

Odpadní vody 2022. Environmentální surveillance 2022

Sewage 2022. Environmental surveillance 2022

Petra Rainetová

Souhrn • Summary

NRL pro enteroviry (NRL/E) SZÚ v rámci environmentální surveillance na přítomnost poliovirů a ostatních enterovirů vyšetřuje odpadní vody z čističek 15 měst, 2 pobytových středisek a 3 zařízení pro zajištění cizinců. V roce 2022 bylo vyšetřeno 212 vzorků odpadních vod. Celkem 119 vzorků bylo pozitivních. Pozitivní vzorky byly určeny jako non-polio-enteroviry (NPEV).

Současně jsou všechny vzorky odpadních vod vyšetřovány na přítomnost RNA SARS-CoV-2.

The National Enterovirus Reference Laboratory (NRL/E) of the National Institute of Public Health, as part of environmental surveillance for the presence of polioviruses and other enteroviruses, examines wastewater from sewage treatment plants of 15 cities, 2 residential centres and 3 facilities for the detention of foreigners. In 2022, 212 wastewater samples were examined. A total of 119 samples were positive. The positive samples were determined to be non-polio-enteroviruses (NPEV).

At the same time, all wastewater samples are tested for the presence of SARS-CoV-2 RNA.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha). 2023; 32(4): 172–174

Klíčová slova: odpadní vody, polioviry, enteroviry, SARS-CoV-2 virus

Keywords: sewage, polioviruses, enteroviruses, SARS-CoV-2

Světová zdravotnická organizace (WHO) zavedla v rámci polioeradikační strategie tři druhy surveillance – enterovirovou, environmentální a sledování akutních chabých paréz.

Environmentální surveillance Česká republika splňuje odběrem odpadních vod. Techniku odběru popsal hlavní hygienik v dopise HEM-370-30. 9. 04/18483 z roku 2004. Odběrová místa byla určena dopisem z Ministerstva zdravotnictví HEM-300-20. 7. 2004/20284 [1–6].

Odběrová místa jsou ve vybraných městech: Praha, Rakovník, Plzeň, České Budějovice, Ústí nad Labem, Hradec Králové, Brno, Ostrava. V roce 2015 se začala odebrat odpadní voda v Karlových Varech. Dále v roce 2022 přibyla ještě tato města: Liberec, Zlín, Olomouc, Jihlava, Pardubice a Dubí.

Z pobytových středisek (PoS) a zařízení pro zajištění cizinců (ZZC) hlavní hygienik vytypoval tyto lokality: Jezová, Tetřice, Červený Újezd a Vyšší Lhoty. Tetřice a Červený Újezd byly zrušeny a nahrazeny Kostelcem nad Orlicí a Zastávkou u Brna. Vyšetřování odpadních vod ze ZZC Balková začalo v roce 2017 [5].

Ve městech se odpadní vody odebírají z hlavní městské kanalizace před čističkou, v PoS a ZZC před vyústěním do další kanalizace.

Vzorky odpadních vod se odebírají v daných lokalitách 1× měsíčně pracovníky Zdravotních ústavů a Krajských

hygienických stanic. Odběr probíhá zhruba 30 cm pod hladinou do vymyté plastové nesterilní láhve do objemu 1 litr. Nádoba je pak transportována při chladničkové teplotě (0–8 °C) do Národní referenční laboratoře pro enteroviry (NRL/E) Státního zdravotního ústavu [1–6].

WHO určila postup odběru odpadních vod, metodiku zpracování a typ tkáňových kultur na kultivaci v publikaci WHO „Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation“ (World Health Organization, Department of Vaccines and Biologicals, 2003, 12–13) [7].

Zpracované vzorky se inokulují na tkáňové kultury RD, což jsou buněčné linie získané z lidského rhabdomyosarkomu a na geneticky modifikované myší buněčné linie s lidskými receptory pro polioviry L20B. Technika inokulace je daná algoritmem, který byl poprvé představen na konferenci v Istanbulu v roce 2013 a je od roku 2015 povinný pro všechny akreditované laboratoře sítě „Global Polio Laboratory Network“ (GPLN) [8].

Ze vzorků odpadních vod se izolují enteroviry. Nejdůležitější jsou nálezy poliovirů a jejich zařazení mezi divoké, vakcinační a od vakcinačních odvozené (derivované) kmeny.

Enteroviry se na tkáňových kulturách projevují typickým cytopatickým efektem (CPE), který je charakterizován zakulacováním, shlukováním a odpadáváním buněk z tkáňového monolayeru. Všechny enteroviry se pomnožují na tkáňových kulturách RD. Polioviry mají, na rozdíl od ostatních enterovirů, schopnost růstu i na tkáňových kulturách L20B. Tato odlišnost je dána přítomností lidského receptoru na L20B TK a usnadňuje odlišení poliovirů od ostatních enterovirů (non-polio-enterovirů - NPEV). CPE je popisován škálou

od + do ++++ (+ reprezentuje 25 % degenerovaných buněk, ++ 25–50 %, +++ 50–75 %, ++++ 75–100 %) [7].

Každý vzorek odpadní vody po zpracování metodou dvojfázové koncentrace je potvrzován pomocí RT - qPCR, která se provádí u všech vzorků po zpracování a po 2. pasáži vzorků na tkáních RD. V případě pozitivního výsledku vzorku po zpracování a negativního po pasážích na tkáňových kulturách se provádí ještě intratypová diferenciacie poliovirů typů Sabin 1 a 3 pomocí PCR v reálném čase s detekcí DNA Sybr Green.

Tento další test se provádí k vyloučení přítomnosti neviabilních poliovirů v odpadních vodách.

Všechny výsledky se hlásí do WHO v Laboratorním monitorovacím datovém systému (LMDS) pro poliomyelitis.

Izolované polioviry je nutno odeslat do 7 dnů od detekce do WHO Regionální referenční laboratoře (RRL) v Helsinkách nebo do Bilthovenu (RIVM) k intratypové diferenciaci. Tyto laboratoře pak informují NRL/E, zda se jedná o poliovirus vakcinační, od vakcinačního derivovaný (VDPV) nebo divoký. VDPV se shodují s atenuovanými

Tabulka: Vyšetřování odpadních vod – 2022

Pořadí	Odběrové místo	Počet odběrů	Pozitivní – NPEV-viabilní	Pozitivní – NPEV-neviabilní	Pozitivní RNA – SARS-CoV-2
1.	ÚČOV Praha (Trója)	12	7 CVB4, CVB5, CVA2	4	4
2.	ČOV Rakovník	12	5 CVB4, 2xCVB5	3	3
3.	ČOV Plzeň (Jateční)	12	5 CVB2, CVB4	4	2
4.	ČOV pro Č. Budějovice (Hrdějovice)	12	3 CVB5	5	1
5.	ČOV Ústí nad Labem	12	4 CVB4, 2xCVB5	2	3
6.	ČOV Hradec Králové	12	6 CVB4, CVB5, CVB6	1	4
7.	ČOV Kostelec nad Orlicí - PoS	12	2 CVB4	0	0
8.	ČOV – Bělá pod Bezdězem Jezová - ZZC	12	3 CVB5, E3	4	2
9.	ČOV Brno (Modřice)	12	5 CVA4, 2xCVB4, CVB5	4	0
10.	ČOV Zastávka u Brna - PoS	12	3 2xCVB5, E3	3	0
11.	ČOV Ostrava (Oderská)	13	4 CVA4, 2xCVB5	4	0
12.	ČOV Karlovy Vary (Drahovice)	11	3 CVB5, E19	2 E11	1
13.	ČOV Vyšší Lhoty - ZZC	13	1 2xCVB5	1	2
14.	ČOV Balková - ZZC	10	1 CB5	2	1
15.	ČOV Liberec	10	5 CVA2, CVB4, CVB5, E11	3	2
16.	ČOV Zlín	9	2 CVA4, CVB5	2	2
17.	ČOV Olomouc	8	0	5 CVA4	1
18.	ČOV Jihlava	8	3 CVB4, CVB5	1	0
19.	ČOV Pardubice (Semtín)	8	5 CVB4, CVB5, E3	2	1
20.	ČOV Dubí	2	0	0	0

legenda: ÚČOV = ústřední čistírna odpadních vod; ČOV= čistírna odpadních vod; PoS = pobytové středisko; ZZC = zařízení pro zajištění cizinců

kmeny OPV (orální poliomyelitické vakcíny) v méně než 99,5 %, ale více než 82 %. Pokud se polioviry shodují s kmeny OPV v méně než 82 %, jedná se o divoký kmen polioviru. VDPV vznikají v důsledku cirkulace vakcinálního kmene, při přenosu mezi lidmi dochází k bodovým mutacím, které se týkají jednoho nebo dvou nukleotidů za týden, 1–2 % nukleotidů za rok [8].

Mimo povinnosti zaslání pozitivních izolátů do RRL je NRL/E povinna nález oznámit příslušné Krajské hygienické stanici, příslušnému Zdravotnímu ústavu, hlavní hygieničce ČR, SZÚ – odd. EPI a Národní komisi pro certifikaci polioeradikace [1–7].

V roce 2022 NRL/E vyšetřila celkem 212 vzorků odpadních vod (**viz tabulka**). Negativních bylo 93 vzorků.

V 119 vzorcích byl zjištěn non-polio-enterovirus (NPEV), pozitivních viabilních, schopných se pomnožit na tkáňových kulturách RD bylo 67 vzorků.

Pro zjištění genotypu je třeba osekvenovat VP1 genu parciální sekvenací dle Sangera. Osekvenovat se podařilo 46 vzorků. Prokázaným non-polio-enterovirem byl 2× Cocksackievirus A2 (CVA2), 4× Cocksackievirus A4 (CVA4), 1× Cocksackievirus B2 (CVB2), 11× Cocksackievirus B4 (CVB4), 21× Cocksackievirus B5 (CVB5), 1× Cocksackievirus B6 (CVB6), 3× ECHO virus 3 (E3), 2× ECHO virus 11 (E11) a 1× ECHO virus 19 (E19).

V roce 2022 byly všechny vzorky odpadních vod testovány na přítomnost RNA SARS-CoV-2. V 29 vzorcích (viz tabulka) byla zjištěna metodou RT- qPCR přítomnost RNA SARS-CoV-2. V této souvislosti je třeba upozornit, že

metodika určená pro detekci a genotypizaci EV není ideální pro detekci SARS-CoV-2 v odpadních vodách. NRL/E ve spolupráci s NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění připravuje metodická zlepšení, která by umožnila získat vyšší koncentraci virové RNA SARS-CoV-2 a současně umožnila sekvenaci a případnou kvantifikaci včetně kalibrace na mezinárodně doporučený standard.

LITERATURA:

- [1] Rainetová P. Vyšetřování odpadních vod na přítomnost polio a ostatních enterovirů v ČR v roce 2016. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2017; 26(3): 115–116
- [2] Rainetová P. Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2017. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2018; 27(3-4): 90–92
- [3] Rainetová P. Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2018. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2019; 28(4): 146
- [4] Rainetová P. Environmentální surveillance 2019. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2020; 29(5): 210-211
- [5] Rainetová P. Odpadní vody 2020, Environmentální surveillance. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2021; 30(4): 121
- [6] Rainetová P. Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2021. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2022; 31(3): 107
- [7] Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation, Vaccines and Biologicals, WHO, 2003
- [8] Enterovirus surveillance guidelines, WHO, 2015

MUDr. Petra Rainetová
NRL pro enteroviry, CEM SZÚ