

Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2015

Surveillance of polioviruses and other enteroviruses in sewage in the Czech Republic in 2015

Petra Rainetová

Souhrn • Summary

NRL pro enteroviry v rámci environmentální surveillace vyšetřuje odpadní vody z čističek 9 měst a 5 uprchlických táborů. V roce 2015 bylo vyšetřeno 176 vzorků odpadních vod. 165 vzorků bylo uzavřeno jako negativní, 11 jako pozitivní. 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 2015, 176 wastewater samples were analyzed, 165 of which turned out to be negative and 11 to be positive. The pathogens detected in the positive samples were identified as non-polio-enteroviruses (NPEV).

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2016; 25(4): 142–144.

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 poliomyelitidy: „Global Polio Laboratory Network“ (GPLN), která byla WHO založena v roce 1990. GPLN zajišťuje surveillanci akutních chabých paréz u dětí do 15 let a rovněž provádí environmentální surveillanci poliovirů.

Environmentální surveillace je uskutečňována odběrem odpadních vod. V ČR jsou odpadní vody odebírány v 9 městech: Praha, Ostrava, Brno, Hradec Králové, Ústí nad Labem, Plzeň, České Budějovice, Rakovník, nově Karlovy Vary a v 5 utečeneckých táborech – Zastávka u Brna, Bělá pod Bezdězem, Kostelec nad Orlicí, nově Vyšné Lhoty a Drahonice.

Metodika odběru byla popsána v dopise ministerstva zdravotnictví HEM-370-30.09.2004/18483 podle pokynů z publikace WHO „Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation“. Odběry jsou prováděny

Tabulka 1: ODPADNÍ VODY V ROCE 2015. POČET ODBĚRŮ V JEDNOTLIVÝCH ODBĚROVÝCH LOKALITÁCH

Pořadí	Odběrové místo	Počet odběrů	Výsledky
1.	ÚČOV Praha Trója	24	21 x negativní, 1 x ECHO virus 11, 2 x NPEV
2.	ČOV ÚVN, ČOV Bulovka, ČOV Thomayerova nemocnice, ČOV FN Motol	11	10xnegativní, 1 x coxsackie virus A19/enterovirus 90
3.	ČOV Rakovník	12	12 x negativní
4.	ČOV Plzeň	12	10 x negativní, 1 x NPEV, 1 x ECHO virus 7
5.	ČOV pro České Budějovice	12	12 x negativní
6.	ČOV Ústí nad Labem	12	11 x negativní, 1 x coxsackie virus B5
7.	ČOV Hradec Králové	12	11 x negativní, 1 x NPEV
8.	ČOV „Azylové středisko ministerstva vnitra“ Kostelec nad Orlicí	12	12 x negativní
9.	ČOV Jezová- Zařízení pro zajištění cizinců“	12	11 x negativní, 1 x NPEV
10.	ČOV Brno	13	12 x negativní, 1 x NPEV
11.	UT Zastávka u Brna	14	13 x negativní, 1 x NPEV
12.	ČOV Ostrava	13	13 x negativní
13.	ČOV Karlovy Vary	7	7 x negativní
14.	UT Vyšné Lhoty	3	3 x negativní
15.	ČOV „Zařízení pro zajištění cizinců“ Drahonice	7	7 x negativní

Legenda: ÚČOV = ústřední čistička odpadních vod; ČOV = čistička odpadních vod; UT = utečenecký tábor; NPEV = non-polio-enterovirus.

1x měsíčně pracovníky zdravotních ústavů a krajských hygienických stanic z hlavní městské kanalizace před čističkou odpadních vod určených měst a z odvodu odpadních vod daných utečeneckých táborů před vyústěním do další kanalizace. Na vybraném místě zhruba 30 cm pod hladinou je odebráno 5 vzorků vody a ty jsou pak vlyty do vymyté plastové nesterilní láhve do objemu 1 litru. Odebraná voda je transportována do NRL/ENT Státního zdravotního ústavu při teplotě 0–8 °C. Pokud není po odběru možný okamžitý transport vzorku, jsou vzorky uchovávány do doby transportu v chladničce (v teplotě 0–8 °C), nejdéle však 2 měsíce.

V NRL/ENT jsou odpadní vody zpracovávány metodou dvojfázové koncentrace, která je také popsána v publikaci WHO „Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation“ z roku 2003.

Takto zpracované vzorky jsou vždy očkované paralelně na dva typy tkáňových kultur (TK), jednak na buněčné linie získané z lidského rhabdomyosarkomu (RD), tak i na geneticky upravené myší buněčné linie, které mají lidský receptor pro polioviry (L20B). Přítomnost enterovirů se projevuje cytopatickým efektem (CPE) na tkáňových kulturách. Pro CPE enterovirů je typické zakulacování a odpadávání buněk. Tkáňové kultury RD jsou vnímavé pro všechny enteroviry, tkáňové kultury L20B pouze pro polioviry. Tato odlišnost je dána přítomností lidského receptoru na L20B TK a usnadňuje odlišení poliovirů od ostatních enterovirů. Rozsah CPE je popisován škálou od + do ++++ (+ reprezentuje 25 % degenerovaných buněk, ++ 25–50 %, +++ 50–75 %, ++++ 75–100 %).

Tkáňové kultury RD a L20B s inokulovanými vzorky jsou prohlíženy v mikroskopu denně po dobu 5 dní.

Pokud do pěti dní není pozorován cytopatický efekt, tak je provedena další pasáž (přeočkování) na stejnou tkáňovou kulturu, na které byla předchozí pasáž. Pokud po dalších pěti dnech není objeven ani na jedné tkáňové kultuře CPE, je výsledek uzavřen jako negativní.

Pokud je do pěti dní pozorován CPE na tkáňové kultuře RD a je roven nebo větší než +++, musí být provedena pasáž kmene i na druhém typu tkáňové kultury - L20B. To samé platí i pro CPE na L20B TK. Pokud je objeven CPE až v 2. pasáži, postupujeme stejně. Pokud je při pozitivním CPE tkáňové kultury RD provedena inokulace na L20B TK, a pokud na TK není pozorován CPE, tak je do hlášení WHO v Laboratorní monitoracím datovém systému (LMDS) pro poliomyelitis zaznamenáno **non-polio-enteroviry (NPEV)**.

V případě, když je objeven CPE, tak je provedena další pasáž v RD TK. Pokud je negativní CPE, pozorovanými viry jsou **reoviry, adenoviry nebo jiné NPEV**. V případě pozitivního CPE je vzorek zaslán k intratypické diferenciaci (ITD) do Regionální referenční laboratoře (RRL) v Helsinkách. Tkáňové kultury L20B s CPE jsou pasážovány v RD TK, pokud se vyskytne do pěti dní CPE i na RD TK, musí být vzorek zaslán do RRL k provedení ITD. V případě negativního CPE na RD TK se jednalo o **reoviry, adenoviry nebo NPEV**, výsledek je hlášen jako negativní na polioviry.

Do RRL je nutno pozitivní izoláty poslat do sedmi dní. Dále je NRL/ENT povinna nález oznámit příslušné Krajské hygienické stanici nebo Zdravotnímu ústavu, Ministerstvu zdravotnictví a Národní komisi pro certifikaci polioeradikace.

V LMDS musí být záznam o všech (i negativních na polioviry) vyšetřovaných odpadních vodách.

V roce 2015 bylo v České Republice vyšetřeno 176 vzorků odpadních vod (viz tabulka 1). 165 vzorků odpadních vod bylo uzavřeno jako negativní, 11 jako pozitivní. Pozitivní vzorky byly určeny jako NPEV. RNDr. M. Mušilkovi se podařilo 4 vzorky osekvenovat a určit jako ECHO virus 7, ECHO virus 11, coxsackievirus B5 a coxsackievirus A19/enterovirus 90.

LITERATURA

1. Rainetová P. Vyšetřování odpadních vod na přítomnost poliovirů a ostatních enterovirů v ČR v roce 2014. *Zprávy CEM, (SZÚ Praha Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2015; 24(3): 89–90.*
2. Rainetová P. Vyšetřování odpadních vod na přítomnost poliovirů a ostatních enterovirů v ČR v roce 2013. *Zprávy CEM, (SZÚ Praha) 2014; 23(2): 53–54.*
3. Rainetová P. Vyšetřování odpadních vod na přítomnost poliovirů a ostatních enterovirů v ČR v roce 2012. *Zprávy CEM, (SZÚ Praha) 2013; 22(2): 63–64.*
4. Rainetová P. Vyšetřování odpadních vod na přítomnost polio a ostatních enterovirů v ČR v roce 2011. *Zprávy CEM, (SZÚ Praha) 2012; 21(1): 21–22.*
5. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation, www.who.int/vaccines-dokuments/, 2003;11-13
6. Paladin F.J. New test algorithm for poliovirus isolation, prezentace - WHO European Regional Polio Laboratory Network Meeting, 29.9-2.10.2013, Istanbul.

MUDr. Petra Rainetová
NRL pro enteroviry
SZÚ – CEM