

SZENNYVÍZVIZSGÁLATOK AZ NNK-BAN – KORAI ELŐREJELZÉS FEJLESZTÉSE AZ ÚJ KORONAVÍRUS KIMUTATÁSÁRA

Dr. Pándics Tamás főosztályvezető
Nemzeti Népegészségügyi Központ
Közegészségügyi Laboratóriumi Főosztály

Előzmények

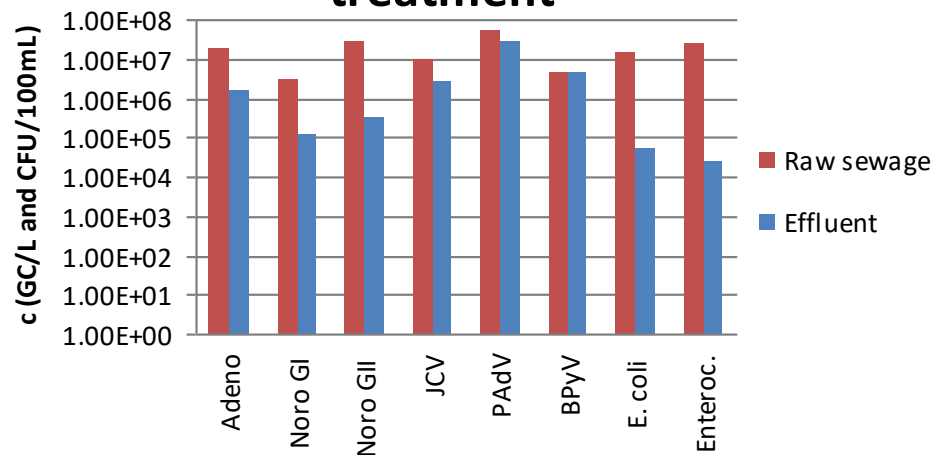
- Az NNK jogelődjei 2006 óta foglalkoznak vírus kimutatással környezeti mátrixokból
 - Ivóvíz
 - Felszíni víz
 - Nyers és kezelt szennyvíz
- Gyakorlati alkalmazás:
 - Miskolci ivóvízjárvány (2006) – igazolták calicivírus és adenovírus jelenlétét az ivóvízben
 - Magyar Úszás Napja (2013) – kimutatható volt calicivírus örökítőanyag a Balatonban, majd a szennyezés megszűnése is
 - Hepatitis A családi halmozódás Nógrád megyében – kizárható volt az ivóvíz (kútvíz) közvetítő szerepe

Nemzetközi szerepvállalás

- Viroclime 2010-2013 -
konzorciális nemzetközi FP7
pályázat
- 3 M EUR ösztámogatás
- UK, GR, SE, ES, BR
- “A klímaváltozás hatása a
patogén vírusok vízben való
túlélésére, terjedésére és
kockázatkezelésére”
- Az NNK jogelődje koordinálta a
terepi és laboratóriumi
vizsgálatok munkacsomagot
- Összesen több mint 260 minta
(felszíni víz, nyers és kezelt
szennyvíz) vizsgálata 6 vírusra
(DNS és RNS vírusok is)



Efficiency of waste water treatment

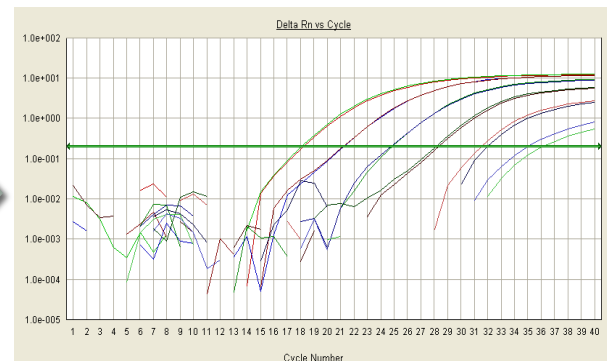
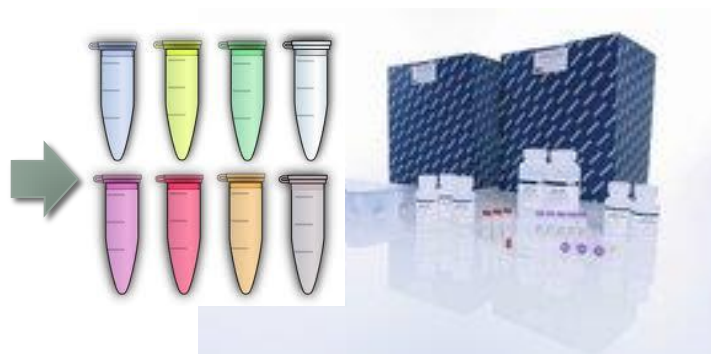
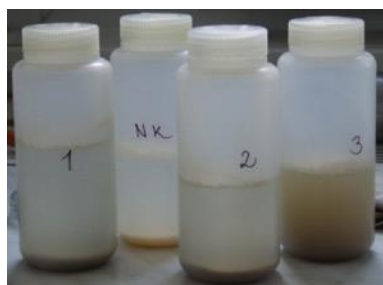


SARS-CoV-2 kimutatás – nemzetközi és nemzeti együttműködések

- Az NNK csatlakozott egy francia-holland kezdeményezésű nemzetközi együttműködéshez, amelynek célja az Európán átívelő, harmonizált metodikával történő vizsgálat
- A másik hazai bevont szervezet az Országos Vízügyi Főigazgatóság és együttműködő laboratóriuma – szakértői szinten történt egyeztetés
- Az EU European Microbiology Expert Group, amelynek az NNK is tagja (EMMI kijelölés alapján) a JRC-vel és más nemzetközi partnerekkel is egyeztet
- A WHO Környezet és Egészség Folyamat, valamint Víz és Egészség Jegyzőkönyv hazai fókuszpontját is az NNK delegálja, így első kézből értesül a WHO ilyen irányú kezdeményezéseiről.

Eddigi vizsgálatok - Módszerfejlesztés

- A vírus kimutatás lépései szennyvízből:



Koncentrálás

RNS kivonás

Detektálás (qRT-PCR)

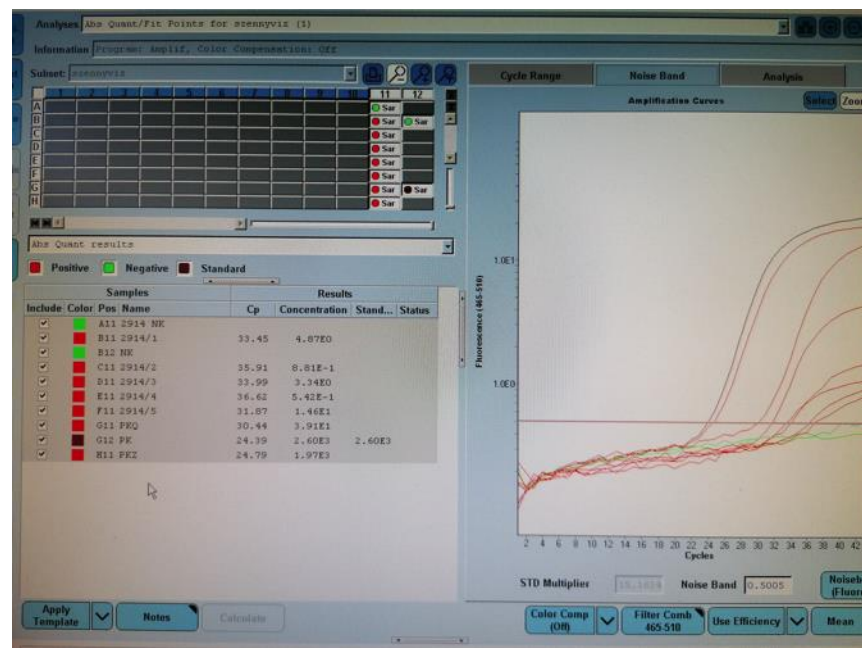
- Minden lépés optimalizálást igényel
- Megfelelő folyamatkontrollok alkalmazása
 - Negatív kontroll: csapvíz
 - Pozitív kontroll: ismert titerű, előlt vírusrészecskékkel addicionált minta

Metodikai mátrix

- Koncentrálás:
 - Tejporos kicsapatás (előny: nagy térfogatú minta, hátrány: rendkívül idő- és munkaigényes)
 - Ultraszűrés (kisebb térfogatú minta, több párhuzamos minta feldolgozására alkalmas) – két féle gyári ultraszűrővel
 - Mikroszűrés (kisebb térfogatú minta, 6 minta/nap) – 3 féle speciális filterrel
 - Összesen 6 különböző kipróbált módszer
- RNS kivonás:
 - 3 különböző kereskedelmi forgalomban kapható kittel
- 18 módszer-kombináció
- Módszerek hatékonyságának értékelése valós és addicionált mintákkal

Detektálás

- Kvalitatív reverz transzkripció PCR
- Klinikai mintákkal azonos metodika és eszközök
- Azonos célgénnek kimutatása
- Kalibrálás: ismert titerű vírus pozitív kontrollal
- Linearitás ellenőrzését követően kalibrálógörbe alapján kvantifikálható



Eredmények

- Addicionált minták
 - 10^6 titerű előlt vírusrészecskével addicionált szennyvízminták
- A különböző módszerkombinációk visszanyerése az addicionált minták alapján 1-75 %
 - leghatékonyabb módszerkombináció kiválasztása
- Elvi érzékenység: 400 genomkópia/L
- Korábbi tapasztalatok alapján calicivírus titer kommunális szennyvízben 10^5 - 10^7 GC/L nem járványos időszakban
 - cirkuláló vírus kimutatására elegendő érzékenység
- Vizsgált valós minták
 - Budapesti kommunális szennyvízminták – igazolt aSARS-CoV-2 vírus örökítőanyag jelenléte (nagyságrendileg 10^5 GC/L)
 - Dél-pesti Centrumkórház szennyvize – 2 mintavételi helyből az egyik pozitív

További lépések

- Heti mintavétel a három budapesti szennyvíztisztító telepről és megyeszékhelyeken
- Országos lefedettségű (19 megye), trendelemzésre alkalmas adatok
- Térképes/térinformatikai adatelemzés (tér- és időbeli variabilitás)
- Összevetés az aktuális betegadatokkal és a rendelkezésre álló populációs átfertőzöttségi adatokkal
- **Egy esetleges trendemelkedés alapján 1-2 héttel előre jelezhető a következő fertőzés hullám**

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!
