

Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2017

Surveillance of polioviruses and other viruses in sewage in the Czech Republic in 2017

Petra Rainetová

Souhrn • Summary

NRL pro enteroviry v rámci environmentální surveillancce vyšetřuje odpadní vody z čistíček devíti měst a pěti uprchlických táborů v České republice. V roce 2017 bylo vyšetřeno 173 vzorků odpadních vod, v 39 vzorcích byly nalezeny non-polio enteroviry (NPEV).

Within environmental surveillance, the National Reference Laboratory for Enteroviruses screens wastewater from sewage treatment plants in nine cities and five refugee camps in the Czech Republic. In 2017, 173 sewage samples were analyzed, and in 39 of them, non-polio-enteroviruses (NPEV) were detected.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2018; 27(3-4): 90–92

Klíčová slova: odpadní vody, polioviry, enteroviry
Keywords: sewage, polioviruses, enteroviruses

Národní referenční laboratoř pro enteroviry (NRL/ENT) v SZÚ je součástí sítě laboratoří Světové zdravotnické organizace (WHO) vyšetřujících poliomyelitis „Global Polio Laboratory Network“ (GPLN), která byla WHO založena v roce 1990. GPLN zajišťuje surveillancce akutních chabých paréz u dětí do 15 let věku a rovněž provádí environmentální surveillancce.

NRL/ENT v rámci environmentální surveillancce vyšetřuje odpadní vody z čistíček lokalit vybraných Ministerstvem zdravotnictví. V 9 městech Čech a Moravy (Praha, Rakovník, Plzeň, České Budějovice, Ústí nad Labem, Hradec Králové, Brno, Ostrava, Karlovy Vary) se odpadní vody odebírají z hlavní městské kanalizace před čističkou a v 5 utečeneckých táborech (Zastávka u Brna, Jezová, Kostelec nad Orlicí, Vyšné Lhoty, Balková) z odvodu odpadních vod před vyústěním do další kanalizace.

Hlavní hygienik v roce 2004 v dopise (HEM-370-30.9.04/18483) určil metodiku a frekvenci odběru odpadních vod. Vzorky odpadních vod se odebírají 1x měsíčně. Z jednoho místa proudící odpadní vody se nabere 5 vzorků zhruba 30 cm pod hladinou, které se vlijí do vymyté plastové nesterilní láhve do objemu 1 litr. Poté příslušný Zdravotní ústav nebo Krajská hygienická stanice dopraví nádobu se vzorky při chladničkové teplotě (0–8 °C) do NRL/ENT.

WHO určila postup zpracování odpadních vod, který je popsán v „Manual for the virological investigation of poliomyelitis“. Vzorky se zpracovávají metodou dvojfázové koncentrační separace.

Po zpracování se vzorky inokulují na tkáňové kultury, které jsou doporučeny od WHO - RD (buněčná linie získaná z lidského rhabdomyosarkomu) a L20B (buněčná linie myších geneticky upravených buněk s lidskými receptory pro polioviry). Enteroviry tvoří v tkáňové kultuře (TK) charakteristický cytopatický efekt (CPE), který se projevuje degenerativními změnami buněk (zakulacováním, shlukováním, odpadáváním).

Inokulované a kontrolní kultury RD a L20B se denně pozorují a pokud se vyskytne CPE, tak je označován od 1+ do 4+ (1+ reprezentuje 25% degenerovaných buněk, 2+ : 25–50%, 3+ : 50–75%, 4+ : 75–100%). Jestliže se do 5 dní neobjeví CPE, provede se další pasáž na těch samých tkáňových kulturách. Pokud po dalších 5 dnech ani v jedné tkáňové kultuře nepozorujeme CPE, uzavře se výsledek jako negativní. Pokud se do 5 dní vyskytne CPE roven nebo větší než 3+ na jedné ze tkáňových kultur, následuje 2. pasáž na opačné tkáňové kultuře. To samé – očkování na opačnou tkáňovou kulturu, se provádí i pokud se CPE objeví až ve 2. pasáži (1. pasáž byla negativní).

L20B kultury s CPE se dále pasážují v RD tkáňových kulturách. Pokud se projeví i na RD charakteristický cytopatický efekt (3+ a více) do 5 dní, vzorek musí být zaslán do Regionální referenční laboratoře (RRL) v Helsinkách na intratypickou diferenciaci (ITD). Jen velmi malý počet vzorků pozitivních na L20B je negativních na RD. V tomto případě se může jednat o reoviry, adenoviry nebo jiné non-enteroviry, které také rostou na myších buňkách, hlášení na polioviry je ale negativní a pasáže už dále nepokračují.

RD kultury s CPE se pasážují na L20B. Tyto pasáže jsou zacíleny na oddělení poliovirů od jiných enterovirů, se kterými mohou být ve směsi a zesílení titrů obsažených poliovirů. Pokud se do 5 dnů neobjeví cytopatický efekt, jedná se o non-polio-enterovirus (NPEV) a to se uvede do hlášení. Pokud se CPE objeví, provede se další pasáž na RD. Všechny RD pozitivní kultury se zašlou do RRL na ITD. Menšina vzorků, které nemají CPE na RD, se hlásí jako negativní (jedná se zřejmě o reoviry nebo adenoviry nebo jiné non-enteroviry).

V NRL/ENT se dále pomocí RT-PCR s elektroforézou potvrdí pozitivita vzorků. Typ polioviru se zjistí intratypickou diferenciací. U všech pozitivních vzorků je snaha o sekvenaci.

Izolované polioviry je nutno odeslat ideálně do 7 dnů od detekce k intratypové diferenciaci do RRL Helsinky. WHO zpětně informuje o detekci jak non polio Sabin like viru (nevakcinálního viru), vakcinálního viru, tak o neprů-

Tabulka 1a: PŘEHLED VYŠETŘENÍ VZORKŮ ODPADNÍCH VOD V NRL/ENT V ROCE 2014–2017

Odběrové místo	Odběry 2014	Odběry 2015	Odběry 2016	Odběry 2017
PRAHA TRÓJA	24 odběrů 1-POZ.: ECHO 11/13/ ENT-86,/COX B5 23- NEG.	24 odběrů 1-POZ.: ECH 11 23-NEG.	24 odběrů 24 – NEG.	22 odběrů 1-POZ.: COX B5 21 -NEG.
RAKOVNÍK	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11-NEG.	12 odběrů 5-POZ.: 1 ECHO 6, 1-rhinovirus A54, 3- NPEV 7 – NEG.
PLZEŇ JATEČNÍ	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: ECHO 7	11 odběrů 3-POZ.: NPEV 8– NEG.	11 odběrů 5-POZ.: 1-ECHO 14, 1- enterovirus sk. B, 1-enterovirus sk. C, 1-COX B5, ECHO 6,14, 1- ECHO25/6 6 NEG.
ÚSTÍ NAD LABEM	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 12 NEG.	11 odběrů 12 NEG.	11 odběrů 1-POZ.- enterovirus sk.C 10 NEG.
HRADEC KRÁLOVÉ	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 2-POZ.: 1-ECHO 14, 1- NPEV 10 NEG.
KOSTELEČ N. ORLICÍ	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 4-POZ.: 2-COX B5, 1-enterovirus sk. C, 1-enterovirus sk. B 8 NEG.
JEZOVÁ	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.	12 odběrů 4-POZ.: 1- ECHO 14, 1-enterovirus sk. B, 1-COX A10/ECHO 6/ 14,1-NPEV 8 NEG.
BRNO ZASTÁVKA	11 odběrů 11 NEG.	14 odběrů 1-POZ.: NPEV 13 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.	12 odběrů 5-POZ.: 1-COX B 5, 4-NPEV 7 NEG.
BRNO MODŘICE	11 odběrů 11 NEG.	13 odběrů 1-POZ.: NPEV 12 NEG.	12 odběrů 12 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.
VYŠNÉ LHOTY	Bez odběrů	Od 13.12.2015 3 odběry. 3 NEG.	13 odběrů 1-POZ.: ECHO 30 12 NEG.	11 odběrů 4-POZ.: 2-COX B5, 2-NPEV 7 NEG.
PLZEŇ BALKOVÁ	Bez odběrů	Bez odběrů	Bez odběrů	12 odběrů 4-POZ.: 1-COX A10/ ECHO 6/ 9/11,1- COX B5,2 -NPEV 8 NEG.
LOUNY-DRAHOVICE	Bez odběrů	Od 3.11.2015 4 odběry 4 NEG.	22 odběrů 22 NEG.	Bez odběrů
KARLOVY VARY	Bez odběrů	Od 17.6.2015 6 odběrů 6 NEG.	13 odběrů 13 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: rhinovirus A 11 NEG.
ČESKÉ BUDĚJOVICE	12 odběrů 1-POZ.: NPEV 11 NEG.	12 odběrů	13 odběrů 1-POZ.: NPEV 12 NEG.	12 odběrů 1-POZ.: COX A 10/ECHO 6 11 NEG.

Legenda: NPEV non-polio-enterovirus; NEG negativní; POZ pozitivní; COX coxsackievirus; ECHO ECHO virus.

kazných výsledcích testů intratypové diference. V České republice o nález poliioviru a jeho zaslání do RRL musí být informována příslušná Krajská hygienická stanice, Zdravotní ústav, příslušný odbor na Ministerstvu zdravotnictví a Národní komise pro certifikaci polioeradikace.

V České republice bylo v roce 2017 vyšetřeno 173 vzorků odpadních vod z lokalit definovaných MZ. Z nich bylo

133 vzorků negativních. Ve 39 vzorcích byl zjištěn NPEV, ve 2 vzorcích rhinoviry. Většinu pozitivních vzorků se podařilo díky pomoci RNDr. M. Musílka osekvenovat.

V tabulce je uveden přehled odběrových míst, porovnání výsledků za poslední 4 roky a výsledky sekvenací.

*MUDr. Petra Rainetová
NRL pro enteroviry, CEM-SZÚ*