

## Vyšetřování odpadních vod na přítomnost poliovirů a ostatních enterovirů v ČR v roce 2013

### *Surveillance of polioviruses and other enteroviruses in sewage in the Czech Republic in 2013*

Petra Rainetová, Jana Fittlová

#### **Souhrn**

V České republice se v rámci programu polioeradikace vyšetřují odpadní vody v 8 městech a 3 uprchlických táborech. Odpadní vody se odebírají podle metodiky hlavního hygienika a zpracovávají se podle pokynů WHO. Zpracované odpadní vody se očkují na tkáňové kultury RD a L20B podle nového algoritmu představeného na konferenci WHO v Istanbulu v r. 2013. Izolované polioviry se zasílají do regionální referenční laboratoře v Helsinkách a v ČR se informují příslušné orgány. V roce 2013 byl ve 2 ze 140 vyšetřovaných odpadních vod prokázán non-polio-enterovirus.

*In the Czech Republic, within the polio eradication program, surveillance of polioviruses and other enteroviruses in sewage is conducted in eight cities and three refugee camps. Sewage sampling is performed in accordance with the Chief Public Health Officer's guidelines and samples are processed according to the WHO instructions. The sewage samples are inoculated on tissue cultures RD and L20B using a new algorithm presented at the 2013 WHO Conference in Istanbul in 2013. Poliovirus isolates are referred to the WHO Regional Reference Laboratory in Helsinki, Finland and reported to the respective authorities in the Czech Republic. In 2013, non-polio enterovirus was detected in two of 140 sewage samples analyzed.*

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2014; 23(2): 53–54.

**Klíčová slova:** polioeradikační program, odpadní vody, polioviry, enteroviry  
**Keywords:** polio eradication program, sewage, polioviruses, enteroviruses

V roce 1990 Světová zdravotnická organizace (WHO) založila síť laboratoří pro poliomyelitis „WHO Global Polio Laboratory Network“ (GPLN). Tato síť má tři úrovně: národní laboratoře (NL), regionální referenční laboratoře (RRL) a globální specializované laboratoře (GSL). Úkolem GPLN je detekce poliovirů ve stolicích u pacientů s podezřením na poliovirovou či enterovirovou infekci a v odpadních vodách.

V rámci programu GPLN eradikace poliomyelitis se v ČR vyšetřují odpadní vody z následujících vybraných lokalit:

- a) **města** – Praha, Brno, Ostrava, Hradec Králové, České Budějovice, Ústí nad Labem, Plzeň, Rakovník;
- b) **uprchlické tábory** – Zastávka u Brna, Jezová, Kostelec nad Orlicí.

Odpadní vody na vyšetřování poliovirů jsou odebírány podle metodiky hlavního hygienika, dané dopisem HEM-370-30.9.04/18483, pracovníky Zdravotních ústavů a Krajských hygienických stanic jednou měsíčně. Odběr je prováděn z hlavní městské kanalizace před čističkou odpadních vod určených měst a z odvodu odpadních vod daných uprchlických táborů před vyústěním do další kanalizace. Z jednoho místa proudící odpadní vody se odebere 5 vzorků vody zhruba 30 cm pod hladinou, vlijí se do vymyté plastové nesterilní láhve v objemu 1 litru. Takto odebraná

odpadní voda je uchována při chladničkové teplotě (0–8 °C) a do 1 měsíce od provedení odběru transportována do NRL pro enteroviry Státního zdravotního ústavu.

Odpadní vody jsou v NRL zpracovány podle pokynů WHO „Surveillance cirkulace poliovirů v životním prostředí“ metodou dvojfázové koncentrace.

Zpracovaný vzorek je očkován, vždy paralelně, na tkáňové kultury:

1. RD – buněčná linie získaná z lidského rhabdomyosarkomu;
2. L20B – buněčná linie myších buněk geneticky upravených.

Enteroviry tvoří v tkáňové kultuře charakteristický cytopatický efekt (CPE), který je provázen zakulacováním a odpadáváním buněk. Očkování na obě tkáňové kultury odliší enteroviry od poliovirů, neboť na L20B se množí pouze polioviry.

Na konferenci WHO v Istanbulu, konané 30. 9.–1. 10. 2013, byl představen nový algoritmus pro izolaci poliovirů. Inokulované a kontrolní kultury RD a L20B jsou denně pozorovány a pokud se vyskytne CPE, 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, je provedena další pasáž na té samé tkáňové kultuře, pokud po dalších 5 dnech ani v jedné tkáňové kultuře není pozorován CPE, výsledek je uzavřen jako negativní. Pokud se do 5 dní vyskytne CPE roven nebo větší než 3+, je provedena 2. pasáž na opačné tkáňové kultuře. To samé – očkování na opačnou tkáňovou kulturu – se pro-

Tabulka: ODPADNÍ VODY 2013. POČET ODBĚRŮ V JEDNOTLIVÝCH ODBĚROVÝCH LOKALITÁCH.

Pořadové číslo	Odběrové místo	Počet odběrů	Poznámka	Výsledek
1.	ÚČOV Praha Trója. Odběrové místo P-1	10	Květen, červen povodně, čistička zavřena	negativní
2.	ÚČOV Praha Trója. Odběrové místo L-2	10	Květen, červen povodně, čistička zavřena	negativní
3.	ČOV Rakovník	12		negativní
4.	ČOV Plzeň	12		negativní
5.	ČOV České Budějovice	12		negativní
6.	ČOV Ústí nad Labem	10	Červen povodně	negativní
7.	ČOV Hradec Králové	13		negativní
8.	ČOV Azylového střediska ministerstva vnitra (Kostelec nad Orlicí)	11		negativní
9.	UT Jezová (Mladá Boleslav)	12		negativní
10.	ČOV Modřice	12		1x ECHO 30
11.	UT Zastávka u Brna	12		1x NON-POLIO ENTEROVIRUS
12.	ČOV Liberec	5		negativní
13.	ČOV Česká Lípa	5		negativní
14.	ČOV Ostrava	4		negativní

Legenda: ÚČOV = ústřední čistička odpadních vod; ČOV = čistička odpadních vod; UT = uprchlický tábor.

vede i v případě objevení se CPE až v 2. pasáži (1. pasáž byla negativní).

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

RD tkáňové kultury s CPE se pasážují na L20B, tyto pasáže jsou zacíleny na oddělení poliovirů od jiných enterovirů, se kterými mohou být ve směsi, a na zvýšení titrů přítomných poliovirů. Pokud se do 5 dnů neobjeví cytopatický efekt, tak se jedná o non-polio-enterovirus (NPEV) a to se uvede v pravidelných hlášeních do WHO. 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).

Izolované polioviry je nutno odeslat ideálně do 7 dnů od detekce k intratypové diferenciaci do RRL Helsinky. WHO pak informuje o detekci jak non-polio Sabin like viru (nevakcinálního viru), vakcinálního viru, tak o neprůkazných výsledcích testů intratypové diferenciaci. V České republice má být informována o nálezů polioviru a jeho zaslání do RRL ještě příslušná Krajská hygienická stanice, příslušný odbor na Ministerstvu zdravotnictví a Národní komise pro certifikaci polioeradikace.

V České republice bylo v roce 2013 vyšetřeno 140 vzorků odpadních vod především z lokalit daných MZ (viz tabulka). Negativních bylo 138 vzorků. Ve 2 vzorcích byl zjištěn non-polio enterovirus. Jeden vzorek se podařilo metodou sekvenace blíže určit jako ECHO virus 30.

Děkujeme RNDr. Martinu Musílkovi za provedení sekvenčních analýz.

MUDr. Petra Rainetová  
Jana Fittlová  
NRL pro enteroviry  
SZÚ - CEM