

Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2018

Surveillance of polioviruses and other enteroviruses in sewage in the Czech Republic in 2018

Petra Rainetová

Souhrn • Summary

NRL pro enteroviry v rámci environmentální surveillancce vyšetřuje odpadní vody z čističek 9 měst a 5 uprchlických táborů. V roce 2018 bylo vyšetřeno 168 vzorků odpadních vod. 54 vzorků bylo pozitivních. Pozitivní vzorky byly určeny jako 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 2018, 168 wastewater samples were analysed and 54 of them turned out to be positive. The pathogens detected in the positive samples were identified as non-polio-enteroviruses (NPEV).

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2019; 28(4): 146–147

Klíčová slova: odpadní vody, polioviry, enteroviry

Key words: *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, environmentální a enterovirovou surveillancce.

NRL v rámci tohoto programu sleduje a vyšetřuje odpadní vody z vybraných lokalit – z hlavní městské kanalizace před čističkou odpadních vod v 9 městech Čech a Moravy – Praha, Rakovník, Plzeň, České Budějovice, Ústí nad Labem, Hradec Králové, Brno, Ostrava, Karlovy Vary a z odvodu odpadních vod před vyústěním do další kanalizace v 5 utečeneckých táborech – Zastávka u Brna, Jezová, Vyšné Lhoty, Balková, Kostelec nad Orlicí.

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

Vzorky odpadních vod se odebírají v daných lokalitách v pravidelných intervalech – 1× měsíčně. Do čisté transportní nádoby se odebírá 1 litr odpadní vody. Z jednoho místa proudící odpadní vody zhruba 30 cm pod hladinou se bere vždy pět vzorků. Nádoba se vzorky se pak transportuje při chladničkové teplotě (0–8 °C) do NRL.

Odpadní vody se zpracovávají koncentrační metodou dvojfázového dělení, která je také popsána v publikaci WHO „Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation“ z roku 2003.

Zpracované vzorky se očkují na tkáňové kultury RD (buněčná linie získaná z lidského rhabdomyosarkomu) a L20B (buněčná linie geneticky upravených myších buněk).

Enteroviry tvoří v tkáňové kultuře charakteristický cytopatický efekt (CPE), který je provázen zakulacováním a odpadáváním buněk. CPE je popisován škálou od + do ++++ (+ reprezentuje 25 % degenerovaných buněk, ++ 25–50 %, +++ 50–75 %, ++++ 75–100 %). Tkáňové kultury RD jsou vnímavé pro všechny enteroviry. Pouze polioviry vytváří CPE na tkáňových kulturách L20B, což je způsobeno přítomností lidského receptoru pro vstup polioviru do buněk a usnadňuje odlišení poliovirů od ostatních enterovirů.

Obě inokulované tkáňové kultury RD a L20B se denně prohlíží v mikroskopu po dobu 5 dní. Pokud se do 5 dní nepozoruje CPE, provede se další pasáž na stejnou tkáňovou kulturu, na které byla předchozí pasáž. Pokud se po dalších 5 dnech neobjeví ani na jedné tkáňové kultuře CPE, uzavře se výsledek jako negativní. Pokud se CPE projeví do 5 dní na tkáňové kultuře RD, provede se pasáž na tkáňové kultuře L20B. V případě výskytu CPE i na L20B se vzorek naočkuje opět na RD. V případě CPE na RD se pozitivní tkáňová kultura zašle do 7 dní do Regionální referenční laboratoře (RRL) WHO v Helsinkách. Pokud je CPE na RD negativní, tak se jednalo o reoviry, adenoviry nebo jiné non-polio-enteroviry (NPEV) a výsledek je hlášen jako negativní na polioviry. Pokud se CPE vyskytne na L20B, tak se provede pasáž na RD. Při výskytu CPE na RD se vzorek také odešle do RRL.

Pozitivní izolace se potvrzují pomocí vyšetření PCR s elektroforézou a následnou sekvenací.

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

V RRL pomocí metod ELISA a PCR zjistí, zda se jedná o poliovirus vakcinační, od vakcinačního derivovaný

(VDPV) nebo divoký. VDPV se shodují s atenuovanými kmeny OPV (orální poliomyelitické vakcíny) v méně než 99 %, ale více než 82 %. Pokud se polioviry shodují s kmeny OPV v méně než 82 %, tak se jedná o divoký kmen polia. 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.

Mimo povinnosti zaslání pozitivních izolátů do RRL je nutno nález oznámit příslušné Krajské hygienické stanici nebo Zdravotnímu ústavu, Ministerstvu zdravotnictví a Národní komisi pro certifikaci polioeradikace.

V NRL pro enteroviry se v roce 2018 vyšetřilo 168 vzorků odpadních vod, z tohoto množství se v 54 vzorcích vyskytovaly non-polio-enteroviry (NPEV). Blíže určit sekvenací se podařilo 37 NPEV (viz tabulka). Polioviry byly vyloučeny negativní izolací na tkáňových kulturách L20B a sekvenací.

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
3. v ČR v roce 2017. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2018*; 27(3-4): 90–92
4. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation, Vaccines and Biologicals, WHO, 2003

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

Tabulka 1: Přehled vyšetření vzorků odpadních vod v NRL/ENT v roce 2018

Odběrové místo	Počet vzorků celkem	Počet pozitivních vzorků
Praha	13	4 (COXB2, B5, A5, EVA 71)
Rakovník	12	4 (COX B4, B5, A10, ECHO 30)
Plzeň	12	5 (COX A4, A6, ECHO 6,30)
České Budějovice	12	5 (COX A6, ECHO 14)
Ústí nad Labem	11	3 (ECHO 6, 14)
Hradec Králové	12	6 (ECHO 6, 11, 30, COX B5)
Ostrava	12	4 (EV B 75, COX B3, ECHO 30)
Brno	12	2 (ECHO 25)
Karlovy Vary	12	5 (ECHO 11, 14, 30, COX B2)
Jezová	12	2 (ECHO 14, COX A10)
Zastávka u Brna	12	7 (COX A6, EV B 75)
Vyšné Lhoty	12	1 (ECHO 18)
Balková	12	1