

# Monitoring koronaviru SARS-CoV-2 v odpadních vodách – co nám dosud ukázal a kam směřuje

Ve VÚV TGM, v. v. i., je od dubna 2020 prováděn monitoring přítomnosti koronaviru SARS-CoV-2 v odpadních vodách. Metoda průkazu je obdobná jako u klinických vzorků, tj. pomocí PCR je zjišťována přítomnost specifického fragmentu virové RNA. Významný rozdíl je v náročnosti úpravy vzorku odpadní vody, kdy je z ní nutné separovat čistou RNA s minimalizací ztrát jejího cílového množství. Analýzy provádí virologická laboratoř Výzkumného ústavu veterinárního lékařství (VÚVeL) v Brně, která má s detekcí virů v odpadních vodách dlouholeté zkušenosti. Stejný monitoring na vybraných ČOV byl prováděn v jarním období společností SOVAK, která zjištěná data poskytla do společného hodnocení. Vyhodnocení je prováděno ve spolupráci se Státním zdravotním ústavem (SZÚ), který ze zdravotnického sektoru zajistil údaje o počtech infikovaných osob v monitorovaných oblastech. V prvním kole monitoringu bylo odebráno celkem 137 vzorků nátoků na 40 čistírnách odpadních vod (ČOV) z celého území ČR. Pozitivní nález specifického fragmentu viru SARS-CoV-2 byl zjištěn u 28 % ČOV v 15 % vzorků.

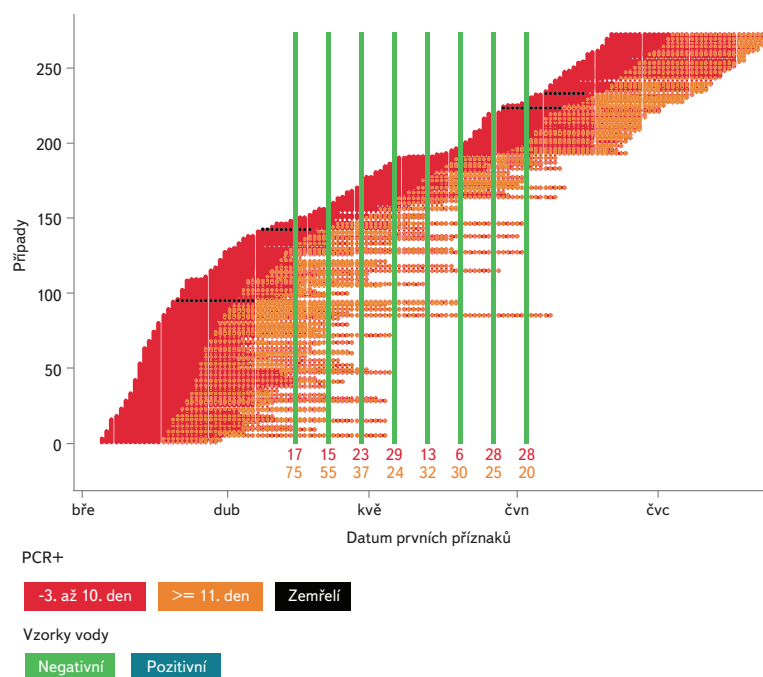
V současné době probíhá vyhodnocení jarního kola odběrů s využitím údajů o počtech infikovaných osob v konkrétních oblastech, které byly v průběhu monitoringu nedostupné. Data o osobách pozitivních na SARS-CoV-2 jsou získána z celostátního systému ISIN (Informační systém infekčních nemocí). Data do ISIN jsou vkládána z Krajských hygienických stanic. Ke grafickému zobrazení epidemiologické situace bylo využito datum prvních příznaků a předpoklad, že člověk je infekční až 3 dny před tímto datem a nejvíce viru vylučuje do 10. dne od prvních příznaků. U některých osob vylučování probíhá déle než 10 dní, což je v grafech zobrazeno slabší barvou. Délka se odvíjí od toho, zda je známo datum negativního PCR testu, pokud ne, je řada ukončena po 30 dnech. Pokud osoba zemřela, řada končí datem úmrtí. Grafy zobrazují výsledky monitoringu odpadních vod v konkrétních datech.

Monitoring pokračuje podzimním kolem odběrů vzorků odpadních vod, aby byly získány informace z druhé vlny epidemie, kdy jsou počty infikovaných osob řádově vyšší než v jarním období. Podíl infikovaných osob na počtu obyvatel napojených na sledované ČOV se na jaře pohyboval kolem 0,1 %, v podzimní vlně je to cca 2 %.

Za účelem zachycení nástupu další vlny zvýšeného výskytu onemocnění COVID-19 byla ze 40 sledovaných ČOV vybrána jedna středně velká ČOV, na níž je od dubna kontinuálně prováděn monitoring s frekvencí odběrů 1–2 týdny. Na této ČOV byla přítomnost virových fragmentů v jarním kole monitoringu prokázána ve 3 z 8 odběrů. Záchyt odpovídal 3–25 evidovaným infikovaným osobám z více jak 20 000 napojených obyvatel. V oblasti napojené na tuto ČOV bylo v době první vlny (do 7.7.2020) evidováno cca 60 infikovaných osob, tj. cca 0,3 % napojených obyvatel. V podzimní vlně zde počet infikovaných osob stoupl na cca 2 % (> 400 osob). Pozitivní nález virové RNA v odpadní vodě zde od jarní vlny nebyl zachycen. Příčinou může být rozdíl v průběhu nemoci v jarní a podzimní vlně, a tedy s možným menším množstvím virových částic, obsažených ve stolici nebo moči v lokalitě s intenzivním výskytem v jarní vlně.

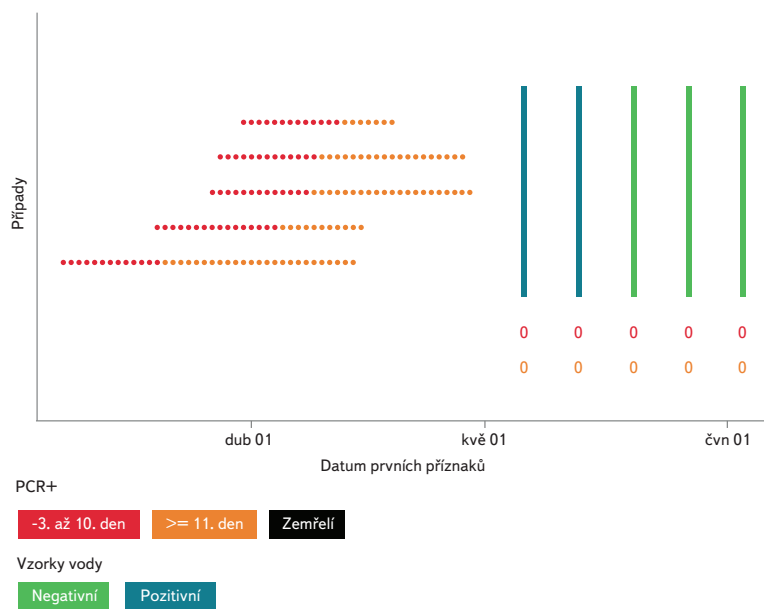
Dosavadní výsledky výzkumu nám potvrdily informace publikované, na začátku pandemie, nizozemskými vědci o výskytu virových fragmentů viru SARS-CoV-2 v nečistěných odpadních vodách. Jak vyplývá z klinických studií, je jejich pravděpodobným zdrojem trávicí a vylučovací systém člověka. Téma přítomnosti koronavirů ve střevech a moči však není dosud dostatečně klinicky probádáno, ale výzkum intenzivně pokračuje. Významný objev udělali vědci z Hubrechtova institutu v Utrechtu, kteří výzkumy na tkáňových kulturách potvrdili, že viry SARS-CoV-2 mohou infikovat buňky střev a množit se v nich. Tímto poznatkem se významně zvyšuje význam monitoringu odpadních vod a studium možné kontaminace vodního prostředí. Průkaz přenosu fekálně-orální cestou však dosud prokázán nebyl. Zatím nejsou známy údaje, zda se v tělních exkřech vyskytují fragmenty viru u všech infikovaných osob nebo zda záleží na průběhu a symptomech, v jakém množství, po jak dlouhou dobu, v které fázi nemoci a zda i u bezpříznakových jedinců. Důležitá je také konkrétní imunitní odpověď infikované osoby, která může probíhat různými mechanismy, z nichž některé mohou genom viru rozložit až na nedetekovatelné fragmenty. Lze tedy předpokládat, že neexistuje přímá úměra mezi počtem infikovaných osob a kontaminací odpadních vod virovými fragmenty.

Výsledky první vlny monitoringu přinesly, díky celkově velmi nízkému počtu infikovaných osob v ČR v první vlně epidemie, jedinečné výsledky, neboť umožnily zachytit dolní mez detekce zvolené metody. Pozitivní nález fragmentů SARS-CoV-2 byl stanoven u ČOV, kde byly aktuálně v daný den evidovány 1–3 infikované osoby z objemu odpadních vod od 6 000 do 12 000 napojených obyvatel. Vzhledem k předpokládanému časovému intervalu mezi

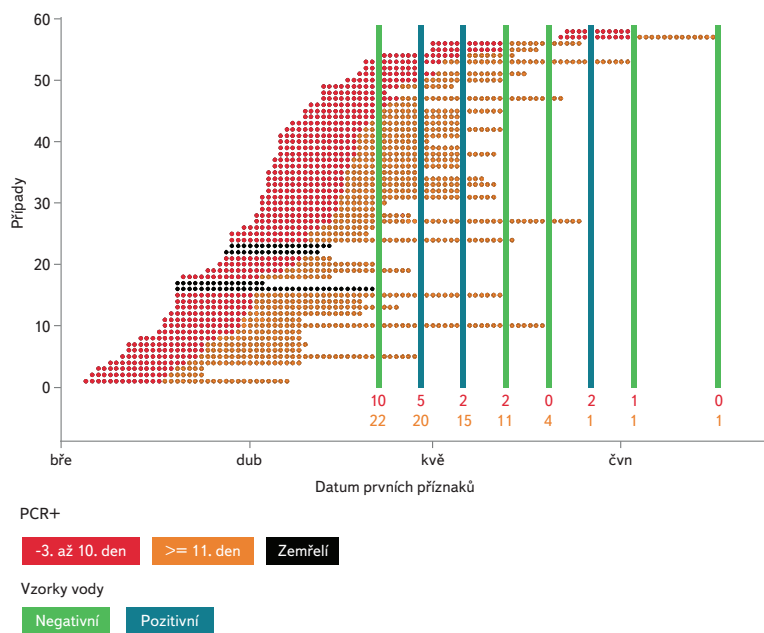


Obr. 1. Příklad ČOV s negativním nálezem viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě a pozitivním výskytem infikovaných osob

hlášením infekce a potenciálním vylučováním virů do odpadních vod, je zde vhodnější jako možné maximum použít kumulativní údaj o počtu infikovaných osob v dané lokalitě za celé jarní období (do 7.7.2020). Také v tomto případě byly v odpadních vodách zachyceny fragmenty virové RNA již od 3–5 infikovaných osob z objemu odpadních vod od 6 000 do 80 000 napojených obyvatel. Tato velmi nízká čísla ukazují na velmi vysokou citlivost metody. Při interpretaci dat je nezbytné vzít v úvahu další zjištěná fakta a souvislosti, která budou významná při návrhu systematického epidemiologického sledování odpadních vod.



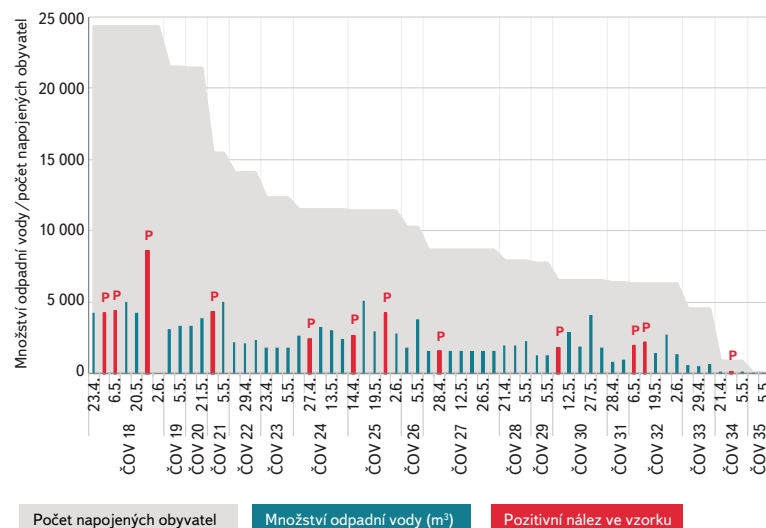
Obr. 2. Příklad ČOV s pozitivním nálezem viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě a negativním výskytem infikovaných osob v době odběru vzorků



Obr. 3. Příklad ČOV s pozitivním nálezem viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě a pozitivním výskytem infikovaných osob

Prvním faktem je zjištěná absence viru v odpadních vodách v lokalitách, kde byl evidován výskyt pozitivně testovaných osob (obr. 1). Příčinou může být velké naředění odpadních vod, tj. hledaná částice genomu nebyla do vzorku zachycena v detekovatelném množství nebo stavu (došlo např. k degradaci RNA pomocí enzymů štěpících RNA již před odběrem nebo při transportu vzorku). Dalším důvodem může být fakt, že se virové částice nedostaly do trávícího nebo vylučovacího systému infikovaných osob, jak bylo popsáno výše, nebo že se v době nemoci tyto osoby nevyskytovaly v místě, kde byly evidovány jako infikované (pobyt v zaměstnání, v rekreačních objektech apod.).

Druhým zajímavým faktem je pozitivní nález virových fragmentů v odpadních vodách v lokalitách, kde nebyly hlášeny žádné infikované osoby (obr. 2). Tento případ lze vysvětlit přítomností neevidovaných infikovaných osob, tj. buď bezpříznakových, nenahlášených, nebo evidovaných v jiném místě než skutečně pobývaly.



Obr. 4. Počet napojených obyvatel a množství odpadních vod u sledovaných ČOV s pozitivním nálezem SARS-CoV-2

Pro vývoj systému včasného varování budou nejdůležitější výsledky z lokalit, kde byly nalezeny pozitivní vzorky odpadních vod a hlášena přítomnost pozitivně testovaných osob (obr. 3). Pro správnou interpretaci těchto výsledků je třeba důrazně akceptovat rozdíly mezi typy a charakterem čistíren odpadních vod, neboť ne všechny jsou vhodné pro epidemiologické prognózy. Čistírny odpadních vod se liší především množstvím odpadních vod, které jsou na ně přiváděny; počtem napojených obyvatel; délkou a větvením kanalizační sítě a ve většině případů zpracováním kombinace komunálních a průmyslových odpadních vod (obr. 4). U velkých ČOV je nutné brát ještě zřetel na napojování dílčích stok a odebírat vzorky z více míst.

Na komplikovanou interpretaci výsledků monitoringu odpadních vod, ze stejných důvodů, upozornili i nizozemští kolegové (<https://www.waternewseurope.com/netherlands-covid-19-sewage-measurements-difficult-to-interpret/>), kteří jako první přišli s myšlenkou využití odpadních vod k epidemiologickému monitoringu.

První kolo monitoringu odpadních vod, prováděné v jarní vlně epidemie nemoci COVID-19, přineslo řadu zajímavých výsledků, které budou velmi cenné a nezbytné pro další práci na tvorbě systému, jehož cílem bude včasné zachycení varovného signálu nastupující epidemiologické situace v ČR a lokalizace rizikových míst. Tento cíl, spolu s optimalizací metodiky detekce viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách, bude v letech 2021–2022 řešen v rámci projektu „Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace“, který byl podpořen ve 4. veřejné soutěži „Programu bezpečnostního výzkumu České republiky v letech 2015–2022“ (BV III/1-VS).

Hlavními výstupy projektu budou dvě metodiky: „Metodika využití monitoringu rizikových biologických agens a biomarkerů v komunálních odpadních vodách jako nástroje pro včasné epidemiologické varování“ a „Metodika detekce vybraných rizikových mikrobiologických agens pomocí PCR v odpadních vodách“. Metodiky budou nabídnuty kompetentním složkám státu k využití v praxi.

## Autoři

**RNDr. Hana Mlejnková, Ph.D.<sup>1</sup>**

✉ hana.mlejnkova@vuv.cz

**Mgr. Kateřina Sovová, Ph.D.<sup>1</sup>**

✉ katerina.sovova@vuv.cz

**Ing. Věra Očenášková<sup>1</sup>**

✉ vera.ocenaskova@vuv.cz

**Ing. Eva Juranová<sup>1</sup>**

✉ eva.juranova@vuv.cz

**Mgr. Lucie Jašíková, Ph.D.<sup>1</sup>**

✉ lucie.jasikova@vuv.cz

**Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D.<sup>2</sup>**

✉ vasickova@vri.cz

**RNDr. Alena Fialová, Ph.D.<sup>3</sup>**

✉ alena.fialova@szu.cz

<sup>1</sup>Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i.

<sup>2</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

<sup>3</sup>Státní zdravotní ústav