

Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2024

Surveillance of polioviruses and other enteroviruses in sewage in the Czech Republic in 2024

Petra Rainetová

Souhrn • Summary

NRL pro enteroviry v SZÚ vyšetřuje v rámci environmentální surveillace odpadní vody z čističek 15 měst a 5 uprchlických táborů. V roce 2024 bylo vyšetřeno 230 vzorků odpadních vod. Celkem bylo 168 vzorků pozitivních. Pozitivní vzorky byly určeny jako non-polio-enteroviry (NPEV).

The National Reference Laboratory for Enteroviruses at the National Institute of Public Health investigates sewage

from sewage treatment plants of 15 cities and 5 refugee camps as part of environmental surveillance. In 2024, 230 wastewater samples were tested. 168 samples were positive. The positive samples were determined to be non-polio-enteroviruses (NPEV).

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2025; 34(2): 64–67

Klíčová slova: odpadní vody, polioviry, enteroviry

Keywords: sewage, polioviruses, enteroviruses

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 [1-6,9,10].

Praha, Rakovník, Plzeň, České Budějovice, Ústí nad Labem, Hradec Králové, Brno, Ostrava byly vybrány jako odběrová místa v roce 2004. V roce 2015 se začala odebírat 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 vytipoval 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 1x 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/ENT) Státního zdravotního ústavu [1-6,9,10].

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 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 tak usnadňuje odlišení poliovirů od ostatních enterovirů.

Obě inokulované tkáňové kultury RD a L20B se denně prohlíží v mikroskopu po dobu 5 dní. Pokud do 5 dní není pozorován 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 projeví do 5 dní CPE na tkáňové kultuře RD, provede se pasáž na tkáňové kultuře L20B. V případě výskytu CPE i na L20B se vzorek naočkuje opět na RD. Pokud je CPE na RD negativní, jednalo se o reoviry, adenoviry nebo jiné non-polio-enteroviry (NPEV) a výsledek je hlášen jako negativní na polioviry. V případě CPE na RD se provede intratypická diferenciací (ITD) pro odlišení vakcinačního polioviru Sabin 1 (OPV1), Sabin2 (OPV2), Sabin 3 (OPV3), polioviru typu 2 (PV2), divokého polioviru 1 (WP1), divokého polioviru 3 (WP3), z vakcíny derivovaného polioviru 1 (VDPV1), z vakcíny derivovaného polioviru 3 (VDPV3) a nového vakcinačního polioviru Sabin 2 (nOPV2). Pozitivní tkáňová kultura se dále zašle do 7 dní do Regionální referenční laboratoře (RRL) WHO v Helsinkách nebo do Národního ústavu pro veřejné zdraví a prostředí (RIVM) v Bilthovenu k provedení sekvenace oblasti VP1 a 3D sekvenace k bližšímu určení PV. Pokud se CPE vyskytne na L20B, provede se pasáž na RD. Při výskytu CPE na RD se také provede ITD a vzorek se zašle do RRL nebo RIVM [1-6,9,10].

U všech vzorků odpadních vod je provedena RT – qPCR po zpracování metodou dvojfázové koncentrace a po 2. pasáži vzorků na tkáních RD za účelem zjištění viability viru.

Všechny výsledky se hlásí do laboratorního systému WHO Immunization Data Warehouse (WIISE Mart).

Tabulka 1: Vyšetřování enterovirů a SARS-CoV 2 v odpadních vodách – 2024

Pořadí	odběrové místo	počet odběrů	pozitivní záchyt NPEV - viabilní	pozitivní - NPEV- neviabilní	pozitivní záchyt RNA - SARS-CoV-2 (mutace)
1.	ÚČOV Praha (Troja)	12	8 5x E11, 1x E19	4	9 (6x N501Y, 7x K417N, 3x P681R, 1x T547K)
2.	ČOV Rakovník	12	7	5	3 (2x N501Y, 2x K417N)
3.	ČOV Plzeň (Jateční)	11	5 1x CVA10	6	4 (1x N501Y, 1x K417N, 3x P681R)
4.	ČOV pro Č. Budějovice (Hrdějovice)	12	5 1x E11	4	6 (1x N501Y, 3x K417N, 1x E484A, 4x P681R, 1x T547K)
5.	ČOV Ústí nad Labem	12	5 1x E11	4	2 (1x N501Y, 1x K417N, 1x P681R)
6.	ČOV Hradec Králové	12	6 1x E11, 1x E25	4	0
7.	ČOV Kostelec nad Orlicí - PoS	12	1	2	0
8.	ČOV – Bělá pod Bezdězem (Jezová) - ZZC	12	2	4	3 (2x N501Y, 2x K417N, 1x P681R)
9.	ČOV Brno (Modřice)	12	6 2x E11, 1x E19	6	4 (2x N501Y, 1x T547K, 3x P681R, 1x T547K)
10.	ČOV Zastávka u Brna - PoS	12	3	0	1 (1x K417N)
11.	ČOV Ostrava (Oderská)	8	3 1x E11	5	2 (1x N501Y, 1x K417N)
12.	ČOV Karlovy Vary (Drahovice)	12	5 1x E25	5	5 (4x N501Y, 4x K417N, 2x P681R)
13.	ČOV Vyšní Lhoty - ZZC	13	3 1x E11	1	1 (1x N501Y, 1x K417N)
14.	ČOV Balková - ZZC	11	3 1x E11	1	2 (1x P681R)
15.	ČOV Liberec	8	4 1x E11	3	2 (1x N501Y, 1x K417N)
16.	ČOV Zlín	11	6	3	6 (5x N501Y, 4x K417N, 2x P681R)
17.	ČOV Olomouc	12	5 2x E25	7	5 (2x N501Y, 3x K417N, 1x P681R)
18.	ČOV Jihlava	12	7 1xE11, 1x CVB4	3	4 (4x N501Y, 4x K417N, 1x P681R)
19.	ČOV Pardubice (Semtín)	12	8 1x E11, 1x E25	4	4 (3x N501Y, 1x K417N)
20.	ČOV Dubí	12	5 1x E11	0	3 (2x N501Y, 2x K417N)
	Celkem	230	97	71	68

Legenda:

ÚČOV = ústřední čistička odpadních vod; ČOV = čistička odpadních vod; PoS = pobytové středisko; ZZC = zařízení pro zajištění cizinců

NPEV = non-polio-enterovirus; E11 = ECHO virus 11; E19 = ECHO virus 19; E25 = ECHO virus 25; CVA10 = Coxsakievirus A 10; CVB4 = Coxsakievirus B 4

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

V roce 2024 NRL vyšetřila celkem 230 vzorků odpadních vod (viz **tabulka 1**). Negativních bylo 62 vzorků. Ve 168 vzorcích byl zjištěn non-polio-enterovirus (NPEV), z nich pozitivních viabilních, schopných se pomnožit na tkáňových kulturách RD bylo 97 vzorků.

Osekvenovat se podařilo 26 vzorků. Prokázáným non-polio-enterovirem byl 1x Coxsackievirus A10 (CVA10), 1x Coxsackievirus B4 (CVB4), 17x ECHO virus 11 (E11), 2x ECHO virus 19 (E19) a 5x ECHO virus 25 (E25).

V roce 2024 byly všechny vzorky odpadních vod testovány také na přítomnost RNA SARS-CoV-2. V 68 pozitivních vzorcích byly zjištěny metodou diskriminační PCR genotypy N501Y, K417N, E484A, P681R, T547K (viz **tabulka 1**).

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
- [9] Rainetová P. Odpadní vody 2022, Environmentální surveillance 2022. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2023; 32(4): 172–174
- [10] Rainetová P. Sledování cirkulace poliovirů, ostatních enterovirů a respiračních virů včetně SARS-CoV-2 v odpadních vodách v ČR v roce 2023. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2024; 33(1): 23–26

MUDr. Petra Rainetová
NRL pro enteroviry, CEM SZÚ