроэнтерита обусловлены разнообразными причинами и не являются специфичными для *V. cholerae*. Таким образом, подтверждение диагноза холеры производится только после клинического тестирования предполагаемых случаев холеры с помощью культивирования и/или ПЦР на образцах кала или ректальных мазков.

1.2. Глобальное бремя, географическое распределение и сезонность

Текущая (седьмая) пандемия холеры продолжается с 1960-х годов, и в оперативных отчетах ВОЗ отмечено, что в 2022 году крупные, возобновляющиеся вспышки холеры наблюдались в >30 странах, включая несколько стран, где не было случаев заболевания, по крайней мере, в течение трех предыдущих лет.

Повышенный риск вспышек холеры связан с существенными климатическими, сезонными и экологическими факторами. Важную роль играет температура, причем наиболее сильно с увеличением числа вспышек холеры связаны географические районы с более теплым климатом, а также более теплые периоды года и годы феномена Эль-Ниньо. Со вспышками холеры в субтропических и тропических климатических зонах тесно связаны серьезные происшествия, которые ставят под угрозу функционирование системы ВССГ (например, такие климатические события, как наводнения и сильные ветры; или травмирующие события, такие как война и перемещение населения).

1.3. Пути передачи

Поскольку *V. cholerae* распространяется через фекально-оральный путь передачи, в первую очередь через загрязненную воду и пищу, то контроль распространения *V. cholerae* сфокусирован на доступе к безопасной воде и санитарно-гигиеническим услугам, на программах безопасности пищевых продуктов и целевом использовании вакцин.

1.4. Зоонозные хозяева и потенциальные резервуары

Основным естественным хозяином патогенных штаммов *V. cholerae*, вызывающих симптомы холеры, является человек. Симптоматическое заболевание связано только с тем подмножеством

штаммов *V. cholerae*, которые могут существовать в окружающей среде. Патогенные и непатогенные для человека виды *Vibrio* могут естественным образом присутствовать в солоноватых водных системах, будучи как свободно взвешенными в воде, так и связанными с водорослями, зоопланктоном и другими водными животными, они могут также проникать в низкорасположенные системы канализации, открытые дренажные системы и реки. Такое широкое распространение в окружающей среде близкородственных видов вибрионов является усугубляющим фактором при выполнении НСВОС и может осложнять интерпретацию результатов НСВОС для сбора данных о холере в соответствующем сообществе. Кроме того, обнаружение токсигенных штаммов *V. cholerae* в пробах окружающей среды не обязательно указывает на то, что в соответствующих сообществах имеют место клинические случаи¹, поскольку бактерии могут существовать в окружающей среде и в отсутствие продолжающейся эпидемии. Холера связана лишь с небольшой частью многих видов и серотипов *V. cholerae*, существующих в окружающей среде. Поэтому, чтобы получить значимые для здравоохранения результаты, НСВОС в отношении *V. cholerae* следует проводить в целях не просто определения присутствия патогена в окружающей среде, а наличия в сообществе холеры, вызванной локально циркулирующими патогенами.

1.5. Пандемический потенциал для человека

V. cholerae влечет высокое бремя заболевания, может привести к смерти здоровых людей, особенно молодых, проявляется частыми, повторяющимися вспышками во многих районах и может повторно возникать в тех районах, где вспышек нет. Из-за фекально-орального способа передачи болезнь может вызывать регулярные вспышки в любом районе, где отсутствует адекватная система водоснабжения, санитарии и гигиены (ВССГ).

2. *V. cholerae* и их присутствие в сточных и природных водах

2.1. Потенциальные источники попадания в сточные и природные воды

Токсигенные бактерии *V. cholerae* выделяются через фекалии и рвотные массы в сточные и природные воды. В течение примерно 1–10 дней после заражения возбудитель может быть легко обнаружен в лабораторных пробах кала инфицированных людей.

Особое значение для проведения НСВОС имеет тот факт, что *V. cholerae* может также естественным образом присутствовать и размножаться в природных водах (при отсутствии фекалий или рвотных масс инфицированных людей). Следовательно, теоретически *V. cholerae* может попадать из природных вод, поступающих в систему сточных вод в качестве притока и инфильтрации как намеренно (комбинированные ливневые и канализационные системы), так и непреднамеренно (некомбинированные системы). Теоретически эти риски могут увеличивать такие факторы, как более высокая температура, более соленая вода, более высокие приливы и обильные осадки.

При симптоматических инфекциях может пройти до пяти дней, прежде чем симптомы станут очевидными. При соответствующей симптоматике возбудитель может выделяться в фекалиях в очень больших количествах: от 10 миллиардов до 1 триллиона культивируемых *V. cholerae* на литр с момента появления симптомов, при этом выделение продолжается в течение 1–2 недель.

Большинство инфекций *V. cholerae* протекают бессимптомно (приблизительно 80%), и только у 1 из 10 инфицированных возникают достаточно серьезные симптомы, чтобы обратиться в медицинские учреждения. У бессимптомных людей выделение вируса намного ниже, примерно 1000 культивируемых *V. cholerae* на литр стула, и обнаруживаются они обычно только в течение примерно 1 дня.

²Эти факторы означают, что инфекции могут быстро распространяться до того, как случаи холеры будут подтверждены лабораторно, и даже тогда большинство инфекций и случаев легкой формы заболевания вряд ли будут задокументированы.

2.2. Устойчивость целевых штаммов *V. cholerae* в сточных водах и окружающей среде

V. cholerae умеренно устойчивы в сточных водах и могут регулярно обнаруживаться в неочищенных сточных водах и природных водах, загрязненных человеческими фекалиями. Как отмечалось выше, *V. cholerae* могут также обитать и размножаться в окружающей среде естественным образом, особенно в теплых солоноватых водах в тропических районах, и могут выживать в течение многих недель в пресных и морских водах даже в условиях, отличающихся от оптимальных условий их роста³.

Интерпретация результатов НСВОС является сложной задачей из-за множества биотипов, серогрупп и подтипов *V. cholerae*, которые могут присутствовать и обнаруживаться, с учетом варьирующегося содержания ключевых генов в штамме, связанном со вспышкой заболевания. Учитывая тот факт, что целевые гены могут присутствовать в разных клетках, для повышения потенциальной

полезности НСВОС в отношении *V. cholerae*, культивирование отдельных изолятов можно сопровождать составлением генетического профиля с помощью ПЦР, чтобы определить, присутствуют ли все ключевые гены в одном и том же изоляте.

Культивирование *V. cholerae* при НСВОС важно для определения того, несут ли отдельные изоляты гены, которые позволяют им быть патогенными. Но проблема с выделением и обнаружением *V. cholerae* в неочищенных сточных и природных водах заключается в том, что патоген может переходить в спящее «жизнеспособное, но некультивируемое» физиологическое состояние. В этом состоянии бактерии не поддаются извлечению с помощью обычных методов культивирования.

2.3. Опыт применения НСВОС в отношении *V. cholerae*

Потенциал использования НСВОС в отношении *V. cholerae* теоретически был продемонстрирован, но на сегодняшний день в значительной степени ограничивался исследовательскими проектами и в основном с целью мониторинга окружающей среды для оценки потенциальных рисков заражения при контакте с водой, а не с целью НСВОС⁴⁻⁸. Глобальная целевая группа по борьбе с холерой (GTFCC) кратко обсудила применение НСВОС в целях контроля заболеваний в сообществе, но не рекомендовала его рутинное использование на данном этапе¹. Были предложены возможные сферы интереса для исследований⁹.

3. Контроль распространения холеры

3.1. Общий контроль присутствия *V. cholerae* и меры реагирования

Несмотря на десятилетия исследований и растущее понимание течения заболевания, прогнозирование случаев, вспышек и оптимизация мер сдерживания остается сложной задачей. Контроль остается критически важным фактором для получения надежных и своевременных данных о циркуляции в популяции патогенных человеческих штаммов *V. cholerae*. Ключевые особенности *V. cholerae*, имеющие отношение к программам контроля, включают:

- В природных условиях патоген встречается в солоноватых водах тропических районов.
- Из-за фекально-орального пути передачи и вовлечения окружающей среды случаи заболевания могут возникать в любых районах, куда занесен патоген или где патоген является эндемичным, если отсутствуют надлежащие системы водоснабжения, санитарии и гигиены.
- В тропическом климате доля токсигенных серотипов, растущих в солоноватой среде, выше.
- Основным путем передачи является загрязненная вода и в меньшей степени продукты питания. Из-за высокой средней инфекционной дозы возбудителя прямая передача от человека к человеку и через фомиты встречается относительно редко.
- Имеются вакцины, прошедшие предварительную аттестацию ВОЗ. Обычно их используют не для всей популяции, а только в целевых группах, например, в группах повышенного риска, у рабочих, путешественников и среди населения в районах с высокой заболеваемостью. И в недавнем прошлом, и в настоящее время глобальные поставки вакцин крайне ограничены из-за их использования при вспышках (оперативная вакцинация), вследствие чего для кампаний по профилактической вакцинации остается мало вакцин.

3.2. Существующие системы контроля и источники данных

Группа GTFCC предоставляет глобальные нормативные справочные данные для существующей системы контроля (<https://www.gtfcc.org/resources/>), включая минимальные рекомендации по регулярному мониторингу и выявлению вспышек, а также предлагает адаптивные стратегии контроля для применения основных функций на основе текущей локальной ситуации. Тем не менее многие страны сталкиваются с проблемами контроля готовности к вспышкам холеры, реагированием на них и их профилактикой, и хотя существуют быстрые тесты, их чувствительность ограничена².

Целью лабораторного тестирования для контроля в рамках общественного здравоохранения наличия *V. cholerae*, включая тестирование образцов кала от лиц с острой водянистой диареей с использованием быстрых диагностических тестов (RDT) на основе культивирования и количественной ПЦР, в соответствии с недавно разработанным целевым профилем продукта для молекулярного тестирования является:

- Подтверждение случаев холеры и информирование о необходимости межведомственного вмешательства для контроля распространения.

- Понимание путей передачи и бремени болезни для информирования о профилактическом использовании оральной холерной вакцины (ОХВ).
- Оценка эффективности вмешательств, таких как вакцинация и программы ВССГ, как в районах, где распространение бактерии сохраняет эндемичный характер, так и во время вспышек.
- Определение генов устойчивости к противомикробным препаратам (AR), переносимых присутствующими бактериями *V. cholerae*.
- Определение генов холерного токсина и типов последовательностей (ST) присутствующих патогенов для определения их значения для общественного здравоохранения, включая эпидемический потенциал, происхождение и связанные с ними пути передачи.
- Проведение ПЦР для выявления *V. cholerae* с эпидемическим потенциалом, если тест включает генные мишени для специфических серогрупп (например, антигены O1 и/или O139) и гены холерного токсина (например, *ctxA*).
- Выявление бактерий в странах, где они не являются эндемичными, чтобы обеспечить быстрое реагирование для их ограничения.
- Выявление случаев завоза инфекции лицами из эндемичных стран в страны, где она не является эндемичной.
- Группа GTFCC призывает в некоторых ситуациях проводить полное секвенирование генома для более глубокого изучения (например, при подтвержденных случаях неизвестного происхождения), чтобы получить более подробную информацию для окончательной идентификации эпидемического штамма *V. cholerae*. Анализируя данные о нуклеотидных последовательностях, можно выявить те же целевые гены (например, для антигена O1 или *ctxA*), но дополнительная генетическая информация позволяет определить эволюционные линии, эпидемические типы последовательностей, возникающую резистентность и дает представление о глобальных схемах передачи.

Существуют ограничения этого традиционного подхода к контролю по линии общественного здравоохранения:

- В ситуациях бессимптомного носительства или легких форм инфекции у этих больных не будет причин для посещения медучреждений и тестирования, и их можно будет выявить только с помощью исследований кала широкого охвата или серологических исследований, или другими нетрадиционными методами. Например, в интенсивном серологическом обследовании во время вспышки холеры на Гаити в 2011 году был выявлен примерно в три раза более высокий уровень заболеваемости, чем определенный клинически¹⁰.
- На ранней стадии вспышки соответствующие тесты на основе культивирования могут не назначаться или реагенты для них могут быть недоступны, что препятствует лабораторному подтверждению случаев. Аналогичным образом существуют ограничения на поставку тестов RDT за пределы альянса Gavi, а тесты ПЦР пока не получили широкого распространения.
- После заражения может пройти некоторое время, чтобы обнаружить симптомы, собрать пробы кала и подтвердить наличие *V. cholerae*; это приводит к временному промежутку между заражением и необходимыми действиями, в течение этого промежутка инфицированный человек может заразить других.
- Существуют проблемы с цепочкой поставок питательных сред для транспортировки проб кала, которые могут ограничить возможность эффективной передачи проб в лаборатории.

- Чувствительность методов, основанных на культивировании, может быть снижена при использовании пациентами антибиотиков до отбора проб кала.
- Даже при использовании тестов RDT время, необходимое для подтверждения диагноза в нескольких предполагаемых случаях и выявления вероятной вспышки, может стать причиной задержки между заражением и соответствующими действиями, особенно учитывая умеренную чувствительность RDT и отсутствие оперативных рекомендаций по их быстрому развертыванию при возникновении предполагаемых случаев.
- Некоторые страны обеспокоены возможным ущербом для репутации, связанным с сообщением о случаях и вспышках холеры, и поэтому предпочитают сообщать не о холере, а об «острой водянистой диарее».

4. Задачи НСВОС и соответствующие действия в области общественного здравоохранения

Обратите внимание, что НСВОС всегда рассматривается как компонент локального мультимодального контроля, который должен быть интегрирован и дополнен другими доступными данными для получения достоверной оперативной информации (а не выполняться отдельно). Чтобы рассматривать вопрос внедрения НСВОС, в местном контексте он должен обладать потенциалом для предоставления дополнительной ценной информации.

4.1. Рутинное использование НСВОС в отношении *V. cholerae*

В местах с ограниченными возможностями для контроля (включая ограниченную доступность тестов RDT) существует теоретический вариант рутинного использования НСВОС в отношении *V. cholerae*. Рутинное использование НСВОС проводят для раннего предупреждения вспышек путем выявления в сообществе лиц с бессимптомным носительством или легкой формой инфекции, которые не обращаются в медицинские учреждения или обращаются в медицинские учреждения, но не диагностируются из-за пробелов в контроле, нетипичных симптомов или по другим причинам.

Рутинное использование WES

включает последовательный отбор проб в одних и тех же местах с использованием последовательных методов.

Теоретически НСВОС можно также использовать для получения доказательств продолжающейся передачи инфекции между вспышками, что может послужить основой для профилактического вмешательства по линии ВССГ и вакцинации.

В странах, где нет активных вспышек холеры, или там, где не выявляли подобные случаи в течение ≥ 3 лет, обнаружение в результате НСВОС токсигенных *V. cholerae* с резким отличием от фоновых базовых концентраций, может послужить причиной дальнейшего расследования и вмешательства по линии общественного здравоохранения.

В соответствии с методами, используемыми для последующего обнаружения бактерий в пробах стула, применение ПЦР и, при необходимости, секвенирование генов изолятов *V. cholerae*, выращенных из посевов сточных вод, позволяет охарактеризовать циркулирующие серотипы и штаммы и провести филогенетический анализ для получения информации о пространственно-временной передаче и, следовательно, о стратегиях контроля.

4.2. Гибкий режим НСВОС в отношении *V. cholerae*

В местах с ограниченными возможностями контроля и рутинным тестированием НСВОС существует теоретический вариант использования НСВОС во время вспышек для получения информации о необходимости указанных выше ответных мер.

Гибкий режим WES означает ограниченный по времени контроль с определенным триггером для начала и отличается от рутинного контроля. Гибкий режим WES подразумевает проведение новых ограниченных по времени мероприятий или внесение целенаправленных изменений в существующую программу WES, например, более частый отбор проб или в разных местах, сокращение времени обработки результатов и/или выполнение новых или других анализов.

4.3. Возможные действия по линии общественного здравоохранения, возникающие в результате добавления НСВОС в отношении *V. cholerae*

Действия по линии общественного здравоохранения в ответ на вспышки холеры включают:

- Реагирование на обнаружение токсигенного *V. cholerae* может включать содействие первичной и повторной вакцинации, создание центров лечения холеры (СТС) или пунктов оральной регидратации (ОРП), усиленный контроль симптомов и поощрение надлежащей практики по линии ВССГ, включая такие базовые действия, как хлорирование водоснабжения.
- Результаты НСВОС потенциально могут быть использованы для информирования о необходимости вакцинации, вмешательства и образовательных мер.

Полезность НСВОС в отношении *V. cholerae* теоретически может различаться в зависимости от распространенности патогена в рассматриваемом сообществе; однако на сегодняшний день нет задокументированных случаев применения НСВОС в отношении холеры в общественном здравоохранении.

Для стран, в которых холера не регистрировалась в течение ≥ 3 лет и в которых имеется всеобщий доступ к базовым услугам ВССГ, постоянный НСВОС в отношении *V. cholerae* нельзя считать обоснованным при наличии уже существующего достаточного контроля (включая доступ к тестам RDT и их использование).

В зависимости от того, была ли вспышка подтверждена подразделением контроля, проведение НСВОС может быть теоретически полезно в будущем в условиях высокого бремени болезни или при ее активных вспышках, а также при недостаточном обычном контроле по линии общественного здравоохранения в отношении *V. cholerae*. Это включает в себя гибкий потенциал по развертыванию тестирования кала у всего населения или у подмножества лиц с симптомами, или адаптивное тестирование кала. Если НСВОС может предоставить дополнительные данные в масштабе сообщества для заполнения пробелов в данных обычного контроля общественного здравоохранения или может быть использован в регионах, где вспышка еще не подтверждена, для оценки ее перемещения, то это может дать дополнительную ценную информацию в качестве временной меры на пути к улучшению контроля. Кроме того, НСВОС может стать полезным инструментом для понимания пространственного распределения инфекции и отслеживания тенденций с течением времени⁶.

Эти фактические данные могут помочь в определении и оценке вмешательств, таких как инициативы по линии ВССГ и вакцинация, при определении распространенности болезни среди населения, а также при наличии перемещенного населения или населения в неблагоприятных условиях ВССГ, вызванных стихийными бедствиями или конфликтом.

5. Дополнительные методологические соображения по НСВОС в отношении *V. cholerae*

Этот раздел следует читать вместе с общими методологическими соображениями в разделе 5 *Контроль сточных вод и окружающей среды в отношении одного или нескольких патогенов: Руководство по определению приоритетов, внедрению и интеграции* (доступно [здесь](#)). Не существует глобального нормативного документа по НСВОС в отношении патогенных *V. cholerae*, как нет и установленного процесса или руководства. Было приведено краткое обсуждение¹, и были опубликованы примеры успешного применения НСВОС в научных и исследовательских целях⁴⁻⁸. В настоящее время стандартный протокол для обнаружения *V. cholerae* в рамках НСВОС, предоставленный ЦКЗ или ВОЗ, отсутствует.

5.1. Методы отбора проб

Какие-либо особые соображения по отбору проб, кроме тех, которые используют для обычного отбора микробиологических проб в рамках мониторинга окружающей среды и НСВОС, отсутствуют. Однако *V. cholerae* необходимо хранить и транспортировать при температуре окружающей среды, поскольку при охлаждении до температуры в холодильнике (например, 4°C) способность микроорганизмов к культивированию снижается. Кроме того, как и для большинства проб, во время транспортировки желательно не замораживать образцы, особенно если предполагается выделять микроорганизмы путем культивирования. В ходе НСВОС успешно использовались различные методы отбора проб, такие как обычные выборочные пробы жидкости, смешанные пробы и пассивный сбор/ловушки (например, тампоны Мура), а также ультрафильтрация; кроме того, есть возможность тестирования на наличие *специфического фага V. cholerae* в рамках отслеживания источника микроорганизмов^{7,8,11-13}. Однако стандартного или предпочтительного метода не существует.

5.2. Лабораторные методы

Для точного обнаружения и изучения характеристик патогенных *V. cholerae* в матрицах проб при проведении НСВОС необходимы соответствующие лабораторные методы. Тесты НСВОС на *V. cholerae*, как и при клинических анализах, могут включать тесты на основе культивирования. Предположительная идентификация *V. cholerae* требует культивирования с использованием *вибрио*-специфического селективного агара с последующими тестами сероагглютинации изолированной колонии с O1- и/или O139-специфическими антисыворотками. Такого подхода достаточно для идентификации холеры в пробе человека при наличии симптомов холеры и с учетом эпидемиологической информации. Этот метод вполне осуществим, поскольку у человека обычно отсутствует коинфекция несколькими видами *Vibrio* (т. е. нужно тестировать только одну изолированную колонию). В качестве альтернативы или дополнения к методам на основе культивирования для подтверждения наличия *V. cholerae* в клинических пробах можно использовать ПЦР. Это может предоставить дополнительную информацию об эпидемическом потенциале патогена, если в анализ включен целевой ген токсина холеры (например, *rfbO* и *ctxA*

соответственно). Для окончательного определения связи изолята/чистой культуры с седьмой пандемией холеры необходимо выполнить секвенирование.

Образцы НСВОС, вероятно, будут содержать смешанные популяции видов *Vibrio*. Из-за этого применение клинических подходов на основе золотого стандарта культивирования проб в рамках НСВОС представляет технические и практические проблемы:

- Анализ путем культивирования с последующим биохимическим и серологическим тестированием сам по себе не обладает специфичностью. Например, по результатам культивирования невозможно отличить нетоксикогенный штамм *V. cholerae* O1 от токсикогенного *V. cholerae* O1.
- Питательная среда, селективная по *Vibrio*, позволяет вырастить идентичные колонии нескольких видов *Vibrio*. Для подтверждения наличия токсикогенного *V. cholerae* потребуется провести ПЦР-тестирование потенциально большого количества предполагаемых колоний. Такой подход, наряду с секвенированием изолятов, обеспечит наиболее определенное подтверждение токсикогенности *V. cholerae*, хотя он может быть затратным и сложным с точки зрения логистики.

Некоторые методы экстракции и концентрирования успешно использовались для культивирования и/или молекулярного тестирования проб из окружающей среды^{7,8,11-13}. Однако, как и для отбора проб, не существует опубликованного стандарта или предпочтительного метода, который стал бы золотым стандартом тестирования *V. cholerae* в пробах НСВОС. Примечательно, что на сегодняшний день большинство исследований проводили с использованием культивирования, за которым следовали молекулярные методы.

Независимый от культивирования молекулярный подход (т. е. проведение ПЦР или секвенирования ампликонов на необработанных или концентрированных пробах сточных вод) позволил бы обойти проблемы с обнаружением *V. cholerae*, которые переходят в окружающей среде в жизнеспособное, но некультивируемое состояние, и исключил бы необходимость в большом количестве испытуемых изолятов. Однако независимые от культивирования подходы не могут подтвердить токсикогенность *V. cholerae*, поскольку для одной колонии/чистой культуры требуются множественные целевые гены, и эти целевые гены могут существовать независимо в разных видах *Vibrio*, присутствующих в одной пробе НСВОС. Вышеуказанные проблемы будут усугубляться в пробах НСВОС в значительной зависимости от окружающей среды, поскольку в окружающей среде часто присутствуют другие виды *Vibrio*, включая нетоксикогенные линии *V. cholerae* O1 и нехолерные виды *Vibrio*, содержащие ген токсина.

Для повышения эффективности прямой ПЦР необходимо установить рутинный «базовый» или «фоновый» уровень целевых значений ПЦР в периоды без вспышек для каждого места наблюдения и определить, наблюдается ли заметное увеличение результатов прямой ПЦР во время вспышки и коррелирует ли это с ростом клинических случаев. Поэтому на данном этапе предпочтительным является подтверждение совпадения множественных генов и нуклеотидной последовательности изолята у токсикогенных *V. cholerae* и штаммов холеры, вызывающих эпидемическое беспокойство. Однако в тех регионах, где токсикогенные и вирулентные гены обычно не обнаруживаются, выявление таких генов может представлять интерес для общественного здравоохранения и инициировать последующее расследование. В некоторых

условиях может быть полезным тестирование на наличие целевых последовательностей, выходящих за рамки используемых для клинического обнаружения (например, гены острова патогенности).

5.3. Отчетность и коммуникации

Данные НСВОС наиболее полезны при использовании с другими данными.

Результаты НСВОС для патогенных *V. cholerae* легче интерпретировать в условиях эффективной системы санитарии, когда в сточные воды попадают только или в основном человеческие фекалии (например, канализационные системы сточных вод), и труднее интерпретировать их содержание в природных водах, поскольку там могут содержаться высокие уровни генетически схожих видов вибрионов.

5.4. Приемлемость НСВОС в отношении *V. cholerae*

В рамках объединенной популяционной выборки анализы отдельных лиц в ходе НСВОС не идентифицируются. По-видимому, проведение НСВОС на уровне популяции не вызывает никаких особых проблем в плане приемлемости или этических проблем, возникающих в отношении *V. cholerae* или других желудочно-кишечных патогенов. Однако эмоциональный и тревожный характер вспышек холеры может привести к страху, стигматизации и экономическим последствиям для регионов, где результаты тестов на *V. cholerae* окажутся положительными. Учитывая эти щепетильные вопросы, связанные с сообщением о случаях холеры в некоторых местах, интеграция НСВОС и клинических данных по холере потребует тесного, надежного партнерства между НСВОС и органами, получающими клинические данные. Межведомственные этические вопросы обсуждаются в обзорном документе НСВОС.

6. Соображения по комплексному контролю и многоцелевому НСВОС

6.1. Интеграция НСВОС в отношении *V. cholerae* в существующие системы контроля и реагирования для *V. cholerae*

- Имеющийся опыт работы по интеграции НСВОС в отношении *V. cholerae* в системы интегрированного контроля ограничен, и это остается задачей для будущих исследований.
- Улучшение интеграции управления данными, их обменом и биоинформатики может обеспечить своевременный доступ и простоту интерпретации результатов НСВОС с другой информацией для соответствующих действий по линии общественного здравоохранения.

6.2. Интеграция результатов многоцелевого контроля НСВОС вместе с данными по *V. cholerae*

- Имеющийся практический опыт интеграции результатов НСВОС в отношении *V. cholerae* в данные многоцелевого контроля НСВОС ограничен, и это остается задачей для будущих исследований.
- Вероятные приоритетные географические области для НСВОС в отношении *V. cholerae* перекрываются с областями НСВОС в отношении полиовируса. Кроме того, заболеваемость обоими патогенами можно профилировать с помощью вакцинации (хотя иммунитет в отношении холеры сравнительно недолговечен (3–5 лет после двух доз) по сравнению с вакцинацией от полиомиелита), и инфицирование ими тесно связано с пробелами в охвате услугами ВССГ. Поэтому данные по обоим патогенам для программ НСВОС можно использовать и интегрировать. Однако частота отбора проб в рамках НСВОС для раннего предупреждения вспышек холеры будет как минимум еженедельной из-за быстрого распространения заболевания в районах, где установлено наличие местной циркуляции.
- Для НСВОС в отношении *V. cholerae* можно использовать пробы, полученные как случайным забором жидкостей, так и пассивными ловушками, и, таким образом, рабочие процессы НСВОС в отношении *V. cholerae* должны быть до определенной степени интегрированы с НСВОС в отношении других патогенов.
- Необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять, какие еще патогены могут концентрироваться вместе с *V. cholerae*, и как анализы для обнаружения/секвенирования *V. cholerae* из проб НСВОС можно объединить с анализами на другие патогены.

7. Основные пробелы в знаниях и приоритеты прикладных исследований

Существует несколько приоритетных направлений прикладных исследований для продвижения эффективного применения НСВОС в отношении холеры. Основные пробелы в знаниях и рекомендуемые направления прикладных исследований включают:

- Осуществимость и применение в общественном здравоохранении в недостаточно изученных контекстах, таких как страны с низким уровнем дохода и районы без канализационных сетей, например, широкий спектр районов без канализационных сетей с низким и средним уровнем дохода, в которых отбор проб на уровне населения является сложной задачей.
- Стратегии разработки НСВОС с анализами, нацеленными на обнаружение токсикогенных серотипов *V. cholerae* O1 (и O139), которые позволят устранить влияние *V. cholerae* и других вибрионов, не выделяемых инфицированными людьми, но присутствующих в окружающей среде или размножающихся в условиях окружающей среды после выделения. Это позволило бы избежать проблем в соотнесении результатов НСВОС с наличием инфекции в популяции. Качественные исследования по подтверждению концепции ценности НСВОС для общественного здравоохранения в отношении раннего предупреждения холеры должны учитывать этот вопрос.
- Повышенная ценность прямых молекулярных анализов по сравнению с полезностью первичного культивирования *V. cholerae*, как в отношении чувствительности, так и с учетом того, что факторы вирулентности могут быть распределены между отдельными бактериальными популяциями, а не внутри какой-либо одной клетки.
- В зависимости от текущего контекста повышение ценности рутинного и гибкого режима НСВОС относительно текущих приоритетов контроля холеры с учетом ее распространения в окружающей среде.
- Требования к ресурсам для инициирования и поддержания рутинного и гибкого режима НСВОС в отношении *V. cholerae*.
- Сочетание с другими целями, особенно если основанные на культивировании методы требуются в первую очередь для *V. cholerae*, но не для других целевых микроорганизмов.

Список литературы

Общая информация:

Общая информация о холере взята из руководства ЦКЗ и ВОЗ в открытых источниках информации, к которому следует обратиться для получения самой последней утвержденной сводки фактических данных:

- ВОЗ. Холера. ВОЗ — Основные факты. 2024 г. Дата обращения: 3 декабря 2024 г. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cholera>
- CDC - Centers for Disease Control & Prevention. About Cholera. 2024. Дата обращения: 3 декабря 2024 г. <https://www.cdc.gov/cholera/about/index.html>

Ссылки на используемую литературу:

1. GTFCC. Environmental Surveillance for Cholera Control, Technical Note. Опубликовано онлайн в 2022 г.
2. Nelson EJ, Grembi JA, Chao DL, et al. Gold Standard Cholera Diagnostics Are Tarnished by Lytic Bacteriophage and Antibiotics. Carroll KC, ed. *J Clin Microbiol*. 2020;58(9):e00412-20. doi:10.1128/JCM.00412-20
3. Almagro-Moreno S, Taylor RK. Cholera: Environmental Reservoirs and Impact on Disease Transmission. Atlas RM, ed. *Microbiol Spectr*. 2013;1(2):1.2.06. doi:10.1128/microbiolspec.OH-0003-2012
4. Hill VR, Humphrys MS, Kahler AM, et al. Environmental Surveillance for Toxigenic *Vibrio cholerae* in Surface Waters of Haiti. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2015;92(1):118-125. doi:10.4269/ajtmh.13-0601
5. Bwire G, Debes AK, Orach CG, et al. Environmental Surveillance of *Vibrio cholerae* O1/O139 in the Five African Great Lakes and Other Major Surface Water Sources in Uganda. *Front Microbiol*. 2018;9:1560. doi:10.3389/fmicb.2018.01560
6. Zohra T, Ikram A, Salman M, et al. Wastewater based environmental surveillance of toxigenic *Vibrio cholerae* in Pakistan. Aslam MS, ed. *PLoS ONE*. 2021;16(9):e0257414. doi:10.1371/journal.pone.0257414
7. Vezzulli L, Oliveri C, Borello A, et al. Aquatic reservoir of *Vibrio cholerae* in an African Great Lake assessed by large scale plankton sampling and ultrasensitive molecular methods. *ISME Communications*. 2021;1(1):20. doi:10.1038/s43705-021-00023-1
8. Mavian CN, Tagliamonte MS, Alam MT, et al. Ancestral Origin and Dissemination Dynamics of Reemerging Toxigenic *Vibrio cholerae*, Haiti. *Emerg Infect Dis*. 2023;29(10). doi:10.3201/eid2910.230554

9. Shaw AG, Troman C, Akello JO, et al. Defining a research agenda for environmental wastewater surveillance of pathogens. *Nat Med.* 2023;29(9):2155-2157. doi:10.1038/s41591-023-02457-7
10. Finger F, Lemaitre J, Juin S, et al. Inferring the proportion of undetected cholera infections from serological and clinical surveillance in an immunologically naive population. Published online November 1, 2023. doi:10.1101/2023.11.01.23297461
11. Hill VR, Humphrys MS, Kahler AM, et al. Environmental Surveillance for Toxigenic *Vibrio cholerae* in Surface Waters of Haiti. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2015;92(1):118-125. doi:10.4269/ajtmh.13-0601
12. Bwire G, Debes AK, Orach CG, et al. Environmental Surveillance of *Vibrio cholerae* O1/O139 in the Five African Great Lakes and Other Major Surface Water Sources in Uganda. *Front Microbiol.* 2018;9:1560. doi:10.3389/fmicb.2018.01560
13. Zohra T, Ikram A, Salman M, et al. Wastewater based environmental surveillance of toxigenic *Vibrio cholerae* in Pakistan. Aslam MS, ed. *PLoS ONE.* 2021;16(9):e0257414. doi:10.1371/journal.pone.0257414