

Využití monitoringu viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách z ČOV různých kategorií pro sledování vývoje epidemické situace v ČR

HANA ZVĚŘINOVÁ MLEJNKOVÁ, LUCIA GHARWALOVÁ, KATEŘINA SOVOVÁ, PETRA VAŠÍČKOVÁ, JAKUB HRDÝ, MAGDALÉNA KRÁSNA, VĚRA OČENÁŠKOVÁ, VLADIMÍR BENCKO, MILAN TUČEK, MILENA BUŠOVÁ, EVA JURANOVÁ

Klíčová slova: monitoring odpadních vod – SARS-CoV-2 – RT-qPCR – ČOV – epidemiologická data

SOUHRN

Princip diagnostiky odpadních vod je vhodným doplňkovým přístupem, který může pomoci neinvazivním způsobem získat epidemiologické informace o velké části populace. Průběh pandemického rozšíření nového koronaviru (SARS-CoV-2) vykazuje od roku 2020 cyklický průběh po sobě následujících vln šíření onemocnění covid-19. Pro tento model se jako velmi efektivní přístup nabízí systematická detekce výskytu jejího původce v odpadních vodách.

V rámci studie jsme provedli v období od dubna 2020 do ledna 2022 monitoring koronaviru SARS-CoV-2 v odpadních vodách z vybraných čistíren odpadních vod (ČOV) v ČR. Současné poznatky a závěry probíhajících studií jednoznačně ukázaly, že monitoring odpadních vod může být při jeho cíleném a systematickém provádění vhodným doplňkem pro formulaci epidemiologických prognóz, návrhy opatření, a tím ochranu veřejného zdraví. Naše výsledky navíc prokázaly, že k epidemiologické diagnostice odpadních vod jsou vhodné ČOV všech kategorií. Při systematickém epidemiologickém přístupu k odpadním vodám (z angl. „Wastewater-Based Epidemiology“; WBE) však bude nutné důsledně akceptovat rozdíly mezi typy a účely prováděného monitoringu, charakterem odpadních vod a specifiky odběrových míst.

ÚVOD

Odpadní vody jsou recipientem všech odpadních látek a metabolických produktů vylučovaných člověkem. Za předpokladu, že nedošlo k jejich rozkladu, jsou v nich při použití vhodných metod tyto látky detekovatelné. Platí to i pro patogenní agens a jiné specifické markery, jejichž detekce v odpadních vodách je jedním z cílů diagnostiky odpadních vod. Účelem je získání informací o studované populaci nebo konkrétní komunitě. Tento alternativní přístup, využívající odpadní vody jako skupinové diagnostické médium, aktuálně pomáhá k eradikaci dětské obrny (poliomyelitidy). Tato infekční choroba byla na některých kontinentech eliminována, stále je však potřeba pokračovat v celosvětovém očkování. V ČR byla dětská obrna zcela eradikována v roce 1961 [1]. V současné době probíhá podle pokynů WHO v rámci celosvětového programu polioeradikace vyšetřování výskytu poliovirů v odpadních vodách v osmi městech a utečeneckých táborech v ČR [2]. V nemedicínských oborech jsou odpadní vody využívány ke stanovení markerů životního stylu (např. drogy

a jiné návykové látky, výrobky osobní péče, léčiva apod.), a to globálně, nebo v problémových lokalitách.

Krátce po propuknutí pandemie covid-19 se ukázalo, že vznik ohnisek nákazy není možné dostatečně efektivně sledovat pomocí současných epidemiologických přístupů, kdy jsou infikovaní jedinci identifikováni na základě klinických projevů. Průběh pandemického rozšíření koronaviru SARS-CoV-2 vykazuje od roku 2020 cyklický průběh po sobě následujících vln šíření nemoci covid-19. Pro zavádění účinných opatření v boji s epidemií je vhodné využít epidemiologický přístup k WBE. V České republice se aktuálně nachází 3 166 ČOV, čímž je možné podchytit situaci pro cca 80 % jejich obyvatel [3].

U vzorků prostředí, jako jsou i odpadní vody, existuje předpoklad výskytu sledovaných agens i ve velmi nízkých koncentracích. Proto je vhodné k vlastní analýze použít větší množství vzorku a před izolací nukleových kyselin provést krok, který umožní zakonzentrování daných agens, v našem případě virů. Tento postup však může být zdrojem zvýšené chybovosti, proto musí být každý krok analýzy přísně kontrolován.

METODIKA

Odběry vzorků odpadních vod z ČOV probíhaly od dubna 2020 a jsou plánovány do dubna 2022. Vzorky byly odebírány z 66 ČOV různých velikostí v různém časovém režimu. V této práci prezentujeme výsledky osmi vybraných ČOV s odlišným počtem napojených obyvatel (NO) za období duben 2020 až leden 2022: Buchlovice (2 340 NO); Slavkov u Brna (6 500 NO); Tišnov (11 500 NO); Přerov (41 000 NO); Kladno (80 000 NO); Brno (cca 426 000 NO) a ÚČOV Praha NVL (nová vodní linka) a SVL (stávající vodní linka), obě cca 600 000 NO.

V počátečních fázích byly využívány různé způsoby odběru vzorků podle aktuálních možností. Postupně byl odběr optimalizován tak, aby byly zajištěny co nejreprezentativnější vzorky. Byly provedeny časové experimenty, kdy se odebírala série 24 směsných hodinových vzorků (slévané čtyři objemově shodné vzorky odebírané po 15 min) získaných během 24 hodin na ČOV Brno. Ve vzorcích byly kromě RNA SARS-CoV-2 stanovovány vybrané chemické a fyzikálně-chemické ukazatele (CHSK-Cr, N-NH₄, o-PO₄, nerozpuštěné látky sušené, fekální koliformní bakterie a enterokoky). Tyto experimenty ukázaly, že nejkoncentrovanější odpadní voda je na ČOV mezi 5. a 23. hodinou. Na základě

tohoto zjištění bylo odzkoušeno vzorkování odpadní vody v kratších intervalech (15 min) v uvedeném časovém rozmezí a porovnáno s běžným 24hodinovým odběrem [4].

V současné etapě vzorkování byly pomocí automatických vzorkovačů odbírány smíšené 24hodinové vzorky nečistěných odpadních vod za hrubým mechanickým předčištěním (česle). Odebrané vzorky byly uchovávány chlazené a zpracovány do 48 hodin po odběru nebo zamrazeny na -70°C .

Detekce viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách

Ve spolupráci výzkumných laboratoří VÚVeL Brno a VÚV TGM byl vypracován metodický postup analýzy odpadních vod, který zahrnuje přesně definovaný systém kontrolních bodů tak, aby byla zajištěna řádná a validní analýza jednoho každého vzorku. Tyto body zahrnují:

1. Kontrolu odběru vzorků odpadních vod včetně jejich transportu při vhodných podmínkách (ideálně: chlazené na $3 \pm 2^{\circ}\text{C}$, do 48 hodin) do analytických laboratoří.
2. Kontrolu úpravy odpadních vod, tzn. zakoncentrování virových částic z definovaného objemu vzorku a následující izolaci nukleových kyselin. Tato externí kontrola analýzy umožňuje také určit účinnost celého postupu, čímž je zaručena přesnější kvantifikace SARS-CoV-2, resp. jeho genomových ekvivalentů (GE) ve sledovaných vzorcích.
3. Kontrolu vlastního průběhu detekčního a kvantifikačního kroku SARS-CoV-2 (GE) ve sledovaných vzorcích s použitím reverzní transkripční polymerázové řetězové reakce v reálném čase (RT-qPCR).

Tento metodický postup, který byl schválen Ministerstvem zdravotnictví [5], spočívá v zakoncentrování 500 ml vzorku odpadní vody použitím polyetylenoglykolu (PEG) a chloridu sodného. K izolaci RNA je použita běžně komerčně dostupná souprava QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Německo), izolaci RNA je možno i plně automatizovat. Kvantitativní detekce RNA viru SARS-CoV-2 je prováděna metodou RT-qPCR cílenou na tři nezávislé detekční cíle v genomu viru (dva cíle genu N a oblast kódující nestrukturální protein nsp12). Citlivost (limit detekce) celého metodického postupu (tzn. od počátečního zakoncentrování vzorku odpadních vod až po vlastní kvantitativní stanovení GE SARS-CoV-2) je 2,5 virových částic (GE) v 1 ml odpadní vody, průměrná účinnost postupu je 36 %. Analýzy byly prováděny v laboratořích VÚVeL Brno a brněnského pracoviště VÚV TGM.

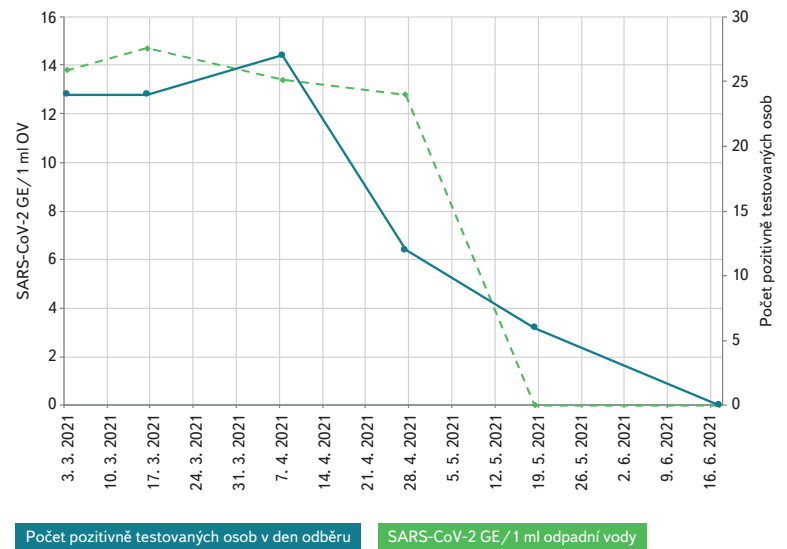
Vyhodnocení dat

Získaná data byla korelována s počty osob s pozitivním testem na SARS-CoV-2 v monitorovaných oblastech, tj. městech a obcích napojených na příslušné ČOV. Epidemiologická data byla získána z Oddělení biostatistiky SZÚ z celostátního Informačního systému infekčních nemocí (ISIN). Do hodnocení byly zahrnuty osoby 10 dnů před datem prvních příznaků do 3. dne po provedeném PCR testu, tj. 14denní interval. Pro předběžná hodnocení byla používána veřejná data získaná z covid map, jež čerpají údaje z otevřených datových sad Ministerstva zdravotnictví. Tato data jsou často zatížena chybou a neobsahují počty obyvatel v menších připojených obcích.

VÝSLEDKY A DISKuze

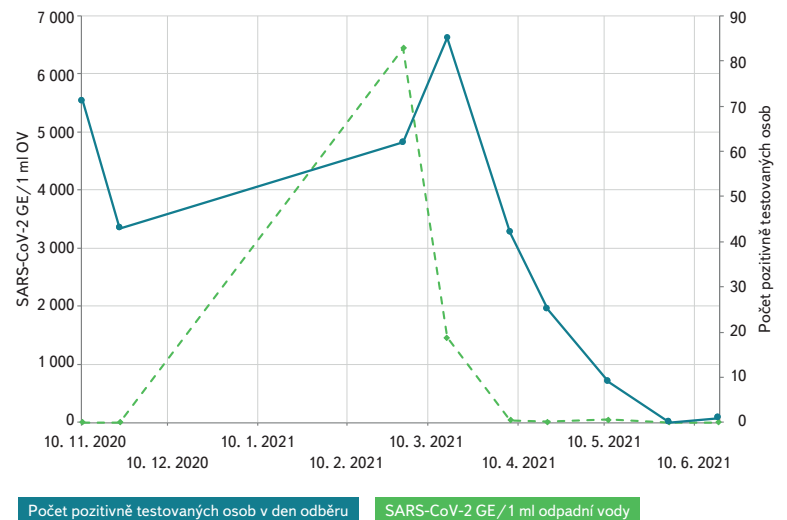
V rámci studie bylo z celkově sledovaných 66 ČOV vybráno osm ČOV různých velikostních kategorií, od ČOV s 2 340 napojenými obyvateli (NO) po dvě vodní linky ústřední ČOV v Praze (ÚČOV) s více než 600 000 napojenými obyvateli. Tyto ČOV byly použity k hodnocení využitelnosti zvoleného přístupu pro predikci trendů výskytu onemocnění a zachycení možného nástupu epidemie. Vybrané ČOV se lišily také charakterem přiváděných odpadních vod. Srovnání množství GE viru SARS-CoV-2 v zamrazených vzorcích nečistěných odpadní vody a počtů pozitivně testovaných osob na jednotlivých ČOV jsou uvedeny na obr. 1 až 8.

Nejmenší z hodnocených čistíren byla ČOV Buchlovice, na kterou je napojeno 2 340 obyvatel, kapacita odpovídá 2 756 ekvivalentním obyvatelům (EO). ČOV byla sledována na podzim roku 2020 a na jaře 2021. Přítok odpadní vody se pohyboval od 570 do 700 m^3/den .



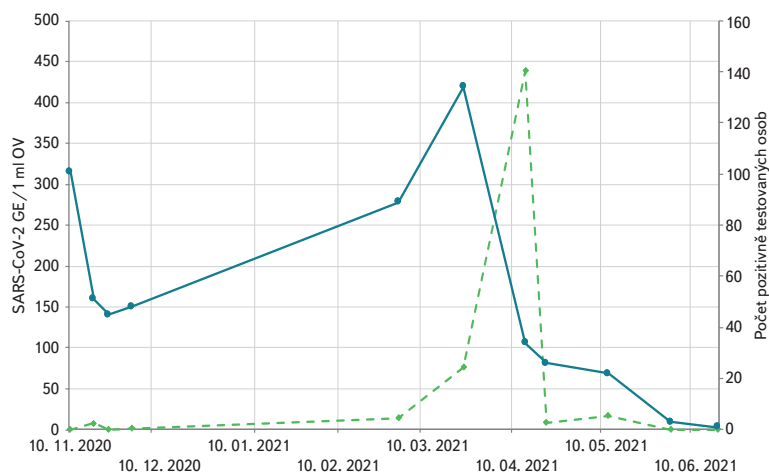
Obr. 1. Porovnání počtu pozitivně testovaných osob a množství GE SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Buchlovice (2 340 napojených obyvatel)

Fig. 1. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Buchlovice WWTP (2 340 connected people)



Obr. 2. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Slavkov u Brna (6 500 napojených obyvatel)

Fig. 2. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Slavkov u Brna WWTP (6 500 connected people)



Počet pozitivně testovaných osob v den odběru SARS-CoV-2 GE/1 ml odpadní vody

Obr. 3. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Tišnov (11 500 napojených obyvatel)
Fig. 3. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Tišnov WWTP (11 500 connected people)

Z kategorie do 10 000 EO byla sledována ČOV Slavkov u Brna, na niž je napojeno 6 500 obyvatel, kapacita odpovídá 9 451 EO. ČOV byla sledována na podzim roku 2020 a na jaře 2021. Přítok odpadní vody se pohyboval od 1 200 do 4 000 m³/den.

Z kategorie 10 000–100 000 EO byla sledována ČOV Tišnov, na kterou je napojeno 11 440 obyvatel, kapacita odpovídá 18 000 EO. ČOV byla sledována na podzim roku 2020 a na jaře 2021. Přítok odpadní vody se pohyboval od 2 400 do 5 100 m³/den.

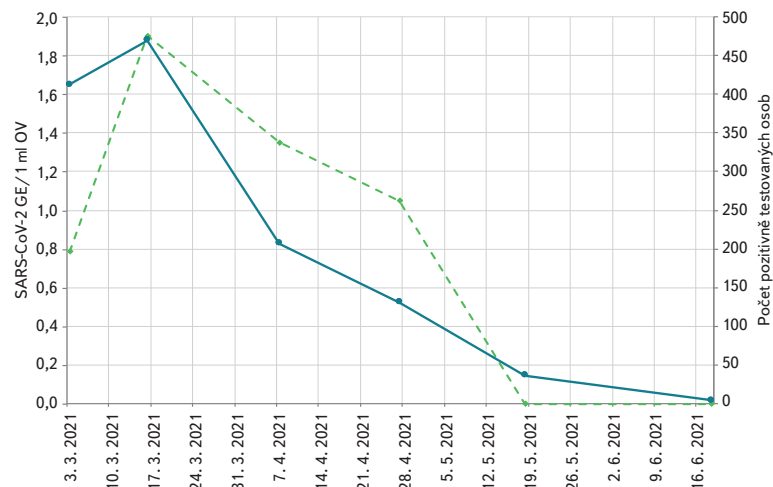
Další čistírna z kategorie 10 000–100 000 EO byla ČOV Přerov, na kterou je napojeno 41 440 obyvatel a jejíž kapacita odpovídá 112 170 EO, byla sledována na podzim roku 2020 a na jaře 2021. Přítok odpadní vody se pohyboval od 9 980 do 16 700 m³/den.

Poslední vybraná čistírna z kategorie 10 000–100 000 EO byla sledována v Kladně-Vrapicích. Na tuto ČOV je napojeno 80 000 obyvatel, kapacita odpovídá 85 000 EO. Monitoring probíhal na podzim roku 2020 a od dubna 2021 do ledna 2022. Přítok odpadní vody se v tomto období pohyboval od 8 300 do 14 000 m³/den.

Větší ČOV, z kategorie nad 100 000 EO, reprezentovala ČOV Brno (Modřice). Na tuto ČOV je napojeno 426 500 obyvatel, kapacita odpovídá 640 000 EO. ČOV byla sledována od podzimu 2020 do ledna 2022. Přítok odpadní vody se ve sledovaném období pohyboval od 64 000 do 250 000 m³/den.

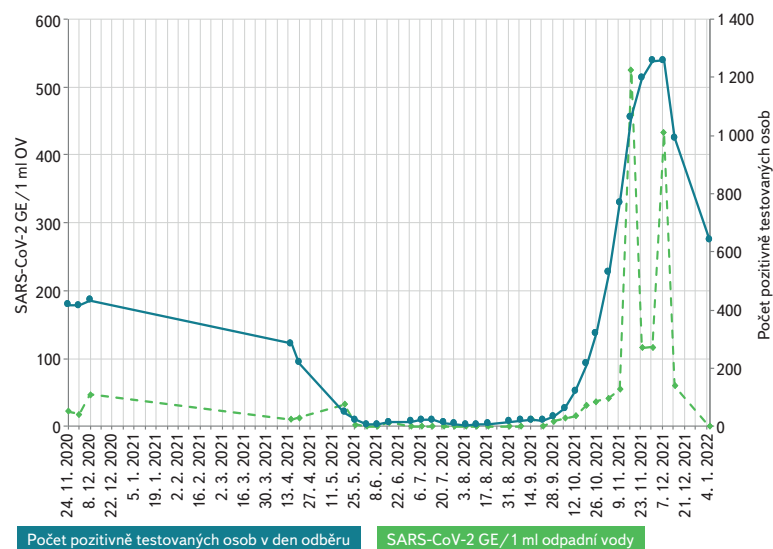
Mezi sledované čistírny byla zařazena také ÚČOV v Praze, tvořená dvěma vodními linkami – novou (NVL) a stávající (SVL). Na ÚČOV je napojeno celkem 1 297 000 obyvatel Prahy (1 746 500 EO), přičemž každá z obou vodních linek obsluhuje cca polovinu z nich. ÚČOV v Praze byla sledována na podzim roku 2020, na jaře 2021 a od srpna 2021 do ledna 2022. Přítok odpadní vody se pohyboval od 81 200 do 215 000 m³/den.

Průběžné výsledky studie uvedené v grafech ukazují na dobrou korelaci mezi množstvím virové RNA v odpadní vodě a počty pozitivně testovaných osob (pozitivní osoby v grafech jsou započteny od 10. dne před datem prvních příznaků do 3. dne po provedení testu). Kopírování trendu obou křivek je patrné u všech velikostních kategorií ČOV, přičemž hodnota spolehlivosti je až 0,9. Prezentované výsledky jsou postupně zpřesňovány doplňováním epidemiologických údajů a výsledků dalších zanalyzovaných zamražených vzorků. Údaje, jež jsou nyní k dispozici, sice neukazují přímou závislost mezi počty infikovaných osob a údaji o množství GE SARS-CoV-2 v odpadní vodě pro



Počet pozitivně testovaných osob v den odběru SARS-CoV-2 GE/1 ml odpadní vody

Obr. 4. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Přerov (41 000 napojených obyvatel)
Fig. 4. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Přerov WWTP (41 000 connected people)



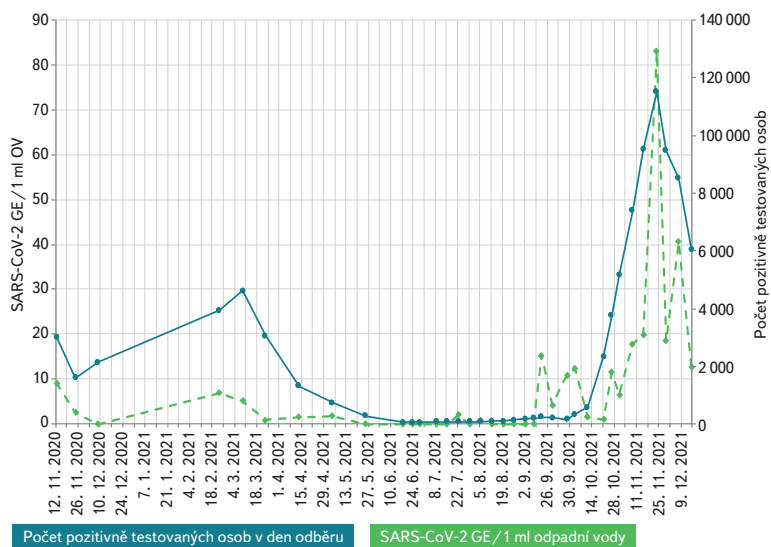
Počet pozitivně testovaných osob v den odběru SARS-CoV-2 GE/1 ml odpadní vody

Obr. 5. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Kladno (80 000 napojených obyvatel)
Fig. 5. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Kladno WWTP (80 000 connected people)

jednotlivé ČOV, ale prokazatelně postihují trendy vývoje počtu pozitivně testovaných osob, a jsou tedy dobře využitelné pro odhad prevalence na základě porovnání s předchozími vlnami epidemie (obr. 1–8).

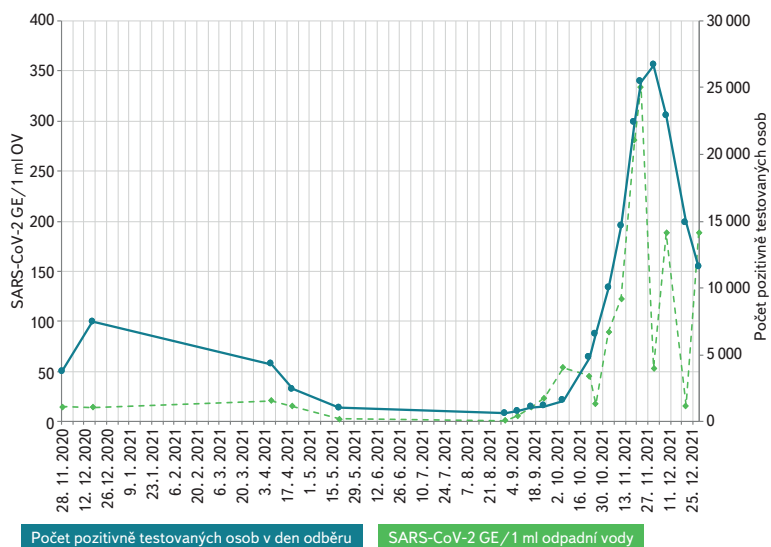
Citlivost metody je závislá na skupině faktorů, které ovlivňují charakter odpadní vody, tj.:

1. aktuální množství odpadní vody, jež ovlivní naředění virové RNA ve vzorku,
2. aktuální podíl průmyslových, dešťových a komunálních odpadních vod,
3. reprezentativnost a homogenita odebraného vzorku,
4. týdenní režim odběru vzorků (rozdíly v rámci pracovních dnů/víkendu),



Obr. 6. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Brno (626 000 napojených obyvatel)

Fig. 6. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Brno WWTP (626 000 connected people)

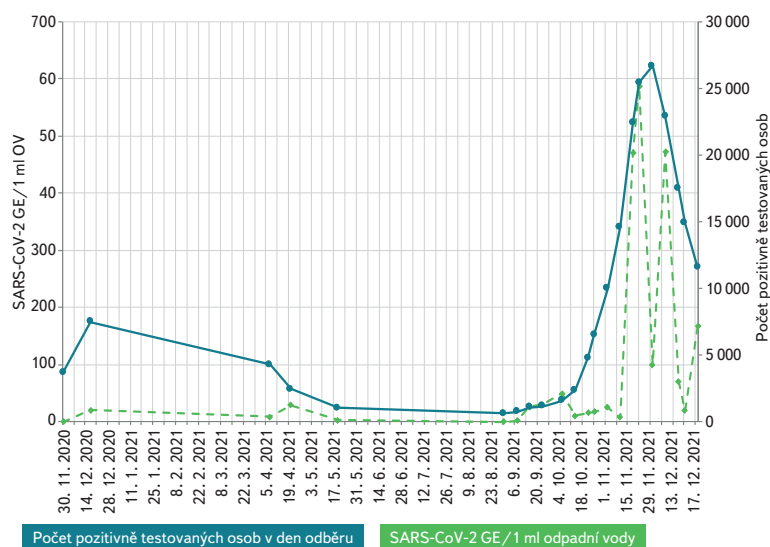


Obr. 7. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z NVL ÚČOV Praha (cca 600 000 napojených obyvatel)

Fig. 7. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from the new water line of Praha WWTP (about 600 000 connected people)

5. délka a větvení kanalizační sítě (degradace RNA před přítokem na ČOV včetně vlivu teploty a pH vody v kanalizaci) aj.

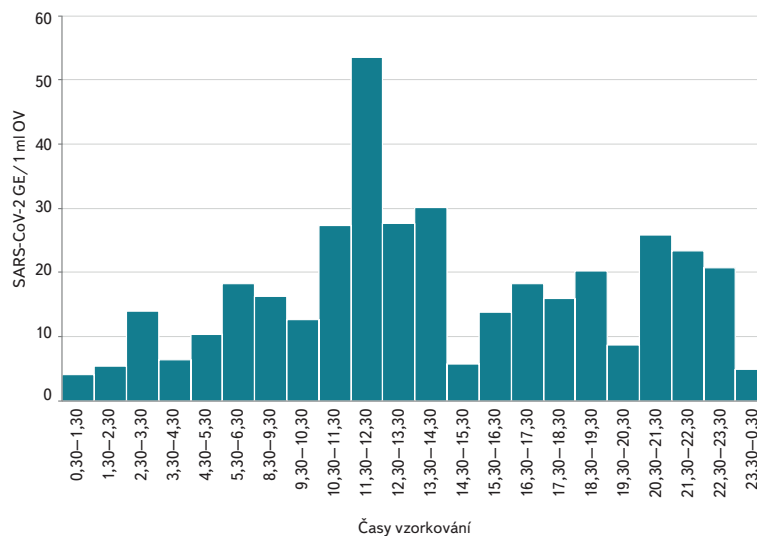
Vliv na korelaci obou skupin údajů má též robustnost epidemiologických dat, která jsou ovlivněna aktuálním epidemickým režimem. Ten určuje množství osob, jež jsou testovány, tj. četnost a způsob testování, mobilitu osob, množství prováděných testů atd. Dalším faktorem je dosud nedostatečně prozkoumaný údaj o podílu osob vylučujících viry trávicím nebo vylučovacím systémem a o příspěvku od bezpříznakových jedinců.



Obr. 8. Porovnání počtů pozitivně testovaných osob a množství GE viru SARS-CoV-2 v odpadní vodě z SVL ÚČOV Praha (cca 600 000 napojených obyvatel)

Fig. 8. Comparison of numbers of positive tested persons and amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from the current water line of Praha WWTP (about 600 000 connected people)

Často je velmi obtížné odhadnout množství viru v surových odpadních vodách kvůli nedostatku informací o hodinových, a dokonce sezonních změnách obsahu virových agens v odpadních vodách. Vzorkování slévaných hodinových vzorků z ČOV Brno, které bylo realizováno v říjnu 2021, ukázalo časové úseky, v nichž bylo v nátoky na ČOV detekováno největší množství virové RNA (obr. 9). Výsledky časového monitoringu RNA SARS-CoV-2 prokázaly možnost účelového použití zkráceného režimu vzorkování (např. mezi 5. a 23. hodinou), především je-li pro účely sekvenace potřebné získat vzorky s vyššími koncentracemi virové RNA. V případě, že není možné pro analýzu zajistit 24hodinové směsné vzorky a je nutno přistoupit k bodovému odběru, je preferován odběr v dobách, kdy je fekální zatížení nejvyšší.



Obr. 9. Porovnání množství GE SARS-CoV-2 v odpadní vodě z ČOV Brno v hodinových intervalech během 24 hodin (11. říjen 2021)

Fig. 9. Comparison of the amount of GE SARS-CoV-2 in wastewater from Brno WWTP at hourly intervals during 24 hours (11. October 2021)

Vysoká citlivost metody je patrná ze zjištění, že v odpadních vodách menších ČOV byl pozitivní nález virové RNA již pro jednotky až desítky osob zachycených klinickým PCR testováním (např. Buchlovice 12 osob; Slavkov 9 osob; Tišnov 3 osoby), u větších ČOV byly zachyceny desítky až stovky pozitivně testovaných osob (Brno 86 osob; Kladno 14 osob; Přerov 131 osob). V pražské ÚČOV, jež byla monitorována pouze v obdobích s vyšší prevalencí, byl zaznamenán pozitivní nález RNA pro > 600 osob. Výsledky odrážejí faktor naředení odpadních vod dešťovou či průmyslovou vodou, který je nutné zohlednit při správné interpretaci dat.

Výsledky studie odpovídají zjištěním výzkumníků v jiných zemích, kde se WBE monitoring SARS-CoV-2 aktivně rozvíjí s cílem rozšířit možnosti účinných opatření v boji proti šíření infekčních nemocí. Prioritně je monitoring ve světě cílen na velké ČOV [6]. V mnoha zemích jsou však sledovány i menší ČOV, městské části nebo jednotlivé budovy [7, 8].

V některých zemích je WBE přístup již aplikován v praxi, např. v USA na vysokoskolských kolejích v Carolině se podařilo nalézt asymptomatické infikované studenty, kteří by jinak nebyli detekováni. V Nizozemsku zdravotníci používají údaje z odpadních vod k určení, kam poslat své mobilní testovací autobusy. V Austrálii, kde byl počet případů relativně nízký, pomohlo monitorování odpadních vod ujistit úřady, že jejich kontroly pandemie fungují [9].

Při zvažování potenciálních omezení WBE pro dohled nad přítomností SARS-CoV-2 ve studované populaci je důležité vzít v úvahu řadu proměnných, jež určují kvantitativní schopnost WBE stanovit vztah mezi hladinami virové RNA v odpadních vodách a výskytem infekce v populaci. Hlavním omezením pro odhad SARS-CoV-2 v komunitě využívající WBE je nedostatek spolehlivých dat o míře vylučování RNA viru stolici a močí do odpadních vod. U asymptomatických jedinců je míra vylučování virů typicky mnohem nižší než u symptomatických pacientů. Kromě toho existuje několik proměnných, které ovlivňují rychlost vylučování, včetně doby trvání infekce, úrovně virémie, věku pacienta vedle stadia a závažnosti onemocnění. Užitečnou se jeví kombinace s klinickými daty testování při rozhodování v oblasti veřejného zdravotnictví [10, 11].

Další úvahou o využití WBE pro populační sledování šíření SARS-CoV-2 jsou etické aspekty, neboť WBE neposkytuje data týkající se jedince. Aby bylo možné posoudit akutní stav promoření populace, sledují se ideálně menší subpopulace pro vymezení oblasti ohniska. To vyvolává určité etické otázky, protože tyto oblasti mohou podléhat změnám zavedeným místně příslušnými orgány veřejného zdravotnictví, což může vést ke stigmatizaci chování místní populace, např. zvýšenou aktivitu osob, jež nechťejí podstoupit očkování [10–12].

Interval spolehlivosti WBE závisí na nejnižší možné úrovni prevalence virové RNA, kterou lze detekovat v odpadních vodách. Tato hodnota je opět určena řadou proměnných, včetně struktury místní kanalizační sítě, velikosti oblasti odběru vzorků, vylučovacího profilu jednotlivců a metod kvantifikace virové RNA a modelů zpětného výpočtu [10, 11].

Dalším potenciálním omezením při zvažování možností WBE je schopnost veřejného zdravotnictví reagovat na zjištěná data. I když je detekce množství viru přesná, pokud nejsou data doručena orgánům veřejného zdravotnictví včas a nejsou včas využita, jsou neúčinná. Kromě toho mohou existovat oblasti, kde fekální profily SARS-CoV-2 mohou být detekovány konzistentně, proto je tyto oblasti třeba pečlivě sledovat kvůli náhlému zvýšení výskytu virové RNA v odpadních vodách [13–15]. Včasná detekce přítomnosti SARS-CoV-2 v komunitách může také poskytnout zdravotnickým orgánům čas připravit se na potenciální ohniska a zajistit, aby byly k dispozici v korelaci s mírou rizika přiměřené zásoby zdravotnického materiálu, včetně ventilátorů, lůžek na JIP i obsluhujícího personálu [16].

ZÁVĚR

Monitoring virů v odpadních vodách je jako nástroj včasného epidemického varování v současnosti využíván v mnoha zemích světa, v některých již systematicky na úrovni národních programů. ČR se na základě Doporučení Evropské komise na zavedení systematického monitoringu SARS-CoV-2 v odpadních vodách ze dne 17. března 2021 [17], které je závazné pro všechny členské země, zapojí do provádění monitoringu odpadních vod z ČOV ve městech nad 150 000 obyvatel.

Výsledky našeho výzkumu a závěry mnoha probíhajících studií jednoznačně ukazují, že diagnostika odpadních vod může být při jejím cíleném a systematickém provádění vhodným přístupem pro formulaci epidemiologických prognóz, a tím i ochranou veřejného zdraví. Monitoring odpadních vod je citlivou metodou, jež může být využita na ČOV o různých velikostech, a to již při nízké prevalenci nakažených ve spádové oblasti. V Praze byla prokázána funkčnost přístupu i pro menší městské oblasti a jednotlivé budovy (např. školy a domovy důchodců). Úpravou doby vzorkování jsme prokázali i možnost zvýšení výtěžnosti virové RNA ze vzorků odpadních vod. Pro zodpovědné provádění WBE monitoringu je třeba akceptovat rozdíly mezi typy a účely prováděného monitoringu, charakterem odpadních vod a specifiky odběrových míst.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu V104000017 „Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace“ programu 4. VS BV III a institucionálních prostředků MŽP. Autoři děkují provozovatelům ČOV za vstřícnou spolupráci při poskytování vzorků odpadní vody a Oddělení biostatistiky SZÚ za poskytnutá data k počtu nakažených osob ve sledovaných lokalitách.

Literatura

- [1] BENCKO, V., ŠÍMA, P., BUŠOVÁ, M. Epidemie, pandemie: poučení z historie infekčních nemocí. *Hygiena*. 2021, 66(2), s. 48–54.
- [2] RAINETOVÁ, P., FITTLOVÁ, J. Vyšetřování odpadních vod na přítomnost poliovirů a ostatních enterovirů v ČR v roce 2013. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. 2014, 23(2), s. 53–54. ISSN 1804-8668.
- [3] eAGRI. Voda – Vybrané údaje z majetkové evidence (VÚME) a provozní evidence (VÚPE) za rok 2019. 28. leden 2021. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/voda/vodovody-a-kanalizace/vybrane-udaje-z-majetkove-a-provozni-evidence-vodovodu-a-kanalizaci/vybrane-udaje-majetkove-evidence-vume-a-html>
- [4] GHARWALOVÁ, L., JURANOVÁ, E., MLEJNKOVÁ, H., OČENÁŠKOVÁ, V., SOVOVÁ, K., VAŠÍČKOVÁ, P. Optimalizace způsobu odběru vzorků pro monitorování viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách. *TZB-info*, 1. listopad 2021. Dostupné z: <https://voda.tzb-info.cz/likvizace-odpadnich-vod/23005-optimalizace-zpusobu-odberu-vzorku-pro-monitorovani-viru-sars-cov-2-v-odpadnich-vodach>
- [5] VAŠÍČKOVÁ, P., HRDÝ, J., KRÁSNÁ, M., SOVOVÁ, K., GHARWALOVÁ, L., MLEJNKOVÁ, H. *Metodický postup analýzy odpadních vod na přítomnost speciálních oblastí genomu viru SARS-CoV-2*. 2021. (Probíhá proces certifikace MZ).
- [6] BONANNO FERRARO, G., VENERI, C., MANCINI, P. et al. A State-of-the-Art Scoping Review on SARS-CoV-2 in Sewage Focusing on the Potential of Wastewater Surveillance for the Monitoring of the COVID-19 Pandemic. *Food and Environmental Virology*. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12560-021-09498-6>
- [7] HARRIS-LOVETT, S., NELSON, K. L., BEAMER, P., BISCHEL, H. N., BIVINS, A., BRUDER, A., BUTLER, C., CAMENISCH, T. D., DE LONG, S. K., KARTHIKEYAN, S., LARSEN, D. A., MEIERDIERCKS, K., MOUSER, P. J., PAGESUYOIN, S., PRASEK, S. M., RADNIECKI, T. S., RAM, J. L., ROPER, D. K., SAFFORD, H., SHERCHAN, S. P., SHUSTER, W., STALDER, T., WHEELER, R. T., KORFMACHER, K. S. Wastewater Surveillance for SARS-CoV-2 on College Campuses: Initial Efforts, Lessons Learned and Research Needs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021, 18, s. 4455. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijerph18094455>
- [8] RUSÍŇOL, M., ZAMMIT, I., ITARTE, M. et al. Monitoring Waves of the COVID-19 Pandemic: Inferences from WWTPs of Different Sizes. *Science of the Total Environment*. 2021, 787, s. 147463. Dostupné z: [doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147463](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147463)
- [9] *The New York Times*. Health – Coronavirus Sewage. Dostupné z: <https://www.nytimes.com/2021/05/07/health/coronavirus-sewage.html>.

[10] ZHU, Y., OISHI, W., MARUO, C., SAITO, M., CHEN, R., KITAJIMA, M., SANO, D. Early Warning of Covid-19 Via Wastewater-Based Epidemiology: Potential and Bottlenecks. *Science of the Total Environment*. 2021, 767, 145124.

[11] GONZALEZ, R., CURTIS, K., BIVINS, A., BIBBY, K., WEIR, M., YETKA, K. et al. COVID-19 Surveillance in Southeastern Virginia Using Wastewater-Based Epidemiology. *Water Research*. 2020, 186, 116296.

[12] IBRAHIM, N. Epidemiologic Surveillance for Controlling Covid-19 Pandemic: Types, Challenges and Implications. *Journal of Infection and Public Health*. 2020, 13(11), s. 1630–1638.

[13] BIVINS, A., NORTH, D., AHMAD, A., AHMED, W., ALM, E., BEEN, F. et al. Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight Against Covid-19. *Environmental Science & Technology*. 2020, 54(13), s. 7754–7757.

[14] MLEJNKOVÁ, H., SOVOVA, K., VASICKOVA, P., OČENASKOVA, V., JASIKOVA, L., JURANOVA, E. Preliminary Study of Sars-Cov-2 Occurrence in Wastewater in Czech Republic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020, 17, 5508. Dostupné z: doi: 10.3390/ijerph17155508

[15] PALEOLOGOS, E., O'KELLY, B., TANG, C., CORNELL, K., RODRÍGUEZ-CHUECA, J., ABUEL-NAGA, H. et al. Post Covid-19 Water and Wastewater Management to Protect Public Health and Geoenvironment. *Environmental Geotechnics*. 2021, 8(3), s. 193–207.

[16] LOWE, N., BENCKO, V. Using Wastewater Based Epidemiology (WBE) as an Upcoming Tool for Prediction and Control of Covid-19 Disease Outbreaks. *American Journal of Biomedical Science & Research*. 2021, 14(2), s. 182–183/AJBSR.MS.ID.001975. Dostupné z: doi: 10.342975

[17] *Doporučení Evropské komise na zavedení systematického monitoringu SARS-CoV-2 v odpadních vodách ze dne 17. 3. 2021* (Commission Recommendation of 17. 3. 2021 on a Common Approach to Establish a Systematic Surveillance of SARS-CoV-2 and its Variants in Wastewaters in the EU)

Autoři

RNDr. Hana Zvěřinová Mlejnková, Ph.D.¹

✉ hana.mlejnkova@vuv.cz

ORCID: 0000-0002-3892-6226

Ing. Lucia Gharwalová, Ph.D.¹

✉ lucia.gharwalova@gmail.com

Mgr. Kateřina Sovová, Ph.D.²

✉ katerina.sovova@vuv.cz

ORCID: 0000-0002-2067-7081

Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D.³

✉ vasickova@vri.cz

ORCID: 0000-0001-6281-5799

Mgr. Jakub Hrdý³

✉ hrady@vri.cz

ORCID: 0000-0002-0890-5811

Mgr. Magdaléna Krásna³

✉ krasna@vri.cz

ORCID: 0000-0003-2988-8894

Ing. Věra Očenášková¹

✉ vera.ocenaskova@vuv.cz

ORCID: 0000-0001-8692-2417

Prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc.⁴

✉ vladimir.bencko@lf1.cuni.cz

ORCID: 000-003-1935-2228

Prof. MUDr. Milan Tuček, CSc.⁴

✉ milan.tucek@lf1.cuni.cz

ORCID: 0000-0001-6398-5925

RNDr. Milena Bušová, CSc.⁴

✉ milena.busova@lf1.cuni.cz

ORCID: 0000-0003-0668-8769

Ing. Eva Juranová¹

✉ eva.juranova@vuv.cz

ORCID: 0000-0001-9021-7307

¹Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, Praha

²Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, Brno

³Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

⁴1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Ústav hygieny a epidemiologie, Praha

Příspěvek prošel lektorským řízením.

DOI: 10.46555/VTEI.2022.01.004

USE OF SARS-COV-2 MONITORING IN WASTEWATER FOR EARLY EPIDEMIC WARNING

ZVĚŘINOVÁ MLEJNKOVÁ, H.¹; GHARWALOVÁ, L.¹; SOVOVÁ, K.²; VAŠÍČKOVÁ, P.³; HRDÝ, J.³; KRÁSNA, M.³; OČENÁŠKOVÁ, V.¹; BENCKO, V.⁴; TUČEK, M.⁴; BUŠOVÁ, M.⁴; JURANOVÁ, E.¹

¹T. G. Masaryk Water Research Institute, Prague

²T. G. Masaryk Water Research Institute, Brno

³Veterinary Research Institute, Brno

⁴First Faculty of Medicine Charles University, Institute of Hygiene and Epidemiology, Prague

Keywords: wastewater monitoring – SARS-CoV-2 – RT-qPCR – WWTP – epidemiological data

The principle of wastewater diagnostics is a suitable complementary approach that can help to obtain epidemiological information on a large part of the population in a non-invasive way. The course of the pandemic spread of the new coronavirus (SARS-CoV-2) has been showing a cyclical course of successive waves of covid-19 infections since 2020. For this model, a systematic detection of the occurrence of its causative agent in wastewater is offered as a very effective approach.

Current findings and conclusions of ongoing studies have clearly shown that wastewater monitoring can be a suitable complement to the formulation of epidemiological forecasts, proposals for measures and thus the protection of public health, in its targeted and systematic implementation. In addition, our results show that wastewater treatment plants (WWTPs) of all categories are suitable for epidemiological diagnostics of wastewater. However, by using wastewater-based epidemiology (WBE), it will be necessary to consistently accept differences between the types and purposes of monitoring, the nature of wastewater and the specifics of sampling points.