

# Odpadní vody

MUDr. Petra Rainetová

# Enteroviry - obecně

- **Enteroviry – čeleď Picornaviridae**

- název odvozen od schopnosti replikace v epiteliálních buňkách zažívacího traktu
- *dřívější klasifikace* (na základě virové struktury, typu citlivé tkáňové kultury, spektru vyvolaných onemocnění, klinických příznaků ) – coxsackieviry A, B, ECHO viry, polioviry, enteroviry 68-71
- *nynější klasifikace* ( na základě struktury genomu) –
  - skupiny A (EV 71, CV 16,CVA 2-8,CVA 10,12,16,EV89-92),
  - skupina B ( CVA 9, CVB1-6, většina ECHO virů, nové ent.)
  - skupina C ( **PV 1-3**, většina CVA, nové ent.)
  - skupina D (EV 68, 70, 94)

# Eradikace poliomyelitis

- 1990 – Světová zdravotnická organizace (**WHO**) založila síť akreditovaných polio laboratoří –

***Global Polio Laboratory Network (GPLN)***

**Hlavní cíl : spolupráce na eradikaci poliomyelitis (PV 2 – 2016)**

**Akreditace : izolace enterovirů a odlišení poliovirů od ostatních enterovirů z materiálů na tkáňových kulturách**

**Hlavní činnosti** – **surveillance akutních chabých paréz** (stolice)

- **surveillance environmentální** (odpadní vody)

- **surveillance enterovirové** (moky, stolice, výtěry z rekta, nosohltanu)

# Environmentální surveillace

- ČR – *1962* – 1. odběry odpadních vod
- *2004* – systematické určení odběrových míst hlavním hygienikem :
- Města : *Praha* Utečenecké tábory : *Jezová*
  - *Ostrava* *Červený Újezd (uzavřen)*
  - *Brno* *Tetčice (uzavřen)*
  - *Plzeň* *Vyšní Lhoty*
  - *Ústí nad Labem* *Zastávka u Brna*
  - *Hradec Králové* *Kostelec nad Orlicí*
  - *České Budějovice*
  - *Rakovník*
  - *2015* *Karlovy Vary*
  - *2017* *Balková*

# Metodika odběru

- 1) odběry zajišťují pracovníci ZÚ ve spolupráci s krajskými KHS 1x měsíčně
- 2) odběr se provádí z hlavní městské kanalizace před čističkou odpadních vod  
• měst a z odvodu odpadních vod utečeneckých táborů před vyústěním do další kanalizace
- 3) z jednoho místa proudící odpadní vody se odebere 5 vzorků vody zhruba 30 cm pod hladinou a vlijí se do vymyté plastové nesterilní láhve o objemu 1,5 l
- 4) plastová láhev se dopraví při chladničkové teplotě (0-8 C) do NRL pro ENT
- 5) NRL pro ENT nahlásí výsledky příslušné KHS nebo ZÚ do 3 týdnů

# Postup zpracování odpadních vod

- WHO – **Manual for the virological investigation of poliomyelitis**
- 1) příprava zásobních roztoků :
- A) **22% Dextran** : 40 g Dextranu + 142 ml destilované vody
- B) **29% Polyethylenglykol 6000** : 363 g PEGu 6000 + 888 ml destilované vody
- C) **5N roztok NaCl** : 29,2 g NaCl se rozpustí na magnetické míchačce v 80 ml destilované vody a po úplném rozpuštění se objem doplní na 100 ml
- D) **1N roztok NaOH** : 3,9 g NaOH se rozpustí v 80 ml destilované vody na magnetické míchačce a objem se doplní destilovanou vodou na 100 ml

# Postup zpracování odpadních vod

- 2) - celý objem odpadní vody **centrifugujeme 10 min při 1000 G**
- - supernatant přelijeme do Erlenmayerovy baňky
- - označený **sediment** uschováme **do lednice**
- 3) – změříme pH supernatantu (nutné neutrální pH 7-7,5)
- - v případě potřeby **neutralizujeme pomocí 1N NaOH**
- 4) – k **500 ml supernatantu** v Erlenmayerove baňce přidáme **39,5 ml**
- roztoku A, **287 ml** roztoku B, **35 ml** roztoku C
- 5) – směs **třepeme 1 hod** při pokojové teplotě na třepačce

# Postup zpracování odpadních vod

- 6) – supernatant přelijeme **do dělicí nádoby**
- – směs necháme dělit při 0 – 8 C **přes noc**
- 7) – do sterilní zkumavky po kapkách **odpustíme celou spodní fázi a interfázi** opatrným otevřením kohoutku (5-10 ml)
- 8) – do zkumavky přidáme ještě **sediment** z lednice
- 9) – takto získaný vzorek smícháme s **chloroformem** v poměru 1:5
- – třepeme 1 min na třepačce
- 10) – směs centrifugujeme 20 min při 1500 G
- 11) – zpracovaný vzorek odsajeme do sterilní zkumavky a přidáme ATB



# Algoritmus inokulace vzorku na tkáňové kultury - 2015

**RD** – buněčná linie získaná z lidského rhabdomyosarkomu

**L20B** – buněčná linie myších geneticky upravených buněk s lidskými receptory pro polioviry

**CPE** – cytopatický efekt

(u enterovirů typický –

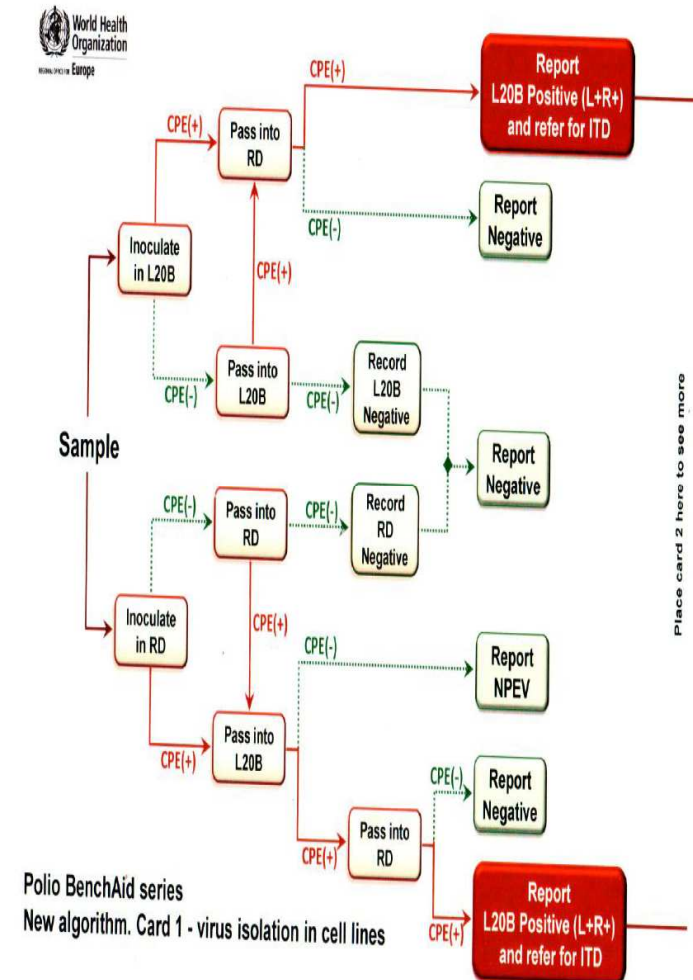
degenerativní změny buněk :

*zakulacování,*

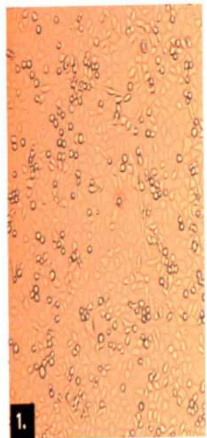
*shlukování,*

*odpadávání)*

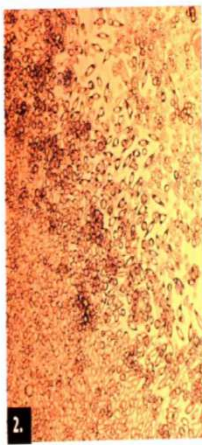
**ITD** – intratypická diference



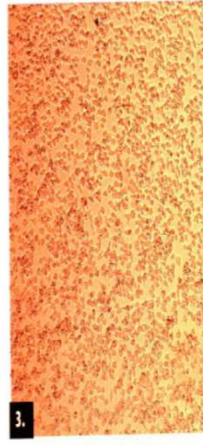
Characteristic appearance of uninoculated and inoculated cell cultures used for poliovirus isolation



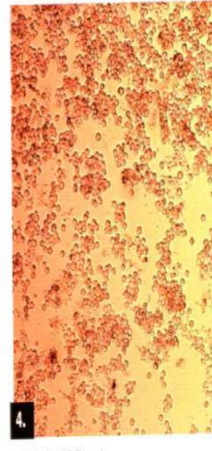
1. L20B: uninoculated



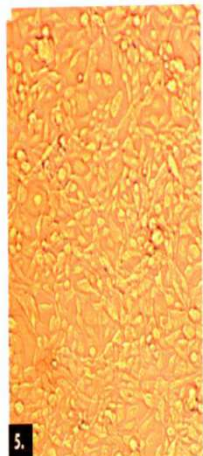
2. L20B: stool inoculation site's toxicity



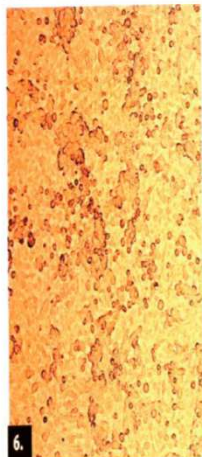
3. L20B: CPE = 2+



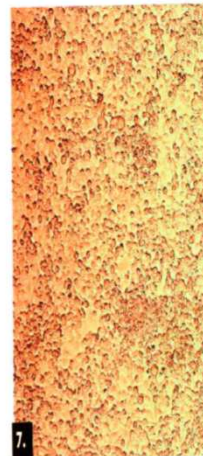
4. L20B: CPE = 4+



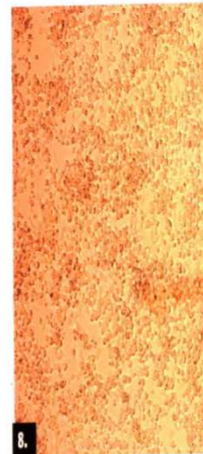
5. RD: uninoculated



6. RD: CPE = 2+



7. RD: CPE = 3+



8. RD: CPE = 4+

WHO/IVB/04.10 - Pullout

- Inokulované tkáňové kultury –  
*denní pozorování (max. 5 dní)*

*CPE = 1+ (25% degenerovaných bb)*

*CPE = 2+ (25-50% degenerovaných bb)*

*CPE = 3+ (50-75% degenerovaných bb)*

*CPE = 4+ (75-100% degenerovaných bb)*

# Pozitivní CPE

- V algoritmu : **L20B +/RD+** **PV**
- **RD+/L20B+/RD+** **PV**
- (RD+/L20B- **NPEV**)
- Konfirmace : **RT-PCR + ELFO, sekvenace , jednoduchá ITD (PV1,3)**
- Materiály s **PV** – zaslání do 7 dní do RRL Helsinky –3D ITD
- Zpětná informace z RRL do NRL o typu **PV** :

**Vakcinální PV - Sabin (OPV)**

**OPV-like virus (>99%<100% shoda s OPV)**

**VDPV – z vakcíny derivovaný PV (<99%>82% shoda s OPV)**

**Divoký PV (<82% shoda s OPV)**

NRL pro enteroviry – povinnost informovat **příslušnou Krajskou hygienickou stanici, Zdravotní ústav, odbor epidemiologie na MZ, Národní komisi pro certifikaci polioeradikace**

# Přehled výsledků odběrů odpadních vod – 2014-2017

- **PRAHA** 2014 – 24 odběrů *(1-poz.- ECHO 11/13/ENT 86/COX B5)*  
2015 – 24 odběrů *(1-poz.- ECHO 11)*  
2016 – 24 odběrů  
2017 – 24 odběrů *(1-poz.- COX B5)*
- **OSTRAVA** 2014 – 15 odběrů  
2015 – 13 odběrů  
2016 – 12 odběrů  
2017 – 11 odběrů *(3-poz.- NPEV, COX B5, ECHO 25)*
- **BRNO** 2014 – 11 odběrů  
2015 – 13 odběrů *(1-poz.- NPEV)*  
2016 – 12 odběrů  
2017 – 12 odběrů *(1-poz.- NPEV)*

# Přehled výsledků odběrů odpadních vod – 2014-2017

<b>PLZEŇ</b>	2014 – 12 odběrů
	2015 – 12 odběrů <i>(1-poz.- ECHO 7)</i>
	2016 – 11 odběrů <i>(3-poz.- NPEV)</i>
	2017 – 11 odběrů <i>(6-poz.- ECHO 14, ent. sk. B , ent.sk. C, COX B5, ECHO 6/14, ECHO 25/6)</i>
<b>ÚSTÍ</b>	2014 – 12 odběrů
<b>NAD</b>	2015 – 12 odběrů
<b>LABEM</b>	2016 – 12 odběrů
	2017 – 11 odběrů <i>(1-poz.- ent. sk. C)</i>
<b>HRADEC</b>	2014 – 12 odběrů
<b>KRÁLOVÉ</b>	2015 – 12 odběrů <i>(1-poz.- NPEV)</i>
	2016 – 12 odběrů
	2017 – 12 odběrů <i>(2-poz.- NPEV, ECHO 14)</i>

# Přehled výsledků odběrů odpadních vod – 2014-2017

**ČESKÉ** 2014 – 12 odběrů *(1-poz.- NPEV)*

**BUDĚJOVICE** 2015 – 12 odběrů

2016 – 13 odběrů *(1-poz.- NPEV)*

2017 – 11 odběrů *(1-poz.- COX A10/ECHO 6)*

**RAKOVNÍK** 2014 – 12 odběrů

2015 – 12 odběrů

2016 – 12 odběrů *(1-poz.- NPEV)*

2017 – 11 odběrů *(5-poz.- ECHO 6, rhinovirus A 54, 3x NPEV)*

**KARLOVY** 2014 – bez odběrů

**VARY** 2015 – 6 odběrů

2016 – 12 odběrů

2017 – 12 odběrů *(1-poz.- rhinovirus A)*

# Přehled výsledků odběrů odpadních vod – 2014-2017

<b>JEZOVÁ</b>	2014 – 12 odběrů <i>(1-poz.- NPEV)</i>
	2015 – 12 odběrů <i>(1-poz.- NPEV)</i>
	2016 – 12 odběrů <i>(1-poz.- NPEV)</i>
	2017 – 12 odběrů <i>(4-poz.- ECHO 14, COX A10/ECHO6/14, ent. sk. B, NPEV)</i>
<b>VYŠNÍ LHOTY</b>	2014 – bez odběrů
	2015 – 3 odběry
	2016 – 13 odběrů <i>(1-poz.- ECHO 30)</i>
	2017 – 11 odběrů <i>(4-poz.- 2x COX B5, 2x NPEV)</i>
<b>ZASTÁVKA U BRNA</b>	2014 – 11 odběrů
	2015 – 14 odběrů <i>(1-poz.- NPEV)</i>
	2016 – 12 odběrů <i>(1-poz.- NPEV)</i>
	2017 – 12 odběrů <i>(5-poz.- COX B5, 4x NPEV)</i>

# Přehled výsledků odběrů odpadních vod – 2014-2017

**KOSTELEČ**      2014 – 12 odběrů

**NAD**            2015 – 12 odběrů

**ORLICÍ**        2016 – 12 odběrů

2017 – 12 odběrů *(4-poz.- 2x COX B5, ent. sk.C, ent. sk.B )*

**BALKOVÁ**    2014 – bez odběrů

2015 – bez odběrů

2016 – bez odběrů

2017 – 12 odběrů *(4-poz.- COX B5, COX A10/ECHO 6/9/11 2x NPEV)*



# Celosvětový výskyt WPV 1, VDPV1,2,3 v odpadních vodách - 2018

**VDPV 1** : Madagaskar, Ukrajina, Mosambik, Myanmar, Indonésie, Čína, Filipíny, Haiti/Dominikánská republika

**VDPV 2** : Demokratická republika Kongo, Nigérie, Somálsko, Sýrie, Pakistán, Guinea, Myanmar, Jižní Sudán, Kamerun, Niger, Čad, Afganistán, Keňa, Čína, Indie, Etiopie, Madagaskar

**VDPV 3** : Somálsko, Etiopie

**WPV 1** : Afganistán, Pakistán

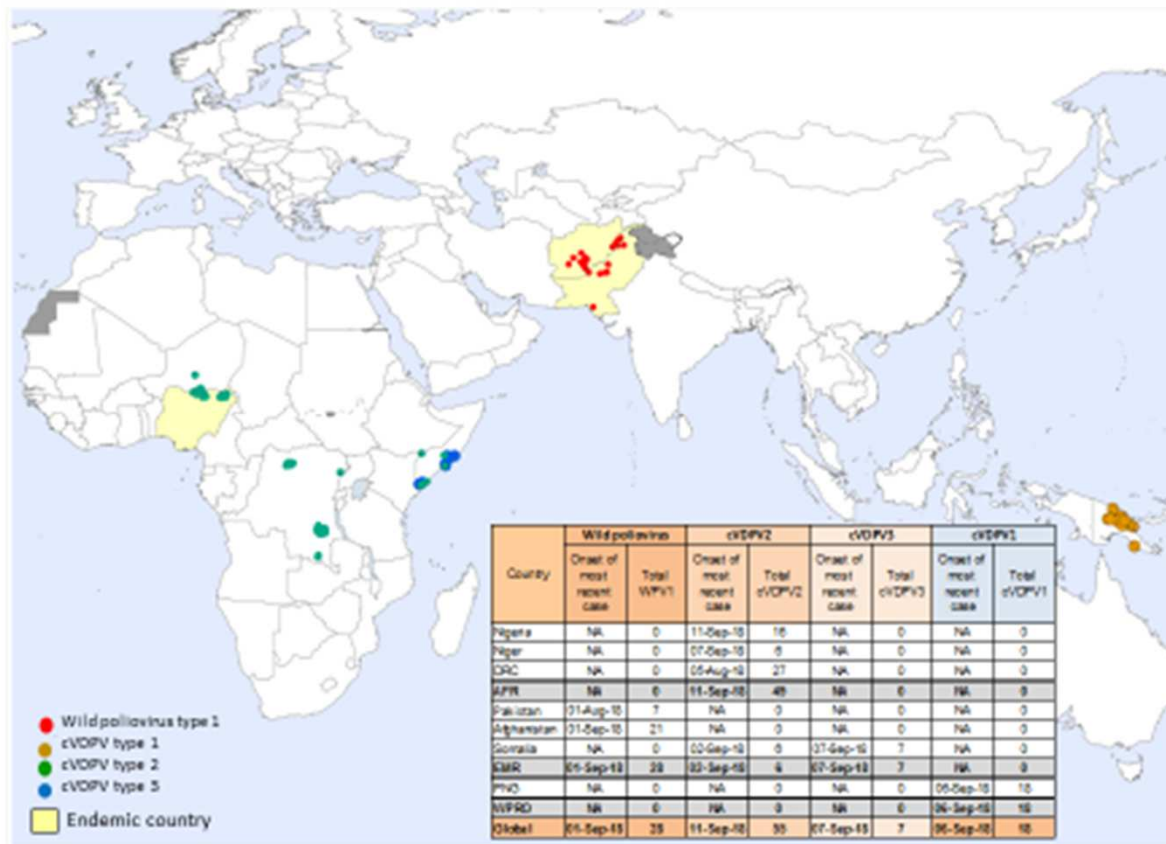
*( v ČR – **VDPV 1** (97,69 -98,57 % shoda s OPV) – 2006 –Rakovník, Ústí n.L., Brno-Zastávka, České Budějovice, Jezová, Ostrava )*

# Celosvětová situace s poliomyelitis – Případy onemocnění -WPV 1, VDPV 1,2,3 (posledních 6 měsíců)

Country	Onset of most recent WPV1 case	Number of WPV1 cases		Number of WPV infected districts		cVDPV2 current 6 months	cVDPV3 current 6 months	cVDPV1 current 6 months
		Current <sup>2</sup>	Same period last year <sup>3</sup>	Current <sup>2</sup>	Same period last year <sup>3</sup>	Number of cases	Number of cases	Number of cases
Nigeria	NA	0	0	0	0	15	0	0
Niger	NA	0	0	0	0	6	0	0
DRC	NA	0	0	0	0	11	0	0
<b>AFR</b>	<b>NA</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>32</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Pakistan	01-Aug-18	2	3	2	3	0	0	0
Afghanistan	01-Sep-18	9	3	8	3	0	0	0
Somalia	NA	0	0	0	0	6	7	0
<b>EMRO</b>	<b>01-Sep-18</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>0</b>
PNG	NA	0	0	0	0	0	0	18
<b>WPRO</b>	<b>NA</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>18</b>
<b>Global</b>	<b>01-Sep-18</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>38</b>	<b>7</b>	<b>18</b>

# Celosvětová situace s poliomyelitis – WPV 1, VDPV 1,2,3 – posledních 6 měsíců

Global Wild Poliovirus & cVDPV Cases<sup>2</sup>, Previous 12 Months<sup>3</sup>



<sup>2</sup>Excludes viruses detected from environmental surveillance

Data in WHO HQ as of 16 Oct. 2018

<sup>3</sup>Source: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/item/global-polio-report-2018>

Děkuji za pozornost

Kontakt : MUDr. Petra Rainetová

Tel. : 267082333

E-mail : [petra.rainetova@szu.cz](mailto:petra.rainetova@szu.cz)











