

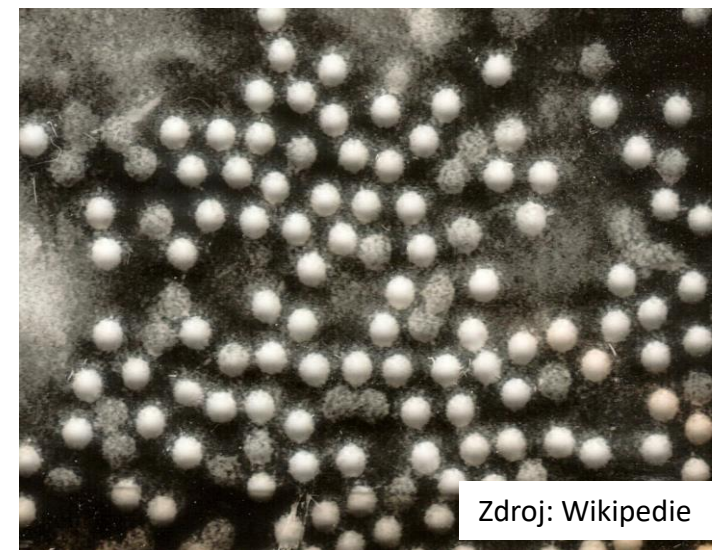
Sledování cirkulace poliovirů a ostatních enterovirů v odpadních vodách v ČR v roce 2024 a 2025

MUDr. Petra Rainetová, MUDr. Radomíra Limberková



Enteroviry – obecně

Čeľed' Picornaviridae
(malé, neobalené, kulovité RNA viry, $\varnothing$ 30 nm)



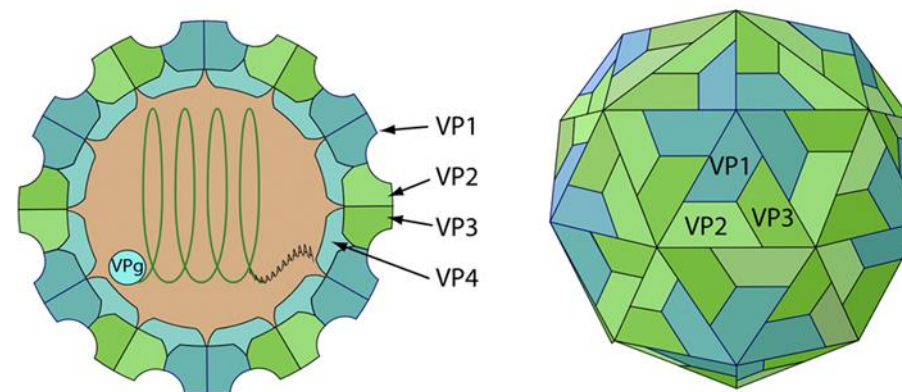
- rody Enteroviry, Rhinoviry, Aphtoviry, Parechoviry, Cardioviry, Hepatoviry
- název odvozen od schopnosti replikace v epiteliálních buňkách zažívacího traktu
- hlavní vyvolavatelé infekcí v dětském věku
- projevy od benigního krátkého horečnatého onemocnění po život ohrožující stavy

Enteroviry – dřívější klasifikace

Vytvořena na základě:

- *virové struktury*
- *typu permissivní tkáňové kultury*
- *spektra klinických příznaků vyvolávaných onemocnění*

- Coxsackie A: 11 - 22, 24
- Coxsackie B: 1-6
- Echoviry: 1 - 9, 11 - 21, 24 -27, 29 - 31
- Polioviry: 1 - 3
- Enteroviry: 68 - 71



Zdroj obrázku: ViralZone

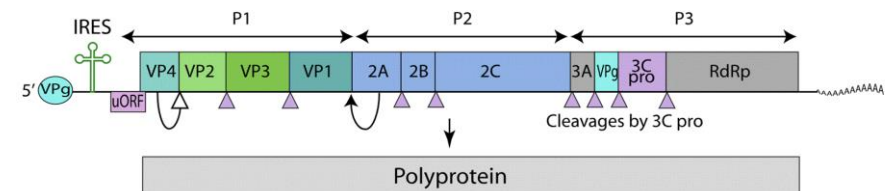
Enteroviry – nynější klasifikace

Vychází ze struktury genomu

- Skupina A: EV-A (71, 76, 89, 90 - 92, 114, 119, 120, 121)
CV-A (2 - 8, 10, 12, 14, 16)
- Skupina B: CV-A9, CV-B (1 - 6), E (1 - 9, 11 - 21, 24 - 27, 29 - 33)
EV- B (69, 73 - 75, 77 - 88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107, 110 - 113)
- Skupina C: **PV (1 - 3)**, CV-A (1, 11, 13, 17, 19, 20 - 22, 24)
EV- C (95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116 - 118)
- Skupina D: EV-D (68, 70, 94, 111, 120)

Dělení enterovirů v rámci programu WHO na vymýcení poliomyelitis:

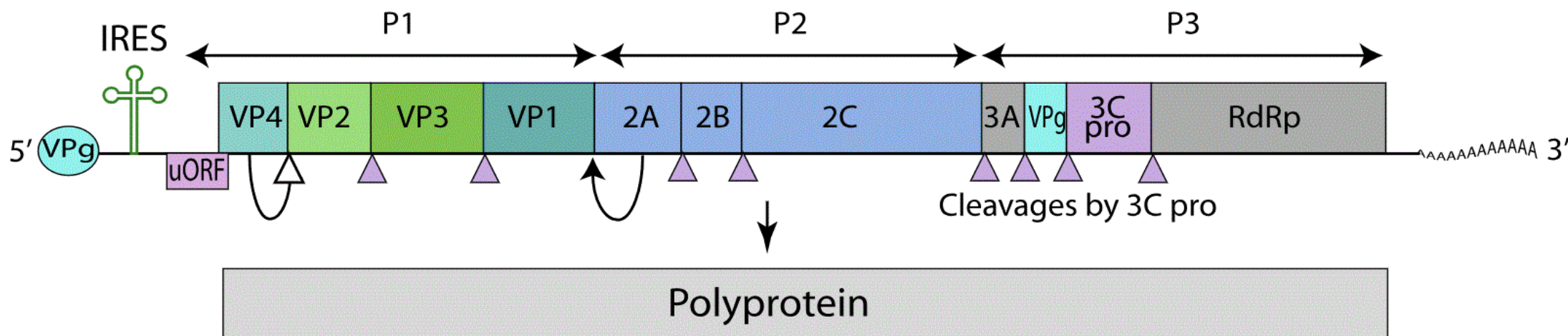
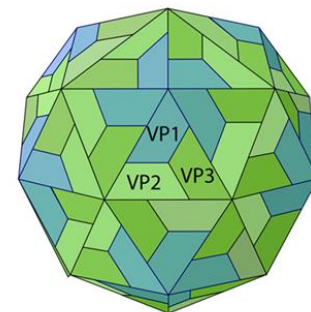
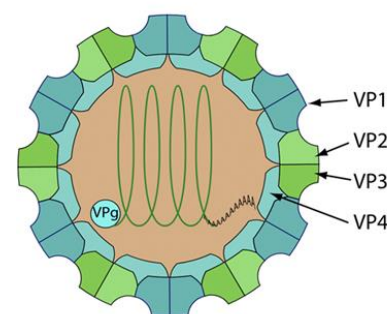
- polioviry (PV)
- non-polio-enteroviry (NPEV)



Genom enterovirů

Kódující část genomu – P1, P2, P3

Nekódující část-5' NTR – Cloverleaf + IRES (Internal Ribosome Entry Site)



Enteroviry – NPEV – klinické projevy

- aseptická meningitida
- encefalitida
- paretické onemocnění
- herpangína
- syndrom ruka-noha-ústa
- hemoragická konjunktivitida
- pleurodynie
- myokarditida a perikarditida
- hepatitida
- novorozenecké sepsy
- chronický únavový syndrom



Syndrom ruka – noha – ústa (= sedmá nemoc)
Zdroj: CDC

Poliomyelitis anterior acuta, dětská obrna - PV

- 90 - 95 % inaparentní (jen pomnožení ve střevě)
- 4 - 8 % abortivní (neurčité horečnaté onemocnění, s postižením HCD, GIT)
- 1 – 2 % aseptická neparalytická meningitida
- < 1 % paralytická forma (chabé obrny, nejčastěji DK)

Desítky let po paralytické (75 %) či neparalytické (40 %) formě PPS (postpoliomyelitický syndrom – dg.B91):

- nadměrná únava, narůstání paréz a svalových atrofií
- bolesti svalů, kloubů, deformity, skoliózy
- vazovagální synkopy
- poruchy spánku, přecitlivělost k chladu a bolesti
- potíže s polykáním, dýcháním, aspirace, pneumonie



CDC: genu recurvatum

Historická fakta o přenosné dětské obrně v ČR

Před zahájením očkování onemocněly stovky dětí, desítky zemřely

- 1939 propukla v ČR velká epidemie dětské obrny s následnými vlnami po 3 - 5 letech
- 1939 – 1956 onemocnělo 12 868 osob, převážně dětí, z nichž 1 159 zemřelo
- 1959 bylo hlášeno 131 případů onemocnění a 11 úmrtí
- Poliomyelitida je vysoce nakažlivé virové onemocnění nervového systému, postihuje míchu - celoživotní ochrnutí až smrt (obrna dýchacích a polykacích svalů)
- Asymptomatictí nemocní jsou rovněž infekční, několik týdnů vylučují virus a mohou nakazit další osoby, u kterých se může vyvinout závažná forma tohoto onemocnění.



Železná plíce, zdroj: LP-life.cz

Očkování v ČR



- od 1957 očkování neživou očkovací látkou (injekční Salkova vakcína - IPV)
- od 1960 živá očkovací látka (perorální Sabinova vakcína - OPV)
- od 2007 jen IPV
- díky očkovacímu programu je ČR od roku 1961 Polio-free (1. na světě)

Současnost v ČR:

- inaktivovaná očkovací látka proti přenosné dětské obrně (IPV) součást hexavakcíny (záškrt, tetanus, černý kašel, žloutenka typu B, Haemophilus influenzae typu b)
- 1. dávka: od 9. týdne věku (3. měsíc)
- 2. dávka: za dva měsíce po první dávce (5. měsíc)
- přeočkování se provede v 11. – 13. měsíci života dítěte (schéma 2+1)
- 10. - 11. rok věku dítěte očkovací látka proti záškrtu, tetanu, černému kašli a přenosné dětské obrně
- 5. 5. 2014 WHO doporučení pro cestovatele do zemí s výskytem PV (zábrana přenosu polioviru do polio-free zemí)
- dodatečná dávka očkovací látky proti poliomyelitidě (tzv. booster) během 12 měsíců před cestou do rizikové země, případně při vycestování z této rizikové oblasti

NRL pro enteroviry – součást GPLN



1988 WHO (WHA) ustanovilo *iniciativu za globální eradikaci poliomyelitidy (GPEI)*

Hlavní cíl: podpora globální proočkovanosti

- v čele stojí národní vlády, WHO, Rotary International, CDC, UNICEF, Gates Foundation, Gavi



Gates Foundation



1990 GPEI založila síť polio laboratoří – *Global Polio Laboratory Network (GPLN)*

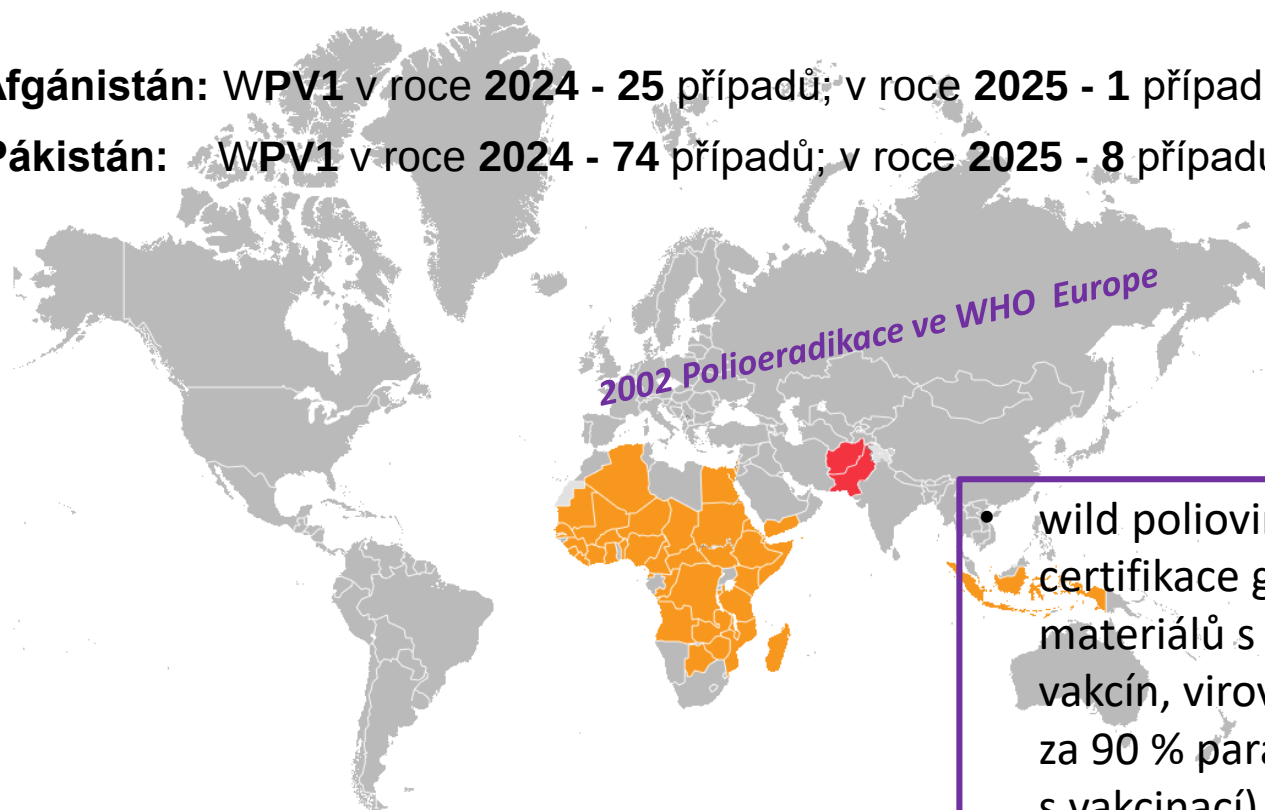
Hlavní cíl: spolupráce na eradikaci prostřednictvím surveillance

- surveillance akutních chabých paréz (klinická, epidemiologická, virologická/laboratorní)
- surveillance environmentální – sledování možné přítomnosti poliovirů v odpadních vodách
- surveillance enterovirové

Výskyt divokého polioviru ve světě se od roku 1988 snížil o více než 99%, z cca 350 000 případů ve > 125 endemických zemích na 2 endemické země (2025).

Afgánistán: WPV1 v roce 2024 - 25 případů; v roce 2025 - 1 případ

Pákistán: WPV1 v roce 2024 - 74 případů; v roce 2025 - 8 případů



Wild poliovirus typ 1



- wild poliovirus typ 2 (**PV2**) nedetekován od roku 1999, 2015 certifikace globální eradikace, 2016 globální zničení všech materiálů s obsahem PV2 – containment (kromě výrobců vakcín, virových sbírek), vyřazení PV2 z tOPV (PV2 zodpovědný za 90 % paralýz vyvolaných VDPV a za 40 % paralýz spojených s vakcinací), přechod na bOPV
- vytvořena globální zásoba monovalentní orální poliovakcíny mOPV2 pro případ epidemie v množství 519 milionů dávek
- wild poliovirus typ 3 (**PV3**) nedetekován od roku 2012, globálně eradikován v roce 2020 (XI. 2019)

- v 53 státech WHO/Europe vakcinace bOPV (1+3) i inaktivovanou IPV (1,2,3)
- V EU pouze IPV (injekční forma, PV1,2,3)

tOPV = trivalentní orální poliovakcína; bOPV = bivalentní orální poliovakcína

Surveillance poliomyelitidy aktuální situace v ČR a zemích EU/EHP

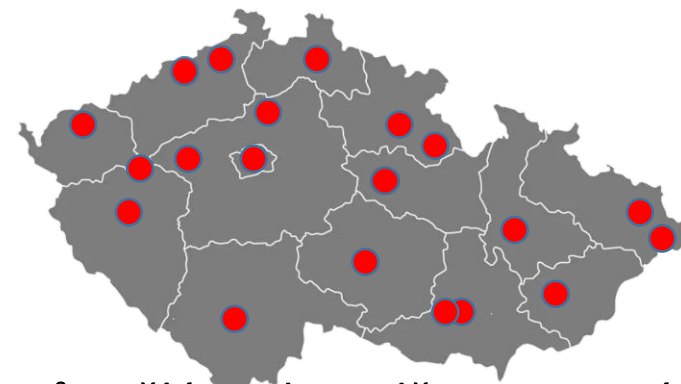
Rok 2024 pro globální eradikaci poliomyelitidy nepříznivý:

- stále se vyskytují divoké polioviry (WPV1 – Afghánistán, Pákistán)
- jsou diagnostikované cirkulující polioviry derivované z vakcinálních kmenů (cVDPV) u lidí nebo z odpadních vod (OV): *v nedostatečně imunizované populaci dochází pasážováním oslabeného vakcinálního kmene polioviru (OPV) ke genetické reverzi a zvýšení jeho neurovirulence, získává vlastnosti divokého polioviru, u neočkovaných vnímavých osob může vyvolat parézy*

V roce 2024 v Evropě několik vzorků OV s nálezem PV2 derivovaných z vakcinálních kmenů:

- **Německo** (Bonn, Kolín nad Rýnem, Hamburk, Mnichov), **Polsko** (Varšava), **Španělsko** (Barcelona), **Finsko** (Tampere)
- zatím nebyly zaznamenány případy chabých paréz u lidí

Environmentální surveillance v ČR



1962 – 1. odběry odpadních vod v ČR

2004 – systematické určení odběrových míst hlavním hygienikem:

Města: *Praha*

Ostrava

Brno

Ústí nad Labem

Hradec Králové

České Budějovice

Rakovník

Plzeň

2015

Karlovy Vary

2017

Zařízení pro zajištění cizinců: *Balková*

2022

Liberec, Zlín, Jihlava, Olomouc, Pardubice, Dubí

Zařízení pro zajištění cizinců: *Bělá pod Bezdězem-Jezová*
Vyšní Lhoty

Pobyťová střediska: *Zastávka u Brna*

Kostelec nad Orlicí

~~*Červený Újezd (uzavřeno)*~~

~~*Tetčice (uzavřeno)*~~

~~*Drahovice (uzavřeno)*~~

2007 - naposledy detekován z vakcíny derivovaný poliovirus v OV (zdroj uprchlík migrující přes ČR)

2024 - v rámci aktuální epidemiologické situace se zvažuje rozšíření o další odběrová místa

Environmentální surveillance

Metodika odběru odpadních vod:

- 1) odběry zajišťují pracovníci ZÚ ve spolupráci s KHS 1x měsíčně
- 2) odběr se provádí z hlavní městské kanalizace před čističkou odpadních vod měst a z odvodu odpadních vod utečeneckých táborů před vyústěním do další kanalizace
- 3) z jednoho místa proudící odpadní vody se odebere 5 vzorků vody zhruba 30 cm pod hladinou a vlijí se do vymyté plastové nesterilní láhve o objemu 1,5 l
- 4) plastová láhev se dopraví při chladničkové teplotě (0 - 8 °C) do NRL pro ENT
- 5) NRL pro ENT nahlásí výsledky příslušné KHS nebo ZÚ do 3 týdnů

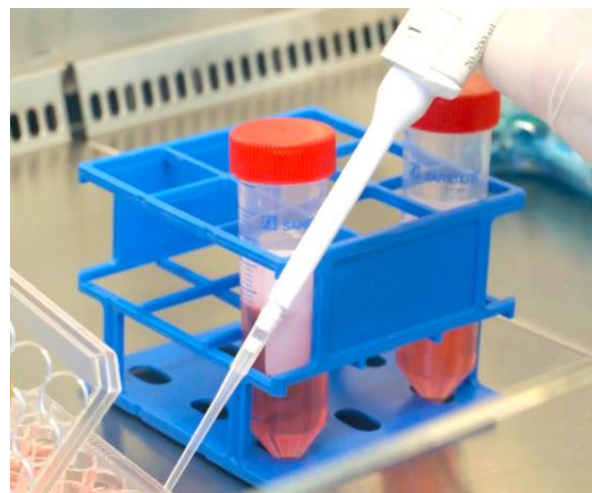
Environmentální surveillance

Metodika zpracování vzorku:

- *GPEI – GUIDELINES ON ENVIRONMENTAL SURVEILLANCE FOR DETECTION OF POLIOVIRUSES (2015)*

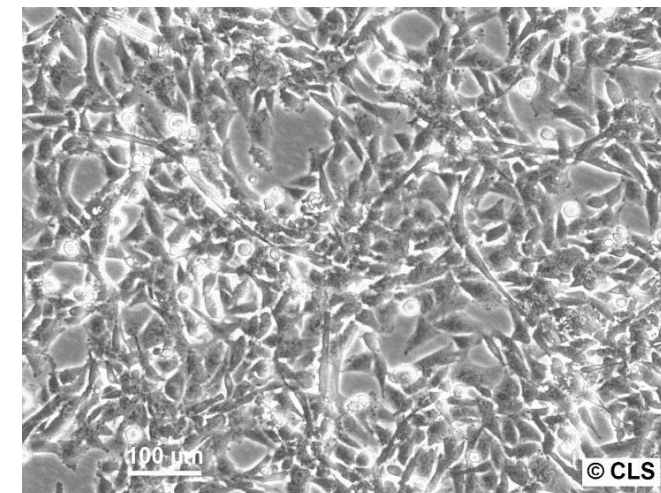
Zahrnuje několik kroků:

- 1) příprava zásobních roztoků
- 2) centrifugace
- 3) neutralizace
- 4) separace
- 5) očkování na tkáňové kultury



WHO/Europe strengthens health security through Polio Laboratory Network

Buněčná linie RD



Zdroj: Cytion

Environmentální surveillance

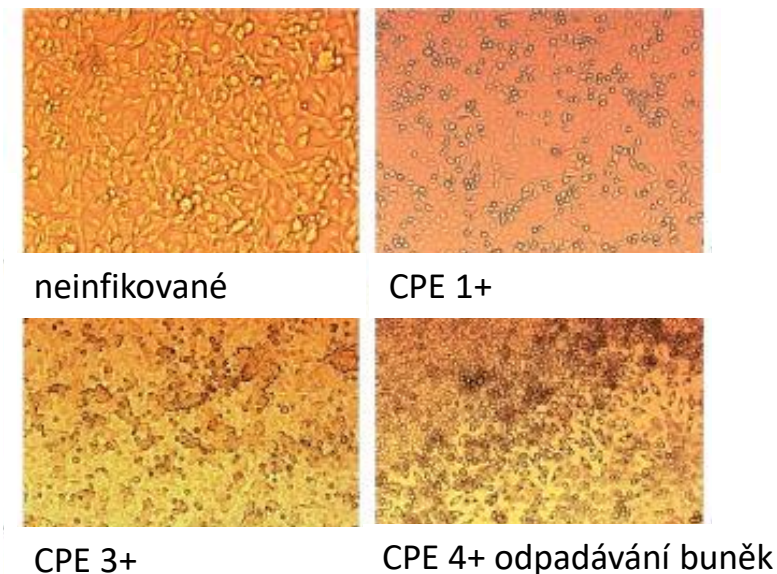
Očkování na tkáňové kultury:

- **RD** – buněčná linie získaná z lidského rhabdomyosarkomu
- **L20B** – buněčná linie myších geneticky upravených buněk s lidskými receptory pro poliovirus

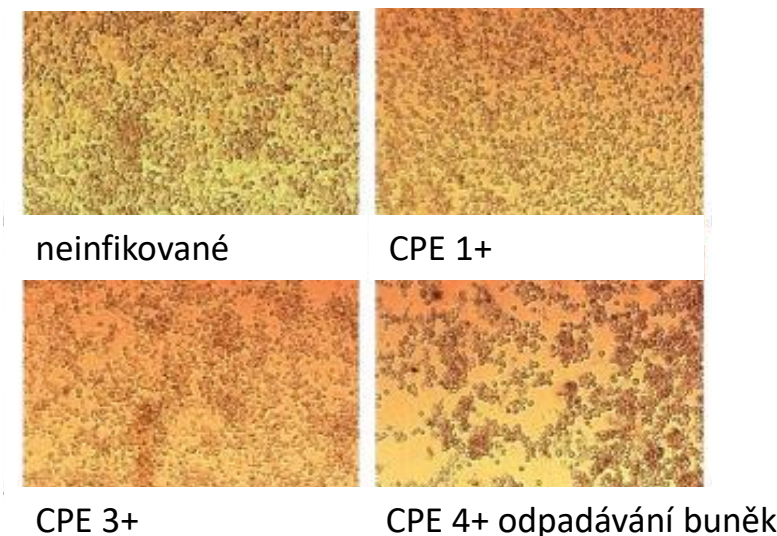
Cytopatický efekt (CPE: 1+ až 4+), projev množení viru, typické degenerativní změny bb.

- *zakulacování*
- *shlukování*
- *odpadávání*

RD



L20B



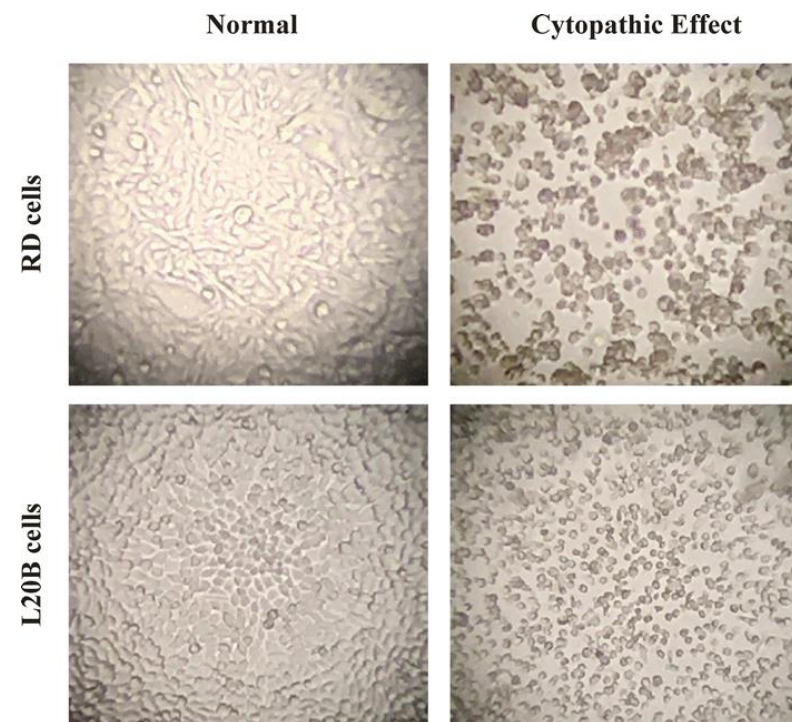
Environmentální surveillance

Obě buněčné linie se inokulují současně, po dobu 5 dní se sleduje CPE, provádějí se 2 pasáže, jsou-li oba typy buněčných linií pozitivní, do 7 dní odeslání do RRL v Helsinkách k sekvenaci.

Interpretace pozitivního CPE na tkáňových kulturách:

- | | | |
|-----------------|--------------------------|-----------------------------|
| • L20B +/RD+ | PV | → RRL Helsinky
sekvenace |
| • RD+/L20B+/RD+ | PV | |
| • RD+/L20B- | NPEV | |
| • L20B+/RD- | reoviry, adenoviry, NPEV | |

Konfirmace v NRL: PCR, ITP – multiplex PCR



Environmentální surveillance

Materiály se zachyceným poliovirem (L20B+ a RD+) – závěrečný proces:

- intratypická diferenciace (ITD – multiplex PCR) - NRL pro enteroviry (L20B+)
- sekvenace - RRL Helsinky

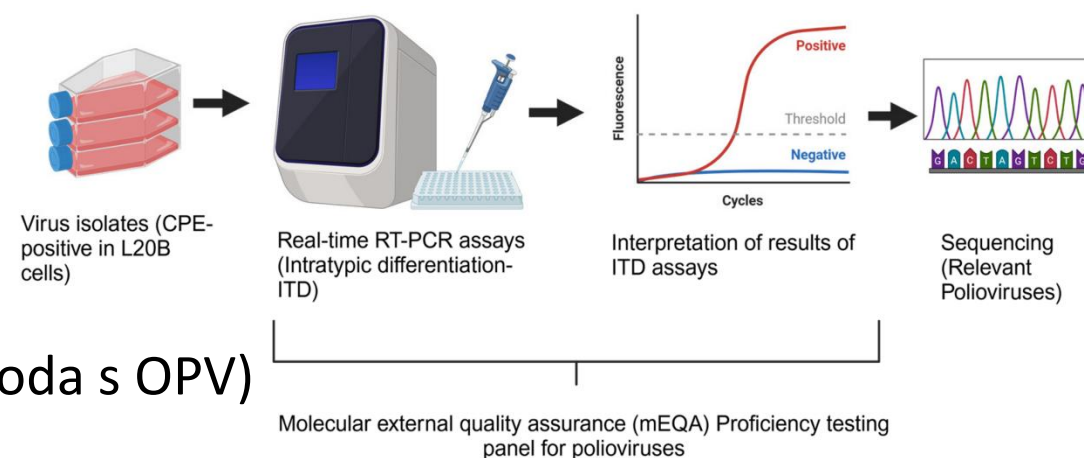
Informace z RRL do NRL o typu polioviru (PV):

Vakcinální PV - Sabin (atenuované kmeny OPV)

OPV-like virus (> 99% < 100% shoda s OPV)

VDPV – z vakcíny derivovaný PV (> 82% < 99% shoda s OPV)

Divoký PV (< 82% shoda s OPV)



NRL pro enteroviry ihned informuje o záchytu PV a dodatečně nahlásí výsledek z RRL

- KHS nebo ZÚ, odboru epidemiologie MZČR, Národní komisi pro certifikaci polioeradikace

Environmentální surveillance - 2024

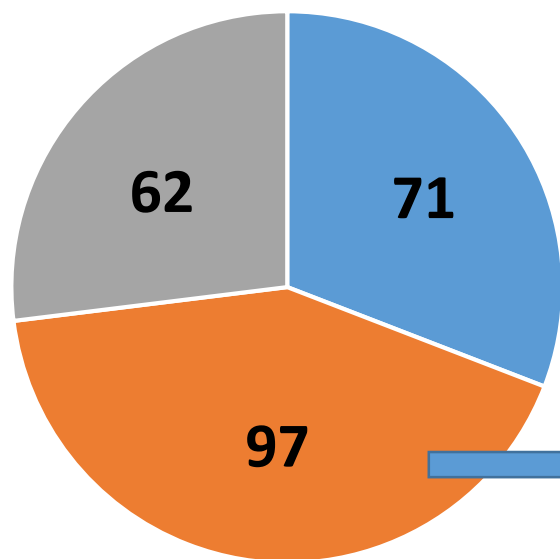
V roce 2024 testováno 230 vzorků odpadních vod z 20 odběrových míst

- v žádném vzorku nebyl zachycen poliovirus
- 62 non-polio-enterovirus negativních (27 %)
- 168 non-polio-enterovirus pozitivních (73 %) z nich:
 - 71 non-polio-enterovirus neviabilních nepodařila se kultivace na buněčných kulturách (pozitivní jen v PCR)
 - 97 non-polio-enterovirus viabilních úspěšná kultivace na buněčných kulturách, u 26 z nich se podařila sekvenace, nejčastěji zachycen enterovirus E 11



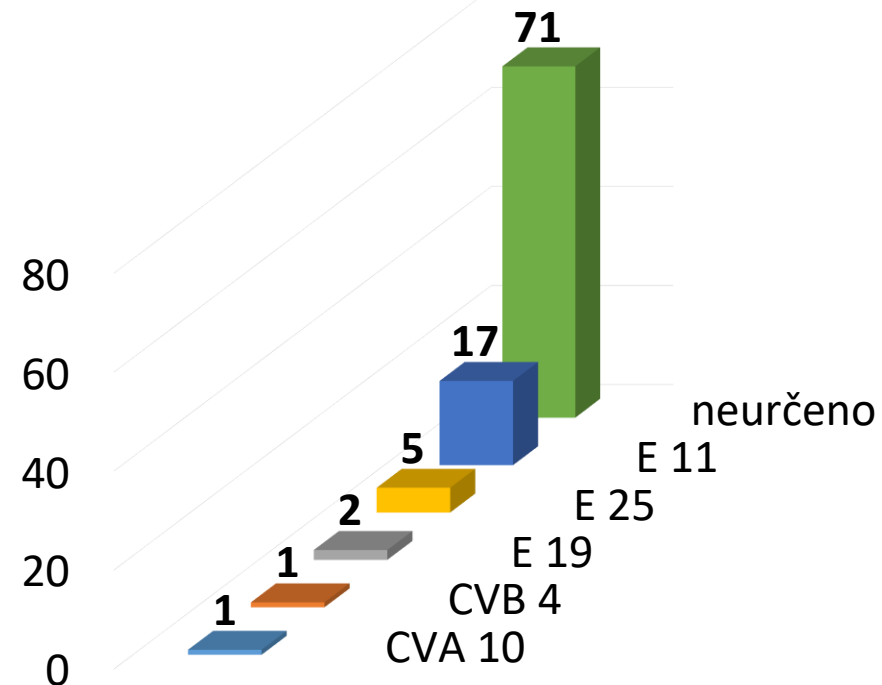
Zdroj: Pražské vodovody a kanalizace

Environmentální surveillance v ČR – 2024



- neviabilní enteroviry
- viabilní enteroviry
- negativní enteroviry

Viabilní enteroviry, sekvenace



- CVA 10
- CVB 4
- E 19
- E 25
- E 11
- neurčeno

Environmentální surveillance - 2025

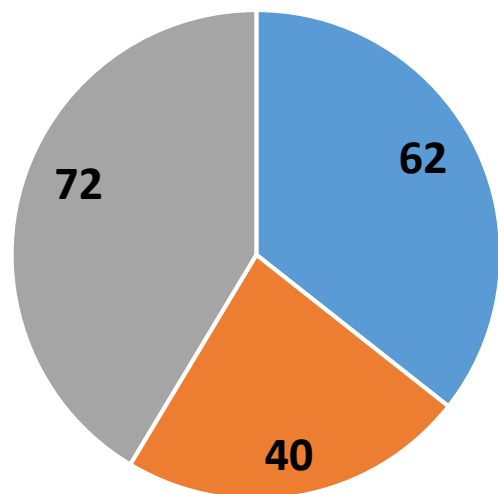
V roce 2025 testováno 174 vzorků odpadních vod z 24 odběrových míst

- v žádném vzorku nebyl zachycen poliovirus
- 72 non-polio-enterovirus negativních (41 %)
- 102 non-polio-enterovirus pozitivních (59 %) z nich:
 - 62 non-polio-enterovirus neviabilních nepodařila se kultivace na buněčných kulturách (pozitivní jen v PCR)
 - 40 non-polio-enterovirus viabilních úspěšná kultivace na buněčných kulturách, u 6 z nich se podařila sekvenace, nejčastěji zachycen enterovirus E 11



weka-ag.ch/en/applications/industry-and-trade/water-management

Environmentální surveillance v ČR – 2025



- neviabilní enteroviry
- viabilní enteroviry
- negativní enteroviry

Sekvenace :

4x E 11

2x E 6

Děkuji za pozornost

Kontakt

MUDr. Petra Rainetová

vedoucí NRL pro enteroviry, SZÚ

Tel.: 267082333

E-mail: petra.rainetova@szu.cz

