



Een passive sampler die zojuist in het riool is geplaatst

AUTEURS



Gertjan Medema
(KWR)



Remy Schilperoort
(Partners4UrbanWater)



Miranda de Graaf
(Erasmus MC)



Maarten de Jong
(GGD Amsterdam)

Harry Vennema
(RIVM)

RIOOLWATERMETINGEN ONDERSTEUNEN GGD BIJ EEN UITBRAAK VAN GEELZUCHT OP EEN BASISCHOOL

Nu de Corona-teststraten verdwenen zijn is de Nationale Rioolwater Surveillance van het RIVM hét instrument om de viruscirculatie te blijven volgen. Maar rioolwatermetingen kunnen ook bij andere virusziekten nuttig zijn, zo bleek bij een uitbraak van hepatitis A op een school in Amsterdam.

In de Coronajaren kende het instrument van de rioolwatermetingen een snelle ontwikkeling, en het leverde een duidelijke meerwaarde voor het volgen van de virusverspreiding en de volksgezondheid. Rioolsurveillance bleek ook op wijkniveau betrouwbare en nuttige informatie op te leveren over viruscirculatie [3]. Dat was aanleiding voor GGD Rotterdam-Rijnmond om nader onderzoek te doen naar de bruikbaarheid van rioolwatermetingen. Het is uitgevoerd samen met GGD Amsterdam, KWR, Partners4UrbanWater, IMD en Erasmus MC en mede gefinancierd door STOWA en TKI Watertechnologie.

Geelzucht in Amsterdam

Toen zich in 2022 een uitbraak van een hepatitis A-virus (HAV) op een school in Amsterdam voordeed, vroeg de GGD zich af of rioolmetingen hen konden helpen om zicht te krijgen op de effectiviteit van hun maatregelen. Hepatitis A (besmettelijke geelzucht) is een virale ontsteking van de lever. De ziekte verloopt bij jonge kinderen vaak ongemerkt, maar ze kunnen het virus aan volwassenen overdragen die er vaak wel ziek van worden.

De infectie komt vooral voor in (sub)tropische landen. In Nederland zijn er tussen de 100 en 200 infecties per jaar, waarvan 40 procent importinfecties: mensen raken besmet tijdens een bezoek aan landen waar hepatitis A veel voorkomt [5]. Omdat kinderen vaak asymptomatisch zijn en omdat de incubatietijd lang is (4 weken), kan het virus al een tijd ongemerkt rondwaren voor het opgemerkt wordt (stille circulatie).

Hepatitis A-virus wordt via ontlasting en opname via de mond overgebracht. Hepatitis A is een meldingsplichtige infectieziekte, artsen en laboratoria moeten een geval doorgeven aan de GGD. De GGD kan bron- en contactonderzoek doen en bestrijdingsmaatregelen instellen. Net als bij Corona kunnen rioolmetingen HAV-infecties in de school en in wijken eromheen zichtbaar maken. Bij een effectieve bestrijding zou HAV uit het rioolwater moeten verdwijnen.

De uitbraak

In oktober 2022 meldde een Amsterdams ziekenhuis een kind met geelzucht bij de GGD Amsterdam. Na bron- en contactonderzoek zijn eind oktober en begin november 2022 nog drie besmette kinderen geïdentificeerd en eind december 2022 was er een vijfde geval. Alle vijf kinderen gingen naar dezelfde basisschool, naar verschillende klassen en zowel in het hoofdgebouw als een dependance. Na genetische typering bleken alle vijf besmet te zijn met dezelfde virusstam. De zieke kinderen zijn thuisgehouden om uit te zieken en verspreiding te voorkomen. Ondertussen ging GGD Amsterdam aan de slag. Eind oktober 2022 ging er een brief naar de schoolleiding met het verzoek om ouders en verzorgers te informeren en hen te vragen contact op te nemen met de huisarts als hun kinderen symptomen van HAV zouden vertonen.



Afbeelding 1. Een passieve sampler wordt na 48 uur monsternamming uit het riool gehaald

De school stuurde deze brief door naar alle ouders en verzorgers. Vervolgens organiseerde GGD Amsterdam snel een HAV-vaccinatiecampagne op de school, waaraan slechts weinig ouders gehoor gaven (c.q. 14 procent van de kinderen). Vanwege de lage opkomst is vervolgens nog een informatiesessie voor school en ouders georganiseerd. Medio januari werd nog een zesde HAV-besmetting in dezelfde wijk gemeld. Deze persoon had geen link met de andere gevallen of de school.

Opzet rioolmetingen

In het rioolnetwerk rondom het school- en dependancegebouw zijn twee rioolputten en twee rioolgemaalenselecteerd om representatieve rioolwatermonsters te



Afbeelding 2. Digital droplet RT-PCR voor het aantonen van HAV in rioolwater

nemen. De twee rioolputten ontvingen rioolwater van de beide schoolgebouwen, de gemalen van de omliggende wijken (20.000-30.000 personen). Voor het aantonen van HAV zijn 'passive samplers' gebruikt, die meerdere dagen op een locatie hingen om ontlasting met daarin HAV uit het langsstromende rioolwater te vangen. Het betrof 3D-geprinte torpedovormige samplers met wattenstijps die in het rioolwater werden geplaatst en gefixeerd. De monsternamen liep van half november 2022 tot in maart 2023. Omdat er eind december 2022 een vijfde besmetting op de school bekend werd en dit kind in een andere wijk woonde, werden de rioolmetingen uitgebreid naar het rioolgemaal van deze wijk en naar de betreffende rwzi.

In de eerste meetweek in november 2022 is per rioolput en rioolgemaal in 96 uur één passieve sampler ingezet; in de weken daarna zijn ze 48 uur ingezet. De samplers werden op ijs naar het laboratorium vervoerd en dezelfde dag onderzocht. Het wattenstaafje uit de passieve samplers werd op dezelfde manier opgewerkt als eerder voor SARS-CoV-2 [2]. De extracten zijn met een speciale PCR-methode ingezet, de digital droplet RT-PCR (ontleend aan [4]), met positieve controles.

Als controles zijn 5 passieve samples uit november 2022 uit het rioolnetwerk van Rotterdam genomen (dus van

buiten het uitbraakgebied). In deze monsters werd zoals verwacht geen HAV aangetroffen. Extracten waarin RNA van HAV is aangetroffen werden voor sequentie-analyse naar het RIVM gestuurd.

Uit de monsters werd naast HAV ook crassfaag gemeten. Crassfaag komt vrijwel alleen in menselijke darmen voor en is hier gebruikt als maat voor de hoeveelheid ontlasting die door de passieve samplers uit het rioolwater is gevangen [3].

Resultaten

In alle passieve samples werd Crassfaag aangetroffen in redelijk vergelijkbare hoeveelheden ($5,2 \pm 1,1$ miljoen genkopieën per sampler), wat aangaf dat alle samplers vergelijkbare hoeveelheden menselijke ontlasting hadden gevangen.

In de eerste weken werd HAV alleen in het rioolwater van de dependance aangetroffen, later ook in het water van de rioolgemalen en het hoofdgebouw. 8 van de 17 samples die van november 2022 tot en met maart 2023 van het bijgebouw waren genomen waren positief voor HAV, telkens in lage hoeveelheden. Van het hoofdgebouw was 1 van de 17 samples positief (in februari 2023). Van de rioolgemalen waren 2 en 7 van de 17 samples positief voor HAV, ook telkens in lage hoeveelheden. Ook in het

rioolgemaal en de rwzi die in januari 2023 werden toegevoegd naar aanleiding van het vijfde ziektegeval werden in respectievelijk 3 en 2 van de 10 samples HAV aangetroffen, weer in lage hoeveelheden.

De genetische typering van HAV in het rioolwater bleek waardevol: van november 2022 tot begin februari 2023 lukte het om in 7 samples HAV genetisch te typeren en bleek het gedetecteerde HAV genetisch identiek aan de stam die bij de zieke kinderen was aangetroffen. Na eind december werden er geen nieuwe gevallen meer gemeld die gekoppeld waren aan deze uitbraak. Na begin februari 2023 werd deze stam niet meer in rioolwater gevonden. Dit was voor de GGD de bevestiging dat er geen stille circulatie van de uitbraakstam meer plaatsvond op en rond de school. Intrigerend was wel dat er vanaf begin februari 2023 een andere HAV-stam in het riool werd aangetroffen. In deze periode lukte het om in 4 samples HAV te typeren, telkens van dit andere type. Er kwamen geen meldingen bij de GGD binnen van mensen met deze HAV-stam. Meting en typering van HAV in rioolwater gaf dus aan dat er stille transmissie van deze andere HAV-stam heeft plaatsgevonden in hetzelfde gebied in Amsterdam.

Conclusies

De nauwe samenwerking met de GGD'en heeft laten zien dat rioolwatermetingen ook bij een uitbraak van een ander virusziekte dan COVID-19, namelijk hepatitis A, waardevolle informatie opleveren. Bij beide infectieziekten verloopt een (groot) deel van de infecties mild of symptomeloos, zeker bij jonge kinderen, waardoor ze in de reguliere surveillance makkelijk gemist kunnen worden. Een andere overeenkomst is dat een deel van de infecties ernstig kan verlopen. Daarom is het belangrijk

om de overdracht zo veel mogelijk in te perken.

Bij de uitbraak op de school in Amsterdam bleek rioolwatersurveillance waardevol om eventuele stille transmissie te kunnen volgen, en bevestigden de rioolmetingen dat de uitbraak over was. Bovendien bleek dat vroege, wekelijkse metingen met passieve samplers op vier (later zes) locaties, een efficiënte methode kan zijn om de HAV-circulatie te volgen zonder veel moeite en belasting voor de school en de betreffende woonwijken.

Genetische typering bleek in dit onderzoek noodzakelijk, zowel om te bevestigen dat met de PCR-methode daadwerkelijk HAV was aangetoond, als om te bevestigen dat de uitbraakstam in het riool was aangetroffen. Bij toeval kwam via de rioolmetingen de import en mogelijke transmissie van een andere HAV-stam aan het licht, vlak na en vlakbij de eerste uitbraak.

Voor de GGD kan rioolwateronderzoek bij een Hepatitis A-uitbraak (en mogelijk ook uitbraken van andere virale darm- en luchtweginfecties) zowel ondersteunen bij bron- en contactonderzoek als bij de bestrijding, om zichtbaar te maken of en waar er viruscirculatie 'onder de radar' plaatsvindt.

Met dank aan George Sips en Paul Bijkerk (GGD Rotterdam Rijnmond), Goffe Elsinga en Leo Heijnen (KWR), Jeroen Langeveld (Partners4UrbanWater), Ewout Fanoy (GGD Amsterdam), Bert Pasma (STOWA), J. Guldemeester (Erasmus MC) en Dave McCarthy (Queensland University of Technology, Australië).

Gertjan Medema (KWR), Remy Schilperoort (Partners4UrbanWater), Miranda de Graaf (Erasmus MC), Harry Vennema (RIVM), Maarten de Jong (GGD Amsterdam)

BRONNEN

1. HAVNET. Protocol Molecular detection and typing of VP1 region of Hepatitis A Virus (HAV). www.rivm.nl.
2. Heijnen et al (2021). Droplet digital RT-PCR to detect SARS-CoV-2 signature mutations of variants of concern in wastewater. *Sci Total Environ.* 799:149456.
3. Langeveld et al (2022). Rioolwatersurveillance in Rotterdam-Rijnmond 2020-2022. *Water Matters*, 15.
4. Persson et al (2021). A new assay for quantitative detection of hepatitis A virus. *J Virol Methods* 288:114010.
5. RIVM (2023). Hepatitis A | LCI richtlijnen (rivm.nl)

SAMENVATTING

Bij een uitbraak van hepatitis A (HAV) op een school in Amsterdam zijn metingen aan rioolwater ingezet om de virusverspreiding te volgen. Via monsternamen in rioolputten en -gemalen werden twee schoolgebouwen en de wijken eromheen gemonitord. In vier maanden waren er vijf ziektegevallen. In alle gevallen betrof het dezelfde virusstam. Dezelfde HAV stam kwam geregeld in lage concentraties voor in het rioolwater, en werd na begin februari niet meer aangetroffen. Dat bevestigde dat de uitbraak van die HAV-stam over was. Wel werd er later via de rioolmetingen 'stille verspreiding' van een andere HAV-stam in dezelfde wijk aangetroffen.