



# NAČRT EPIDEMIOLOŠKEGA SPREMLJANJA POLIOVIRUSOV V ODPADNIH VODAH V SLOVENIJI

---

## Načrt epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji

### Avtorji dokumenta

#### Nacionalni inštitut za javno zdravje

##### *Center za nalezljive bolezni*

asist. An Galičič, mag. san. inž.

Natalija Kranjec, dipl. san. inž. (UN)

Jan Rožanec, mag. san. inž.

Tjaša Bertole, dr. dent. med.

#### Nacionalni laboratorij za okolje, zdravje in hrano

##### *Center za medicinsko mikrobiologijo, Oddelek za javnozdravstveno mikrobiologijo*

Vesna Šubelj, univ. dipl. mikr.

doc. dr. Andrej Steyer, univ. dipl. mikr.

dr. Tjaša Cerar Kišek, univ. dipl. mikr.

Tom Koritnik, prof. biol.

##### *Center za okolje in zdravje, Oddelek za odpadne vode*

Tatjana Jurša, univ. dipl. inž. kem. tehnol.

**Strokovni pregled** | dr. Veronika Učakar, dr. med., spec. javnega zdravja

**Oblikovanje naslovnice** | Tadeja Horvat

**Izdajatelj** | Nacionalni inštitut za javno zdravje, Trubarjeva ulica 2, Ljubljana

**Izdaja** | 1. izdaja

**Kraj in leto izdaje** | Ljubljana, 2023

**Elektronska izdaja**

**Spletni naslov** | [www.nijz.si](http://www.nijz.si)

**Besedilo ni lektorirano.**

**Zaščita dokumenta** | © 2023 NIJZ

Vse pravice pridržane. Reprodukcijska po delih ali v celoti na kakršenkoli način in v kateremkoli mediju je dovoljena le z navedbo vira.

---

## Kazalo vsebine

<b>1. Uvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Strokovna izhodišča za vzpostavitev epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji</b> .....	<b>2</b>
2.1 Ključne značilnosti otroške paralize .....	2
2.2 Epidemiologija otroške paralize v svetu .....	4
2.3 Epidemiologija otroške paralize v Sloveniji .....	7
2.4 Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah .....	9
<b>3. Načrt epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji</b> .....	<b>14</b>
3.1 Namen spremljanja .....	14
3.2 Frekvenca in lokacija vzorčenja .....	14
3.3 Vzorčenje in transport vzorcev.....	16
3.4 Obdelava vzorcev odpadnih vod v laboratoriju .....	16
3.5 Dokaz poliovirusov v odpadnih vodah .....	16
3.6 Podrobnejša označitev osamljenih poliovirusov .....	17
3.7 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje .....	17
3.8 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav v Mrežo laboratorijev za polioviruse pri Svetovni zdravstveni organizaciji.....	18
3.9 Interpretacija rezultatov.....	18
3.10 Odzivanje na prisotnost poliovirusa v odpadnih vodah .....	21
3.11 Javno objavljane rezultatov spremljanja .....	21
3.12 Redno usklajevanje med Nacionalnim inštitutom za javno zdravje in Nacionalnim laboratorijem za zdravje, okolje in hrano.....	21
<b>4. Reference</b> .....	<b>22</b>
<b>5. Priloge</b> .....	<b>26</b>
5.1 Priloga 1: Epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah v svetu .....	26
5.2 Priloga 2: Algoritem pošiljanja vzorcev s pristonim poliovirusom v referenčni polio laboratorij v Helsinkih.....	35

---

## Kazalo preglednic

Preglednica 1: Precepljenost (%) otrok proti davici, tetanusu, oslovskega kašlju, otroški paralizi, okužbam s Hemofilus influenzae tipa b (in hepatitisu B) s tretjim odmerkom cepiva po zdravstvenih regijah Slovenije, 2018-2022 [33].	8
Preglednica 2: Seznam komunalnih čistilnih naprav, na katerih se izvaja redno spremljanje poliovirusov v Sloveniji, in seznam komunalnih čistilnih naprav za posamezen sestavljeni vzorec. ....	14
Preglednica 4: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav po sestavljenih vzorcih. ....	19
Preglednica 5: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav. ....	19

---

## Kazalo slik

Slika 1: Območja pojavljanja divjega in krožečega poliovirusa pridobljenega s cepivom v obdobju zadnjega 3. 5. 2022 – 8. 8. 2023 [27].....	5
Slika 2: Precepljenost 1-letnih otrok s tretjim odmerkom cepiva proti otroški paralizi po državah sveta [28]. .....	5
Slika 3: Precepljenost otrok proti otroški paralizi s tretjim odmerkom cepiva v Evropski uniji in Evropskem gospodarskem prostoru, 2021 [3]. .....	6
Slika 4: Ocena tveganja za pojav izbruhov otroške paralize po državah, 2022 [5].....	7
Slika 5: Zboleli in umrli zaradi otroške paralize v Sloveniji, 1946 – 2022 [30].....	7

---

## Uporabljene kratice

<b>AFP</b>	akutna flakcidna paraliza
<b>aVDPV</b>	nerazvrščeni poliovirus izvirajoč iz cepiva (angl. Ambiguous Vaccine Derived Poliovirus)
<b>cVDPV</b>	krožeči poliovirus, izvirajoč iz cepiva (angl. Circulating Vaccine Derived Poliovirus)
<b>cVDPV1</b>	krožeči poliovirus, izvirajoč iz cepiva tip 1 (angl. Circulating vaccine-derived poliovirus type 1)
<b>cVDPV2</b>	krožeči poliovirus, izvirajoč iz cepiva tip 2 (angl. Circulating vaccine-derived poliovirus type 2)
<b>cVDPV3</b>	krožeči poliovirus, izvirajoč iz cepiva tip 3 (angl. Circulating vaccine-derived poliovirus type 3)
<b>GPEI</b>	Globalna pobuda za izkoreninjenje otroške paralize (angl. Global Polio Eradication Initiative)
<b>GPLN</b>	Mreža laboratorijev za polioviruse
<b>iVDPV</b>	poliovirus izvirajoč iz cepiva, povezan z imunsko pomanjkljivostjo (angl. Immunodeficiency-associated Vaccine Derived Poliovirus)
<b>KČN</b>	komunalna čistilna naprava
<b>LDMS</b>	spletni laboratorijski sistem za upravljanje podatkov o poliovirusih
<b>NIJZ</b>	Nacionalni inštitut za javno zdravje
<b>NLZOH</b>	Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano
<b>NPEV</b>	enterovirusi, ki niso poliovirusi
<b>RNK</b>	ribonukleinska kislina
<b>RS</b>	Republika Slovenija
<b>SZO</b>	Svetovna zdravstvena organizacija (angl. World Health Organization)
<b>VDPV</b>	poliovirus, izvirajoč iz cepiva (angl. Vaccine-derived poliovirus)
<b>VDPV1</b>	poliovirus, izvirajoč iz cepiva tip 1 (angl. Vaccine-derived poliovirus type 1)
<b>VDPV2</b>	poliovirus, izvirajoč iz cepiva tip 2 (angl. Vaccine-derived poliovirus type 2)
<b>VDPV3</b>	poliovirus, izvirajoč iz cepiva tip 3 (angl. Vaccine-derived poliovirus type 3)
<b>WPV</b>	divji poliovirus (angl. Wild poliovirus)
<b>WPV1</b>	divji poliovirus tip 1 (angl. Wild poliovirus type 1)
<b>WPV2</b>	divji poliovirus tip 2 (angl. Wild poliovirus type 2)
<b>WPV3</b>	divji poliovirus tip 3 (angl. Wild poliovirus type 3)



---

## 1. Uvod

Otroška paraliza (poliomyelitis, lat. Poliomyelitis anterior acuta) je akutna virusna bolezen, ki jo povzročajo poliovirusi. Bolezen je leta 1840 prepoznal Jakob Heine, njenega povzročitelja pa je leta 1908 odkril Karl Landsteiner [1]. Uporaba cepiva proti otroški paralizni, ki so ga razvili v 50. letih 20. stoletja, je obolenost po svetu izrazito zmanjšala, v začetku njegove uporabe z več kot 100.000 na približno 1.000 primerov letno [2]. V Evropi je bil zadnji primer posameznika okuženega s poliovirusom zabeležen leta 1998 [3], medtem ko je bil zadnji primer v Sloveniji zabeležen leta 1978 [4]. Posledično je bila Evropska regija po razdelitvi Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) leta 2002 razglašena za območje prosto otroške paralize (angl. *polio-free*).

Evropa, vključno s Slovenijo, je trenutno območje prosto otroške paralize, kar gre pripisati visoki precepljenosti celotne evropske populacije proti tej bolezni. Potrebno se je zavedati, da vse dokler bodo v Evropi obstajale necepljene skupine prebivalstva ali skupine z nizko precepljenostjo, ter dokler otroška paraliza ne bo globalno izkoreninjena, obstaja tveganje ponovnega vnosa in širjenja poliovirusov v Evropi. Do takrat je za zmanjšanje tveganja in posledic okužb s poliovirusi ključno, da države vzpostavijo oziroma vzdržujejo visoko stopnjo imunosti prebivalstva proti poliovirusom z visoko ravno precepljenosti, učinkovito spremljajo bolezen in njene povzročitelje, s čimer bi lahko pravočasno odkrili njen pojav, in so pripravljene na učinkovit odziv.

SZO priporoča epidemiološko spremljanje otroške paralize, z namenom izkoreninjenja te bolezni, preko treh stebrov: testiranje oseb s kliničnimi znaki bolezni, nadomestno testiranje blata otrok na enteroviruse in polioviruse ter spremljanje prisotnosti poliovirusov v odpadnih vodah [5]. V Sloveniji se prvi in drugi steber že izvajata, izvajanje tretjega stebra, to je spremljanje prisotnosti poliovirusov v odpadnih vodah, pa bo z izvajanjem pričujočega načrta implementiran z letom 2024.

Za namen implementacije spremljanja prisotnosti poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji so bila pripravljena strokovna izhodišča in pregled tovrstnega spremljanja v drugih državah po svetu, kar je skupaj predstavljalo strokovne podlage za pripravo načrta spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji. Pri tem so bile upoštevane usmeritve SZO in Globalne pobuda za izkoreninjenje otroške paralize (angl. Global Polio Eradication Initiative, GPEI) zadnjih 20 let [6–9].

Pričujoči dokument je nastal v sodelovanju strokovnjakov Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ) s strokovnjaki Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH).

---

## 2. Strokovna izhodišča za vzpostavitev epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji

### 2.1 Ključne značilnosti otroške paralize

Otroška paraliza je akutna virusna bolezen, ki lahko povzroči ohlapne večinoma asimetrične ohromitve mišic brez senzibilnih motenj, ki jih imenujemo akutna flakcidna paraliza (AFP). Otroško paralizo povzročijo poliovirusi [10].

#### 2.1.1 Etiologija in kategorije sevov poliovirusov

Nalezljivo bolezen otroško paralizo povzročajo poliovirusi, ki spadajo v rod *Enterovirus*, gre za ribonukleinske (RNK) viruse. Poznamo tri serotipe (poliovirus tip 1, tip 2 in tip 3), med katerimi obstaja le minimalna navzkrižna imunost [11].

Poliovirusi, ki so zaznani pri ljudeh ali v odpadnih vodah, se delijo v tri kategorije [12]:

#### 1. kategorija: divji poliovirusi (WPV)

So naravni virusi, ki lahko povzročijo AFP, zlasti pri majhnih otrocih. Divji poliovirus tipa 2 (WPV2) in tipa 3 (WPV3) sta bila uradno izkoreninjena in ne krožita več med ljudmi, vendar se lahko še vedno nahajata v laboratorijih in obratih za proizvodnjo cepiv. Divji poliovirus tipa 1 (WPV1) še vedno kroži med ljudmi v dveh endemičnih državah, in sicer v Afganistanu in Pakistanu.

#### 2. kategorija: cepilni virusi

- i) Sabin virusi, živi oslabljeni poliovirusi, ki se jih uporablja v peroralnih cepivih proti otroški paralizi.
- ii) Sabinu podobni virusi, ki so se pričeli razlikovati od standardnega Sabin seva iz peroralnih cepiv, vendar v manjši meri kot tisti, ki lahko povzročijo AFP, opisani v kategoriji 3.
- iii) novi virus peroralnega cepiva proti otroški paralizi tipa 2: nov oslabljen virus, ki je bil leta 2020 odobren za uporabo v izbruhih krožečega poliovirusa, pridobljen s cepivom tipa 2 (cVDPV2).

Sabin in Sabinu podobne viruse se lahko pogosto odkrije v populaciji in odpadnih vodah, kjer se peroralna cepiva uporablja pri rutinskem cepljenju ali aktivnostih dodatnega cepljenja. Poliovirus cepiva tipa 2 se lahko zazna samo ob nedavni uporabi monovalentnega peroralnega cepiva proti otroški paralizi tipa 2, trivalentnega peroralnega cepiva proti otroški paralizi ali novega peroralnega cepiva proti otroški paralizi tipa 2 pri uporabljenih pri odzivanju na izbruh poliovirusa tipa 2, saj se omenjena cepiva ne uporabljajo več pri rutinskem cepljenju.

#### 3. kategorija: poliovirusi, izvirajoči iz cepiva (VDPV)

So cepilni virusni sevi, ki se od ustreznega standardnega Sabin seva razlikujejo v območju gena VP1 za > 1 % ( $\geq 10$  nukleotidnih razlik) za polioviruse tipa 1 (VDPV1) in 3 (VDPV3) ter > 0,6 % ( $\geq 6$  nukleotidnih razlik) za polioviruse tipa 2 (VDPV2). VDPV lahko nadalje razvrstimo v naslednje podkategorije:

- i) krožeči poliovirus, izvirajoč iz cepiva (cVDPV): je VDPV, ki se na podlagi dokazov o prisotnosti virusa pri ljudeh ali v odpadnih vodah, dokazano prenaša z osebe na osebo v skupnosti. Možni serotipi krožečega poliovirusa, izvirajočega iz cepiva so tip 1 (cVDPV1), tip 2 (cVDPV2) in tip 3 (cVDPV3).
- ii) VDPV, povezan z imunsko pomanjkljivostjo (iVDPV): je VDPV odkrit pri osebah, ki imajo dokazano primarno imunsko pomanjkljivost. V redkih primerih lahko posamezniki s primarno



---

imunsko pomanjkljivostjo zaradi daljšega obdobja izločanja virusa po cepljenju s peroralnim cepivom, pričnejo izločati genetsko spremenjen virus iz cepiva.

- iii) nerazvrščen VDPV (aVDPV) je VDPV, katerega zaporedje VP1 ni genetsko povezano z drugimi predhodno identificiranimi zaporedji VDPV in ni podatkov o osebah s primarno imunsko pomanjkljivostjo, ki bi izločali ta virus. VDPV je klasificiran kot nerazvrščen na podlagi laboratorijskih rezultatov, epidemiološke preiskave ter v komunikaciji s terenskimi ekipami, tehničnimi strokovnjaki, laboratorijskim osebjem SZO in Regionalnim uradom SZO. aVDPV so lahko prisotni pri osebah brez znane imunske pomanjkljivosti ali v vzorcih odpadnih vod, brez dokazov o kroženju.

**Sistem spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah mora podati informacijo o sevu zaznanega poliovirusa, saj je od le-tega odvisen način odzivanja na pojav poliovirusa in potreba po vzpostavitvi izrednega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah.**

### *2.1.2 Način prenosa, inkubacijska doba in kužnost*

Ljudje so edini rezervoar za polioviruse, kar je tudi nujen predpogoj, da lahko dosežemo njihovo izkoreninjenje. Virusi so zelo nalezljivi in se zlahka prenašajo z ene osebe na drugo (znotraj istega gospodinjstva so kmalu okuženi vsi člani). Virus se prenaša kapljično in s fekalno kontaminacijo rok, pripomočkov, hrane in vode. Najpogosteje se okužba prenaša fekalno-oralno in ob tesnih stikih z okuženo osebo [13]. Pri okuženem posamezniku se ne glede na prisotnost ali odsotnost simptomov poliovirus nekaj dni razmnožuje v žrelu in nekaj tednov v črevesju, kar povzroča izločanje poliovirusa preko sline in blata v okolje [14]. Virus vstopi tudi v krvni obtok, kjer lahko prodre v nekatere živčne celice, ki jih poškoduje ali uniči [13].

Prvi znaki bolezni se pri AFP najpogosteje pojavijo od 7 do 14 dni po okužbi (poročan razpon tudi od 3 do 35 dni). Osebe, okužene s poliovirusom so najbolj kužne od 7 do 10 dni pred in po nastopu simptomov, vendar je prenos okužbe možen tudi pozneje [13,15].

### *2.1.3 Klinična slika, zdravljenje in preprečevanje okužbe*

Večina okužb (več kot 90 %) s poliovirusom poteka brez simptomov oziroma z blagimi simptomi (vročina). V 5 do 10 % primerov okužb se razvije gripi podobno stanje, ko se ob povišani telesni temperaturi pojavijo še glavobol, boleče žrelo, bolečine v trebuhu, slabost ali bruhanje [4,13,15].

V redkih primerih pride do težjega poteka bolezni. Okužba lahko prizadene živčni sistem v različnem obsegu, od neparalitične (aseptični meningitis), ki se pojavi pri 1 do 5 % okuženih, do AFP, ki se pojavi še redkeje. Aseptični meningitis se praviloma razvije hitro in se kaže s tipičnimi meningealnimi znaki (vročina, glavobol, slabost, otrdel vrat, motnje zavesti). Navadno ne pušča dolgotrajnih posledic na zdravju [4,13,15–17].

Manj kot 1 % okuženih zbolijo z AFP, ki je hkrati tudi najznačilnejši znak okužbe s poliovirusom. Bolezen se prične z blagimi simptomi in povišano telesno temperaturo, sledijo hude bolečine v mišicah in ohlapne, po večini asimetrične ohromitve mišic brez motenj čutenja. Asimetrična ohromelost prizadene zlasti noge. Mnogi oboleli po AFP popolnoma okrevajo in pri večini se funkcija vsaj deloma povrne, posledice pa so lahko tudi trajne. Ohromelost lahko vodi v atrofijo mišic, kar v primeru

---

prebolevanja bolezní v otroški dobi, lahko pomeni krajšo prizadeto okončino. Ohromijo lahko tudi dihalne mišice, kar vodi v motnje dihanja, ki so najhujši zaplet okužbe. Če ob ohromelosti dihalnih mišic ne moremo zagotoviti umetnega predihavanja, se bolezen lahko konča s smrtjo. Smrtnost AFP, kot posledica otroške paralize je od 2 do 5 % pri otrocih in od 15 do 30 % pri odraslih [4,13,15].

Za otroško paralizo so dovzetni tako otroci kot odrasli, ki bolezní niso preboleli ali niso bili zaščiteni s cepljenjem. Simptomi bolezní se pogosteje pojavljajo v otroškem obdobju (v starosti do 5 let), v primeru, da se bolezen razvije v odraslem obdobju, je njen potek navadno težji [11,15].

Specifičnega zdravljenja za otroško paralizo ni. Podporno zdravljenje ob pojavu simptomov vključuje lajšanje bolečin in umetno predihavanje ob dihalnem zastoju bolnika [11,13].

Osebe, ki so prebolele otroško paralizo, kasneje pogosto navajajo težave oziroma pozne posledice bolezní, ki jih imenujemo »postpolio sindrom«, za katerega so značilne oslabeledost in upad mišic, mišične in sklepne bolečine, huda utrujenost in težave s hojo [18,19].

Najučinkovitejši način preprečevanja otroške paralize je vzdrževanje visokega deleža cepljenega prebivalstva [20].

## 2.2 Epidemiologija otroške paralize v svetu

### 2.2.1 Zgodovina otroške paralize v svetu

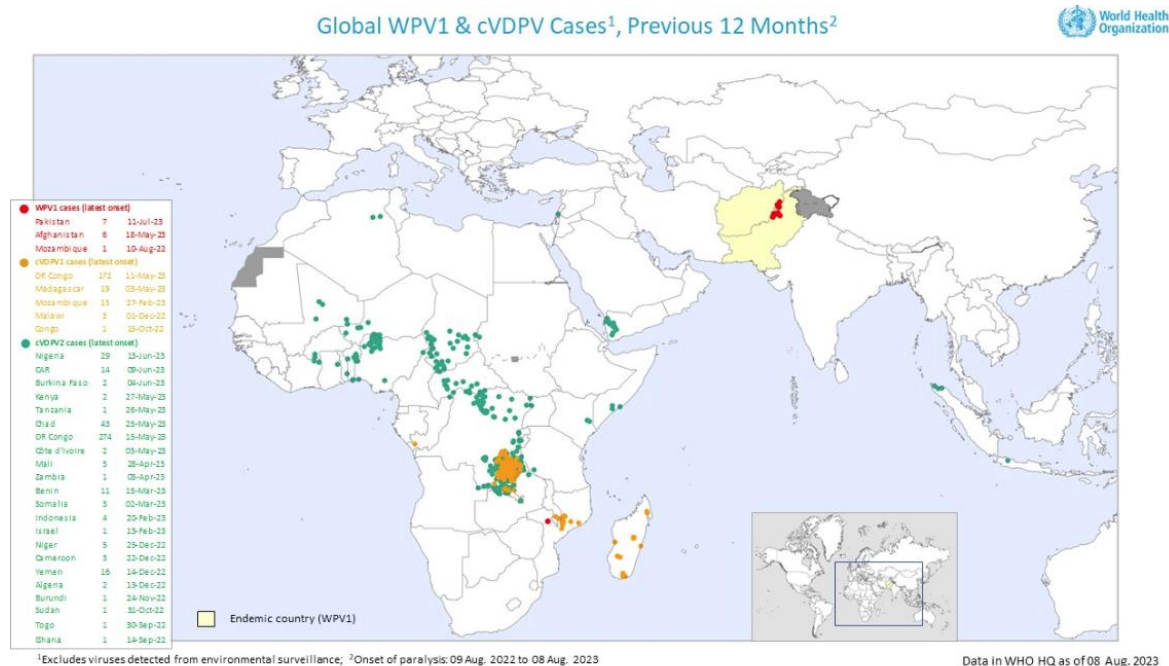
Do odkritja cepiva je otroška paraliza predstavljala velik javnozdravstveni problem, saj je povzročala številne smrti, prebolela bolezen pa je največkrat pomenila trajno invalidnost [16,21]. SZO se je leta 1988 zavzela za izkoreninjenje te bolezní, ustanovila je GPEI [22]. Države s celotnega sveta so z izvajanjem priporočenih strategij SZO dosegle zmanjšanje števila primerov otroške paralize s 35.251 leta 1988 na 2.971 primerov leta 2000 [23,24]. Pojavnost primerov WPV se je zmanjšala za več kot 99 %. WPV2 in WPV3 sta bila razglašena za izkoreninjena leta 2015 in 2019 [20]. WPV1 pa se endemično pojavlja le še v dveh državah: Afganistan in Pakistan [25].

Otroška paraliza se zaradi učinkovitega cepiva in visoke stopnje precepljenosti v razvitih državah skoraj ne pojavlja več. Zadnji primer okužbe s WPV v Evropi je bil zabeležen leta 1998. Evropska regija SZO je bila leta 2002 razglašena za območje prosto otroške paralize, vendar svetovne migracije ljudi omogočajo možnost pojava importiranih primerov tudi v Evropi [3].

### 2.2.2 Trenutna epidemiološka situacija otroške paralize v svetu

WPV1 je trenutno prisoten v Pakistanu in Afganistanu, posamezne primere pa so v letu 2022 zaznali tudi v Mozambiku. V letu 2023 je bilo do 15. avgusta skupno prijavljenih 7 primerov AFP, ki jih je povzročil WPV1 (od tega 5 iz Afganistana in 2 iz Pakistana) [26]. Poleg okužb z WPV pa predstavlja tveganje za javno zdravje tudi pojav izbruhov cVDPV. Izbruhi cVDPV se pojavljajo v populacijah, kjer živ oslabiljen poliovirus iz peroralnega cepiva kroži v skupnosti z nizko precepljenostjo dlje časa, predvsem na območju afriške regije [3]. V letu 2023 je bilo do 15. avgusta prijavljenih 63 primerov AFP povzročenih s cVDPV1 in 136 primerov AFP povzročenih s cVDPV2 iz skupno 15 afriških držav, Madagaskarja, Indonezije in Izraela [26]. Tveganje za mednarodno širjenje poliovirusov SZO še vedno opredeljuje kot izredno nevarnost za javno zdravje mednarodnega pomena [3].

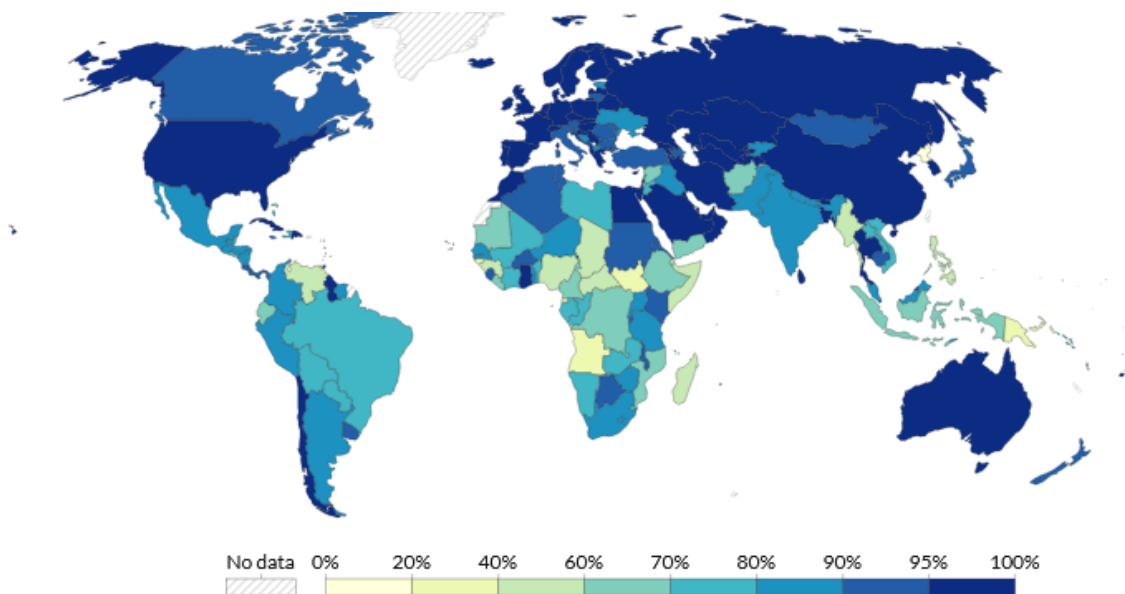
Območja pojavljanja WPV in cVDPV v obdobju 3. 5. 2022 – 8. 8. 2023 so prikazana na Sliki 1.



Slika 1: Območja pojavljanja divjega in krožečega poliovirusa pridobljenega s cepivom v obdobju zadnjega 3. 5. 2022 – 8. 8. 2023 [27].

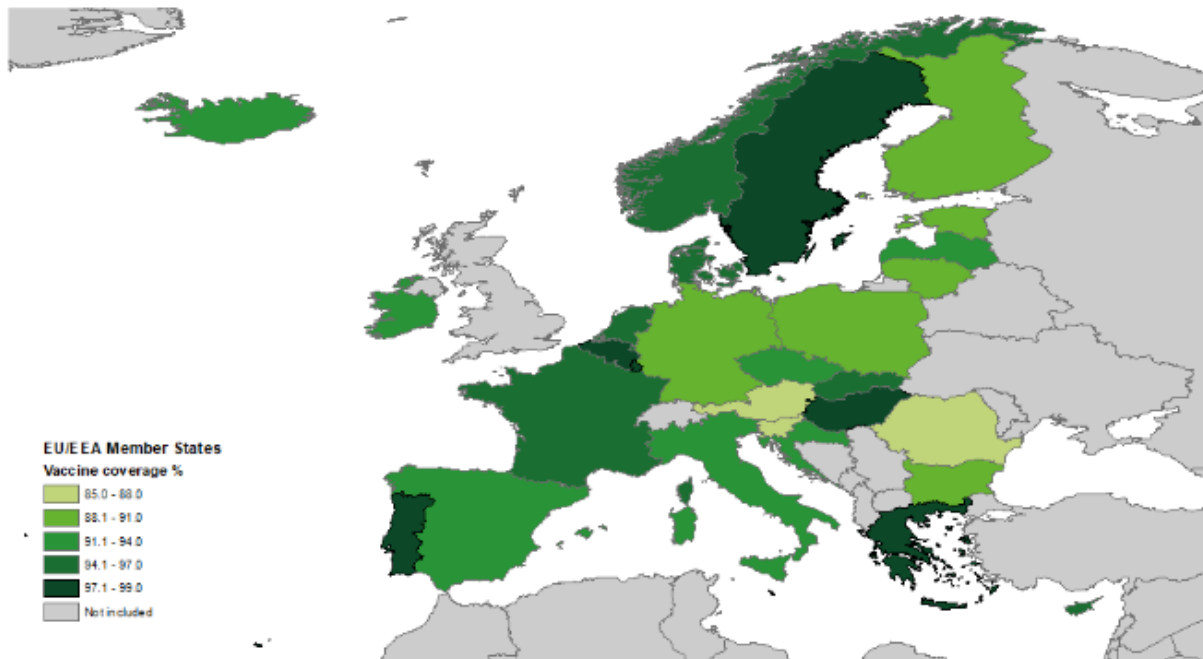
### 2.2.3 Precepljenost proti otroški paralizi v svetu

Precepljenost otrok proti otroški paralizi se med posameznimi območji sveta razlikuje, najnižja precepljenost je na območju afriške regije (Slika 2).



Slika 2: Precepljenost 1-letnih otrok s tretjim odmerkom cepiva proti otroški paralizi po državah sveta [28].

Evropa je trenutno območje prosto otroške paralize, zato je vzdrževanje visoke precepljenosti ključnega pomena. V letu 2021 je 23 od 29 držav Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora poročalo o 90 in več odstotni precepljenosti proti otroški paralizi. Precepljenost otrok proti otroški paralizi s tretjim odmerkom cepiva v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora je prikazana na Sliki 3.

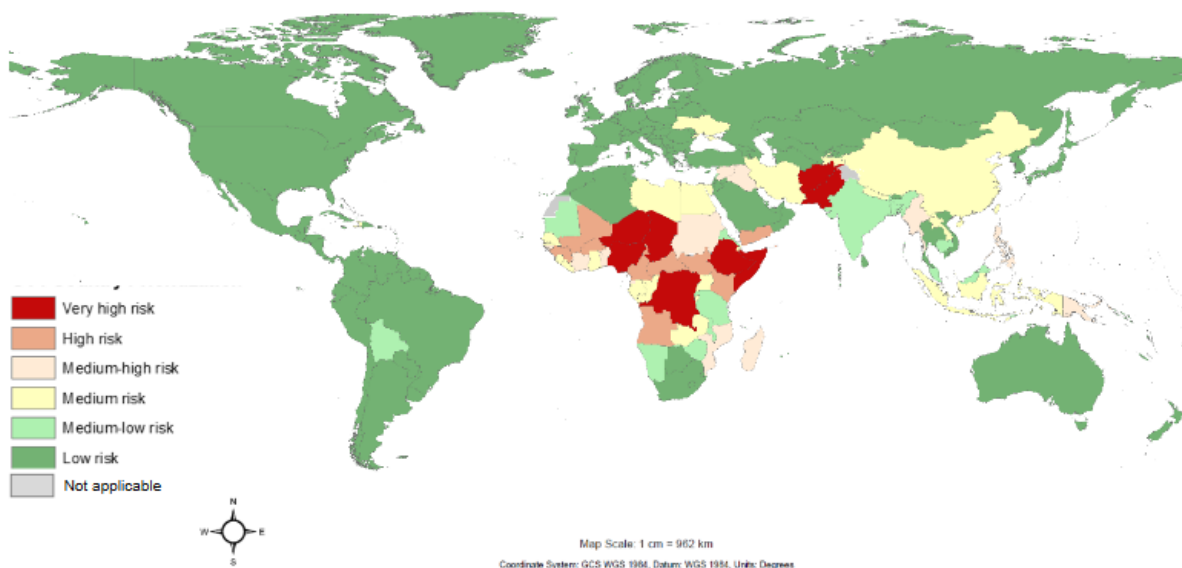


Source: WUENIC POL3 estimates in WHO Immunization Data portal [24]

Slika 3: Precepljenost otrok proti otroški paralizi s tretjim odmerkom cepiva v Evropski uniji in Evropskem gospodarskem prostoru, 2021 [3].

#### 2.2.4 Ocena tveganja za pojav izbruhov otroške paralize

V Akcijskem načrtu za globalni nadzor otroške paralize 2022-2024 (angl. Global Polio Surveillance Action Plan 2022–2024) [5] so opredeljene države z višjim in tiste z nižjim tveganjem za pojav izbruhov otroške paralize. Ocena je narejena na podlagi različnih kazalnikov, na primer dostopnosti cepljenja in možnosti širjenja virusa ter učinkovitosti sistema spremljanja. Poleg Afganistana in Pakistana so kot države z višjim tveganjem prepoznane tudi številne afriške države (Slika 4). Omenjen akcijski načrt navaja nadaljnje korake za čim prejšnje izkoreninjenje otroške paralize v svetu.

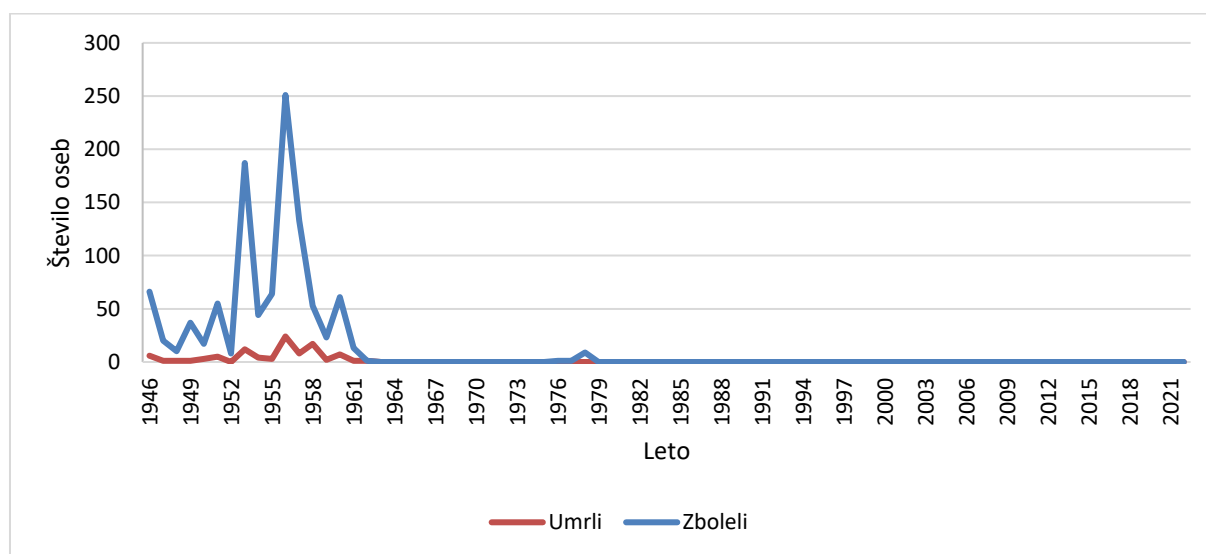


Slika 4: Ocena tveganja za pojav izbruhov otroške paralize po državah, 2022 [5].

## 2.3 Epidemiologija otroške paralize v Sloveniji

### 2.3.1 Zgodovina otroške paralize v Sloveniji

O primerih otroške paralize so na območju Slovenije prvič poročali leta 1946. V letih od 1956 do 1958 so v Sloveniji poročali o epidemijah otroške paralize, med katerimi je skupno zbolelo 393 oseb, od tega jih je 41 umrlo. Zadnja epidemija otroške paralize v Sloveniji je bila zabeležena leta 1978, v kateri je zbolelo 9 otrok, od tega 8 starih manj kot 6 let in 1 otrok star 12 let, iz 6 slovenskih občin. Večina teh otrok je bilo nepopolno cepljenih ali necepljenih [4]. Pri 8 primerih je bil izoliran WPV2, pri 1 zbolelem pa WPV1 [29]. Od navedenega izbruha naprej v Sloveniji nismo imeli več prijavljenega primera otroške paralize. V Sloveniji je bilo od leta 1946 potrjenih 1.054 zbolelih za otroško paralizo in 96, ki so zaradi te bolezni umrli [30]. Časovni prikaz primerov otroške paralize in smrti zaradi otroške paralize v Sloveniji je prikazan na Sliki 5.



Slika 5: Zboleli in umrli zaradi otroške paralize v Sloveniji, 1946 – 2022 [30].

### 2.3.2 Cepljenje in precepljenost proti otroški paralizi v Sloveniji

Prostovoljno cepljenje proti otroški paralizi je bilo uvedeno leta 1957, sprva z inaktiviranim cepivom, od leta 1961 naprej pa z oralnim atenuiranim cepivom. Leta 1964 je cepljenje otrok s tremi odmerki cepiva v prvem letu starosti v Sloveniji postalo obvezno [4]. Od leta 2003 so otroci v Sloveniji cepljeni z inaktiviranim cepivom.

Skladno z Zakonom o nalezljivih boleznih [31] in Pravilnikom o določitvi Programa cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2023 [32] je otroška paraliza med boleznimi, za katere je cepljenje predšolskih otrok obvezno. Otroci rojeni od 1. 10. 2019 naprej prejmejo prvi odmerek pri starosti 3 mesecev, drugi odmerek pri starosti 5 mesecev in tretji odmerek pri starosti od 11 do 18 mesecev.

Skladno z zakonodajo je cepljenje proti otroški paralizi obvezno tudi za osebe, za katere v primeru sporadičnega primera, izbruha ali epidemije postavi indikacijo NIJZ [31, 32]. Cepljenje proti otroški paralizi se pri nas opravi tudi pri zaposlenih, ki službeno potujejo na območja, kjer je nevarnost okužbe z virusom otroške paralize (npr. vojaki) in pri zaposlenih, ki so pri delu lahko izpostavljeni virusu otroške paralize [32].

Precepljenost proti davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, otroški paralizi, okužbam s Hemofilus influence tipa b (in hepatitisu B) s tretjim odmerkom cepiva v letih od 2018 do 2022 je prikazana v Preglednici 1.

Preglednica 1: Precepljenost (%) otrok proti davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, otroški paralizi, okužbam s Hemofilus influence tipa b (in hepatitisu B) s tretjim odmerkom cepiva po zdravstvenih regijah Slovenije, 2018-2022 [33].

Zdravstvena regija	2018	2019	2020 (95% IZ*)	2021 (95% IZ*)	2022 (95% IZ*)
Celje	96,1	96,4	95,8 (91,6-98,3)	88,4 (82,8-93,9)	92,4 (88,4-96,4)
Nova Gorica	95,8	96,4	92,9 (82,7-98,0)	95,6 (89,5-100)	92,7 (85,9-99,6)
Koper	93,9	93,0	90,1 (81,5-95,6)	78 (67,4-88,5)	83,8 (75,7-91,8)
Kranj	92,0	95,8	95,2 (89,8-98,2)	86,3 (79,4-93,2)	93,3 (88,9-97,8)
Ljubljana	89,2	91,9	95,4 (92,9-97,3)	83,5 (79,3-87,7)	87 (83,7-90,4)
Maribor	96,0	96,1	96,3 (92,4-98,5)	91,1 (86,0-96,1)	90,5 (86,4-94,6)
Murska Sobota	99,4	98,6	98,3 (91,1-99,7)	100,0	94 (87,4-100,0)
Novo mesto	95,9	95,2	98 (93,0-99,8)	82,9 (74,0-91,7)	81,1 (73,0-89,2)
Ravne na Koroškem	98,4	96,4	86,5 (71,2-95,5)	79,3 (64,6-94,1)	97,5 (92,7-100,0)
Slovenija	93,4	94,7	95,2 (93,8-96,3)	86,4 (84,1-88,6)	89,2 (87,5-91,0)

Legenda: Za leta od 2018 do 2020 se navedeni podatki nanašajo na precepljenost s tretjim odmerkom cepiva proti davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, otroški paralizi, okužbam s Hemofilus influence tipa b. Za leto 2021 in 2022 se navedeni podatki nanašajo na precepljenost s tretjim odmerkom cepiva proti davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, otroški paralizi, okužbam s Hemofilus influence tipa b in hepatitisu B. \*IZ – intervali zaupanja so navedeni, ker gre za oceno precepljenosti na vzorcu.

Cepljenje je priporočljivo za potnike, ki potujejo v dežele, kjer obstaja tveganje za okužbo z virusom otroške paralize [32]. Priporočila za cepljenje potnikov oblikujemo skladno s smernicami SZO. Dodatno cepljenje z bivalentnim oralnim cepivom ali inaktiviranim cepivom proti otroški paralizi je potrebno za potnike, ki potujejo v države, kjer se pojavlja WPV1, cVDPV1 in cVDPV3 s potencialnim tveganjem mednarodnega širjenja. Če pot traja več kot 4 tedne (in manj kot 1 leto) se svetuje, da ti potniki prejmejo en odmerek cepiva pred potovanjem, saj se sicer lahko od njih zahteva cepljenje ob odhodu



---

iz teh držav (v kolikor niso cepiljeni v zadnjih 12 mesecih). Za mednarodne potnike, ki potujejo v države, kjer se pojavlja cVDPV2 je dodatno cepljenje le priporočeno in se tudi spodbuja iz strani države obiskane destinacije [25,34]. Posodobljena priporočila in aktualne informacije glede cepljenja proti otroški paralizi za potnike so na voljo na spletni strani NIJZ [34].

### *2.3.3 Aktualni izzivi pri spremljanju in vzdrževanju izkoreninjenja otroške paralize v Sloveniji*

V Sloveniji je bil zadnji prijavljeni primer otroške paralize zaznan leta 1978, zato so aktualni izzivi v zvezi s to boleznijo povezani s tveganji za vnos poliovirusov v državo.

Svet se globalno sooča z migracijami množic prebivalstva, pri čemer Slovenija ni izjema. Tako aktualen izziv za vzdrževanje stanja izkoreninjenja otroške paralize v Sloveniji predstavljajo migracije, zlasti iz držav in območij z nizko precepljenostjo kjer se poliovirusi še pojavljajo.

Po podatkih Urada Vlade RS za oskrbo in integracijo migrantov je bilo v letu 2023 do vključno meseca maja v Sloveniji novonastanjenih 2.521 prosilcev za mednarodno zaščito, od tega največ v mesecu maju (604). V letu 2023 do vključno meseca marca so bile najpogostejše države izvora prosilcev za mednarodno zaščito Maroko (851 prosilcev), Alžirija (99), Indija (89), Kuba (61), Afganistan (45) in Ruska federacija (45) [35].

Leta 2022 je v Slovenijo migriralo več tisoč migrantov iz Ukrajine, ki so domovino zapuščali zaradi pričetka vojaške agresije. V Ukrajini je bila leta 2020 precepljenost proti otroški paralizi 84,2 % [36]. Precepljenosti v Ukrajini se giblje med 60 % in 99 %, odvisna je od starostne skupine in regije [37]. Leta 2021 so poročali o 2 primerih okužbe s cVDPV2 pri bolnikih z AFP. Pri 19 osebah, ki so bile v stiku z bolnikoma je bila odkrita okužba s poliovirusom, vendar pri njih ni prišlo do AFP [38].

Migranti so ob prihodu v Slovenijo najprej nastanjeni v Azilnem domu na Viču (samski moški) in njegovi izpostavi v Logatcu (družine, ženske in otroci). Najhitreje po 5 do 10 dneh, pogosto pa dlje, so migranti lahko nastanjeni tudi v druge nastanitvene kapacitete, ki so izbrane glede na migrantov status. Osebe s pridobljenim statusom begunca ali pridobljeno subsidiarno mednarodno zaščito so nastanjeni v integracijskih hišah ali zasebnih nastanitvah. Številni migranti se ob prihodu v Slovenijo le registrirajo in prebivajo v zasebnih nastanitvah [35].

Slovenija je z vidika migrantov tranzitna država, kar pomeni, da migranti, ki so obravnavani v začetnih postopkih za pridobitev subsidiarne mednarodne zaščite, v veliki večini Slovenijo zapustijo.

Vsak migrant, ki prispe v azilni dom in pridobi status vlagatelja namere, ima preventivni zdravstveni pregled, nato pa je deležen zdravstvene oskrbe le v primeru življenjsko ogrožujočega stanja, dokler ne pridobi nadaljnega statusa. Cepilni status migrantov ni poznan. Edina skupina migrantov, ki so po prihodu v Slovenijo cepljeni, so otroci migranti preden vstopijo v šolsko izobraževanje [35].

## **2.4 Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah**

Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah ima vse pomembnejšo vlogo pri prizadevanjih GPEI za dosego dokončnega izkoreninjenja otroške paralize v svetu. S spremljanjem vzorcev še neobdelane odpadne vode iz komunalnih sistemov, se zagotavlja pomembne informacije o prisotnosti ali odsotnosti kroženja poliovirusa na opazovanem geografskem območju. Čeprav spremljanje

---

poliovirusov v odpadnih vodah ni mogoče neposredno povezati z okuženimi posamezniki, ta metoda povečuje občutljivost epidemiološkega spremljanja AFP in omogoča zgodnje opozarjanje na morebitne izbruhe otroške paralize na območju, ki je vključeno v sistem spremljanja odpadnih vod [8].

#### *2.4.1 Strokovna izhodišča za epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah*

Okužena oseba, neglede na prisotnost oziroma odsotnost kliničnih simptomov, v prvem tednu okužbe začne izločati poliovirus v blatu in ga nato izloča od 3 do 6 tednov [13,15,39]. Izločanje virusa je lahko občasno prekinjeno, odvisno od sposobnosti posameznikovega imunskega sistema. Količina virusa izločena z blatom se spreminja, pri čemer največja količina izločenega virusa 1 osebe lahko doseže  $10^7$  infektivnih doz/dan [39]. Predhodna okužba z WPV oziroma ustrezna zaščita s cepljenjem, lahko močno zmanjšanja trajanje izločanja in koncentracijo izločenega virusa [7].

Poliovirusi so v vodnem okolju pri sobni temperaturi relativno stabilni. Absorpcija na različne trdne materiale podaljša čas, v katerem virus ohranja sposobnost ponovne obnove kužnosti [40]. Zvišana temperatura, koncentracija amonijaka in pH so glavni dejavniki, ki vplivajo na inaktivacijo poliovirusov v odpadni vodi. Povprečen čas potreben za 90 % zmanjšanje kužnosti (približno  $1 \log_{10}$  enot v titru) enterovirusov v blatu iz komunalnih čistilnih naprav (KČN) je 180 dni pri 2 °C in 26 dni pri 23 °C [7].

Sistem epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah je pomembno orodje za odkrivanje in spremljanje otroške paralize na območjih z nedavnim ali ponavljajočim se vnosom poliovirusa v državo in območjih s predhodno nezaznanim (tj. »tihim«) kroženjem poliovirusa, prav tako pa tudi v državah prostih otroške paralize za spremljanje odsotnosti kroženja poliovirusov v populaciji [7]. V državah prostih otroške paralize je vloga spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah naslednja [8]:

- odkrivanje ponovnega vnosa WPV ali pojava cVDPV, zlasti na območjih nezadostnega ali celo neobstoječega epidemiološkega spremljanja AFP in nezadostno precepljenostjo z inaktiviranim cepivom proti otroški paralizi;
- zaganjanje možnih izpustov poliovirusov iz laboratorijev in obratov za proizvodnjo cepiv;
- spremljanje prenehanja kroženja Sabin virusov po ukinitvi uporabe peroralnih cepivih proti otroški paralizi.

Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah je pomembno tudi v državah z visoko precepljenostjo, saj se lahko pojavijo okoliščine z dolgotrajno visoko stopnjo »tihega« prenosa poliovirusa v populaciji, brez pojava primerov AFP [41,42].

#### *2.4.2 Sistemi spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v državah po svetu*

Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah se že vrsto let uspešno uporablja v več razvitih državah za spremljanje odsotnosti kroženja poliovirusov v populaciji in ima pomembno vlogo pri programih za izkoreninjenje otroške paralize na območjih držav v razvoju [9,43]. V državah prostih otroške paralize ima spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah ključno vlogo pri odkrivanju ponovnega vnosa WPV v državo in spremljanju cVDPV, kot tudi pri spremljanju iVDPV [41,44]. V letu 2023 se spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah izvaja v 45 državah na približno 550 lokacijah po svetu [8]. Primeri spremljanja poliovirusa v odpadnih vodah v številnih državah so predstavljeni v Prilogi 1 *Epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah v svetu*.

---

### 2.4.3 Časovni okvir in pogostost spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah

Glede na namen spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah SZO priporoča prilagojena obdobja spremljanja in pogostost vzorčenja. Za izključitev kroženja WPV v populaciji priporoča izvajanje dolgoročnega rednega vzorčenja na reprezentativnih lokacijah. Priporočljivo je, da se vzorčenje izvaja najmanj 1-krat mesečno vsaj 1 leto oziroma po možnosti 3 leta po zadnji izolaciji WPV. V kolikor je spremljanje v odpadnih vodah vzpostavljeno zaradi zaznanega ali morebitnega ponovnega vnosa WPV v državo, oziroma se na območju pojavijo primeri obolelih z VDPV, spremljanje zajema krajše obdobje (najmanj 12 mesecev) s pogostejšim vzorčenjem, usmerjeno v bolj izbrane populacije [7].

### 2.4.4 Izbira lokacije za spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah

Pri izbiri lokacije za optimalno spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah je po priporočilih SZO pomembno upoštevati [7]:

- raven precepljenosti prebivalstva v posamezni regiji;
- vrsto uporabljenega cepiva v programu cepljenja;
- območja s skupinami necepljenega prebivalstva (npr. skupine, ki odklanjajo cepljenje zaradi verskih ali drugih razlogov);
- učinkovitost epidemiološkega spremljanja AFP (spremljanje in poročanje s strani izvajalcev zdravstvene dejavnosti na NIJZ);
- azilne domove in nastanitvene centre ter območja naseljena z migranti, nomadi, begunci, gostujoči delavci brez ustrezne dokumentacije, zlasti če ti prihajajo z območij, kjer poliovirus trenutno kroži v populaciji ali je ta krožil pred kratkim;
- območja s trgovskimi središči ali množičnimi dogodki (npr. festivali, tržnice in romarski kraji), zlasti kjer so med udeleženci prisotne ženske in dojenčki.

Spremljanje odpadnih vod je najbolj priporočljivo izvajati iz skupnih kanalizacijskih omrežij, kar omogoča spremljanje velikih populacijskih skupin. Priporočena mesta za vzorčenje odpadnih vod so dotoki KČN ali drugi večji skupni zbiralniki odpadnih vod. Priporočena velikost izvorne populacije je od 100.000 do 300.000 prebivalcev, ki omogoča zajem več možnih okuženih posameznikov hkrati. Pri tem se moramo zavedati, da večja kot je velikost opazovane populacije manjša je občutljivost spremljanja, kar pomeni, da je za zaznavo poliovirusov v odpadni vodi potrebno večje število okuženih oseb [7]. Izvajanje spremljanja posameznih podskupin populacije je smiselno predvsem v večjih mestih, saj se lahko poliovirus zaradi značilnosti mestnega okolja hitro razširi na dovetno populacijo [9]. Pri izbiri lokacije vzorčenja je potrebno upoštevati, da na manjšo zaznavo poliovirusa vplivajo tudi industrijske odpadne vode. Industrijske odpadne vode lahko vsebujejo snovi strupene za celične kulture oziroma te ovirajo razmnoževanje poliovirusov. Priporočeno je, da lokacije rednega spremljanja predstavljajo predvsem območja, kjer se nahajajo populacije z visokim tveganjem. Pri izbiri lokacije spremljanja je smiselno upoštevati lokacije, ki že imajo predhodno vzpostavljen sistem vzorčenja odpadne vode. V primeru manjših izvornih populacij, kjer so lokacije vzorčenja dovolj blizu se lahko pripravi sestavljen vzorec, pridobljen iz različnih lokacij (tako se zmanjša obremenitev laboratorija). V primerih, ko je izvorna populacija zelo velika, se lahko za povečanje občutljivosti sistema spremljanja, izvede pogostejše vzorčenje na lokaciji [7].

---

#### 2.4.5 Metode vzorčenja in laboratorijska diagnostika spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah

Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah se lahko izvaja z zajemom odpadne vode ali z vzorčenjem na principu »pasti« (tj. princip »pasti« predstavlja uporabo absorpcijske snovi, ki je na nosilcu izpostavljena toku odpadne vode, na katero se absorbira material s poliovirusi). Vzorci odvzeti na princip »pasti« vsebujejo materiale, ki vsebujejo nespecifično absorpcijsko snov (standardna količina makropornega stekla v prepustnih vrečkah). Uporaba blazinic iz gaze pri tej metodi ni priporočljiva, saj je težko doseči ustrezno standardizacijo absorpcijskega sredstva. Po 1 ali več dnevih izpostavljenosti toku odpadne vode, se »past« odvzame iz odpadne vode in prepelje v laboratorij, kjer se absorbirani material izloči in analizira na prisotnost poliovirusov.

Pri vzorčenju odpadne vode z zajemom, se lahko celotni vzorec odvzame naenkrat oziroma v kolikor obstaja možnost, se odvzame sestavljeni vzorec. Sestavljeni vzorec temelji na podlagi 24-urnega sestavljenega vzorca odpadne vode z avtomatskim vzorčevalnikom ali z vzorčenjem v času največjega pretoka gospodinjstskih odpadnih vod. Priporočen volumen vzorca za spremljanje poliovirusov v odpadni vodi je 1 L. Vzorčenje z zajemom odpadne vode je v primerjavi s principom vzorčenja s »pastmi« primernejši način vzorčenja, saj je ta sistem bolj občutljiv in omogoča tudi kvantitativno ocenjevanje njegove občutljivosti.

Neglede na uporabljeno metodo vzorčenja je potrebno vzorec po zbiranju hraniti na hladnem pri 4 do 8 °C in v 48 urah prepeljati v laboratorij. Prisotnost poliovirusa v vzorcih odpadne vode se v nadaljevanju določa z različnimi laboratorijskimi metodami s koncentriranjem, separacijo in identifikacijo. Neglede na uporabljeno metodo vzorčenja je potrebno uporabljeno laboratorijsko metodo predhodno validirati [7]. Dokaz poliovirusa vključuje molekularno metodo s pomnoževanjem specifičnega odseka poliovirusnega genoma ter osamitev virusa na celični kulturi z njegovo natančno karakterizacijo.

#### 2.4.6 Vrednotenje rezultatov spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah

Rezultati spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah obsegajo določanje poliovirusa v odpadni vodi in njegovo označitev. Gre za epidemiološki kazalnik kvalitativne narave, ki nam odgovori na vprašanje, ali smo v vzorcu zaznali polioviruse in kakšne so njegove značilnosti. To nam omogoča hitro ukrepanje ter omejitev širjenja virusa znotraj populacije. Pri tem koncentracija patogena ni relevantna ampak je pomembno, da z laboratorijskimi analizami v vzorcu zaznamo minimalno koncentracijo patogena, ki je odvisna od občutljivosti analitične metode. To so rezultati, ki jih dobimo na podlagi mikrobioloških analiz navedenih v poglavju 2.4.5.

Neglede na namen vzorčenja se lahko pričakuje, da bo velik delež zaznanih poliovirusov cepilnih sevov virusa. V državah prostih otroške paralize lahko zaradi možne nižane precepljenosti populacije že 1 primer odkrite AFP ali 1 pozitiven vzorec iz sistema spremljanja v odpadnih vodah z WPV pomeni izredne razmere na področju javnega zdravja, ki zahteva ustrezno ukrepanje [7]. Izolacija WPV iz sistema spremlja v odpadnih vodah običajno pomeni, da virus v populaciji izloča že več posameznikov [9]. Teoretično je mogoče, da sistem spremljanja odpadnih vod zazna poliovirus, ki ga je v državo vnesla 1 okužena oseba, vendar je to tudi pri največji občutljivosti sistema spremljanja izjemno redko. V optimalnih pogojih bi lahko sistem spremljanja odpadnih vod z 1 vzorcem zaznal prisotnost poliovirusa v populaciji, v kolikor bi 1 oseba izmed 15.000 posameznikov (ali 0,01 %) izločala virus. Vendar je potrebno upoštevati, da je pri delno zaščiteni populaciji izločanje virusa manjše. V kolikor se upošteva manjšo povprečno dnevno količino izločenega virusa pri 1 osebi ( $10^5$  infektivnih doz/dan), je potreben delež okuženih posameznikov v populaciji za odkritje poliovirusa v vzorcu odpadne vode približno 1 %.

---

V dobro zaščiteni populaciji odkritje tako WPV, kot VDPV ne predstavlja tveganja za začetek širjenja okužbe [7].

### 3. Načrt epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji

#### 3.1 Namen spremljanja

Slovenija je država prosta otroške paralize, saj je bila zadnja okužba pri nas zaznana leta 1978. Zato je namen epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah v Sloveniji odkrivanje morebitnega ponovnega vnosa poliovirusov v državo.

#### 3.2 Frekvenca in lokacija vzorčenja

Spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah delimo na **redno in izredno spremljanje**. Redno spremljanje predstavlja rutinsko spremljanje, izredno spremljanje pa predstavlja ciljano spremljanje v krajšem časovnem obdobju zaradi pozitivnega rezultata v okviru rutinskega spremljanja ali pojava visokega tveganja za okužbe s poliovirusi v posameznih skupinah.

##### 3.2.1 Redno spremljanje

Redno spremljanje se izvaja **4-krat letno: vsak prvi teden v mesecih marec, junij, september in december**. Vzorčenje se izvaja **ob ponedeljkih** skupaj za vse povzročitelje nalezljivih bolezni, ki jih spremljamo v odpadnih vodah KČN.

Vzorčenje se izvaja na 16 KČN v Sloveniji. Vzorce posamezne KČN se združi v **5 sestavljenih vzorcev** po shemi, ki je predstavljena v Preglednici 2.

Preglednica 2: Seznam komunalnih čistilnih naprav, na katerih se izvaja redno spremljanje poliovirusov v Sloveniji, in seznam komunalnih čistilnih naprav za posamezen sestavljeni vzorec.

Komunalna čistilna naprava	Sestavljeni vzorec (oznaka)	Zdravstvena regija	Število oseb, priključenih na KČN za sestavljeni vzorec
CČN Ljubljana	1 - Osrednjeslovenska - Ljubljana	Ljubljana	225.544
CČN Domžale-Kamnik	2 - Osrednjeslovenska - ostalo	Ljubljana in Kranj	167.329
CČN Kranj			
CČN Trbovlje			
CČN Litija in Šmartno pri Litiji			
CČN Zagorje			
CČN Koper	3 - Primorska	Koper in Nova Gorica	89.208
CČN Nova Gorica			
CČN Postojna			
CČN Celje	4 - Celjsko-Novomeško	Celje in Novo mesto	100.479
OČN Šaleške doline			
CČN Novo mesto			
CČN Brežice			
CČN Maribor	5 - Vzhodna Slovenija	Maribor, Murska Sobota in Ravne na Koroškem	140.515
CČN Murska Sobota			
CČN Slovenj Gradec			



---

### 3.2.2 Izredno spremljanje

Izredno spremljanje se izvaja v primeru ene od naslednjih dveh situacij:

#### 1) Pozitiven rezultat vzorca rednega spremljanja

Ko v sestavljenem vzorcu rednega spremljanja zaznamo poliovirus, za katerega se izvaja odzivanje skladno z načrtom pripravljenosti in odzivanja za prisotnost poliovirusov v Sloveniji (WPV1, WPV2, WPV3, VDPV1, VDPV2, VDPV3, aVDPV in iVDPV), se prične z izvajanjem izrednega spremljanja.

Po potrditvi prisotnosti poliovirusa (WPV1, WPV2, WPV3, VDPV1, VDPV2, VDPV3, aVDPV in iVDPV) v sestavljenem vzorcu **se izvede mikrobiološke analize ločeno v vseh vzorcih, ki tvorijo sestavljeni vzorec z zaznanim poliovirusom**. Tako se ugotovi KČN, na kateri je bil odvzet vzorec s prisotnim poliovirusom.

Prvo izredno vzorčenje in analizo vzorca odpadne vode se izvede prvi ponedeljek po potrditvi prisotnosti poliovirusa v vzorcu prispevnega območja. Vzorčenje se izvaja na vseh vključenih 16 KČN v Sloveniji **1-krat mesečno**. Vzorce posamezne KČN se pripravi v 5 sestavljenih vzorcev po shemi, ki je predstavljena v Preglednici 2. **Za KČN, katerih vzorec je del sestavljenega vzorca, v katerem je bil prisoten poliovirus, se izvede analizo vzorca vsake KČN ločeno.**

Po identifikaciji prispevnega območja z zaznanim poliovirusom se izredno spremljanje na KČN tega prispevnega območja izvaja **1-krat na 2 tedna**.

V primeru, da epidemiološki kolegij NIJZ oz. strokovna skupina Centra za krizno upravljanje NIJZ predlaga povečan obseg spremljanja, se le-tega implementira v sklopu izrednega spremljanja.

Izredno spremljanje se izvaja 6 mesecev od zadnjega vzorca, v katerem je bil zaznan poliovirus oziroma dlje, če s sklepom tako določi epidemiološki kolegij NIJZ oz. strokovna skupina Centra za krizno upravljanje NIJZ. Zatem se nadaljuje z rednim spremljanjem.

#### 2) Pojav visokega tveganja za okužbe s poliovirusi v posameznih skupinah

Kadar epidemiološki kolegij NIJZ zazna visoko tveganje za pojav okužbe s poliovirusom v posameznih skupinah, se prične z izvajanjem izrednega spremljanja. Podlaga za pričetek izrednega spremljanja je sklep epidemiološkega kolegija.

Vzorčenje se izvede 2-krat zapored z razmakom 14 dni oziroma se vzorčenje izvaja dalj časa, če s sklepom tako določi epidemiološki kolegij NIJZ oz. strokovna skupina Centra za krizno upravljanje NIJZ.

**Izredno spremljanje se izvede na ciljanem območju, ki je vezano na skupino prebivalstva z zvečanim tveganjem.**

V primeru prisotnosti poliovirusa v vzorcu se prične izvajati izredno vzorčenje po protokolu 1. točke tega podpoglavja (Pozitiven rezultat vzorca rednega spremljanja). Vzorčenje se izvaja na odvzemnem mestu, za katerega je bila ugotovljena prisotnost poliovirusa v vzorcu, in na vseh KČN skladno s protokolom 1. točke tega podpoglavja (Pozitiven rezultat vzorca rednega spremljanja).

---

### 3.3 Vzorčenje in transport vzorcev

Redno vzorčenje se izvaja na 16 KČN po principu 24-urnega združenega vzorca z avtomatskim pretočno sorazmernim vzorčevalnikom. Po predhodni nastavitvi avtomatskega vzorčevalnika se izvede reprezentativno vzorčenje odpadne vode v obdobju 24 ur z odvzemom delnih vzorcev v skupnem volumnu 1 L. Ob odvzemu vzorca se pripravi zapis z natančnimi podatki o kraju, času vzorčenja, temperaturi vode in pretoku (vtoku) v KČN. Zapis se izvede na terenskem *Zapisniku o vzorčenju in meritvah na terenu – odpadne vode*. O izvedenem vzorčenju se pripravi *Poročilo o izvedeni nalogi*, ki se ga v elektronski obliki posreduje laboratoriju. Vzorec se v sterilni embalaži prenese v laboratorij z zagotavljanjem hladne verige  $+5\pm 3$  °C in se pri tej temperaturi tudi shrani do pričetka analize. Analize v laboratoriju začnemo najpozneje 48 ur od odvzema vzorca.

Za izredno vzorčenje na KČN se odvzem izvaja vrši na isti način in transportira pod istimi pogoji. V primeru izrednega vzorčenja izven KČN se vzorčenje izvede z enkratnim odvzemom. Pripravi se zapisnik o vzorčenju z navedbo vseh potrebnih parametrov (kraj odvzema, čas, temperatura vzorca) in se z zagotavljanjem hladne verige dostavi v laboratorij. Začetek analiz je največ 48 ur po odvzemu vzorca.

### 3.4 Obdelava vzorcev odpadnih vod v laboratoriju

V mikrobiološkem laboratoriju 100 ml vzorca odpadne vode pred koncentriranjem z ultrafiltracijo centrifugirajo (13000 rpm 5 minut) za odstranitev neraztopljenih snovi. Supernatant prestavijo na posebne ultrafiltre 10kDa in centrifugirajo (3000g 20 minut) oziroma tako, da dobijo približno 1 do 2 ml koncentrata. V fazi združitve koncentrata in peleta združijo tudi vzorce KČN po shemi v Preglednici 2. Izhodne vzorce koncentrata in peleta za vsako čistilno napravo posebej hranijo do konca analiz pri  $+4$  °C.

Koncentrat združijo s peletom neraztopljenih organskih snovi iz vzorca odpadnih vod in jih obdelajo po enakem postopku za obdelavo blata za osamitev na celičnih kulturah. Vzorec homogenizirajo z 20 minutnim stresanjem s steklenimi kroglicami v fosfornem pufru PBS (1:10).

Nato vzorec centrifugirajo (3000g 20 minut). V tej fazi iz centrifugirke odvzamejo alikvot 0,5 ml koncentrata za ekstrakcijo RNK za kasnejšo rt-RT-PCR. V centrifugirko nato dodajo 1 ml kloroforma, 1 minuto vorteksirajo in ponovno centrifugirajo (3000g 20 minut). Bistri supernatant shranijo in ga pred inokulacijo na celične kulture še filtrirajo skozi 0,2 mikrometreski filter.

Za zagotavljanje kakovosti so v postopkih vključene procesne in interne kontrole.

### 3.5 Dokaz poliovirusov v odpadnih vodah

Laboratorijska diagnostika poliovirusov v odpadnih vodah se v okviru programa eradikacije otroške paralize izvaja v skladu s smernicami, ki jih državam članicam predpisuje SZO.

Mikrobiološka analiza v preiskovanem vzorcu odpadne vode določa prisotnost specifičnega VP1 genomskega odseka RNA ohranjene regije značilne za enteroviruse z metodo RT-PCR v realnem času ter dokazuje infektivni poliovirus z metodo osamitve na celičnih kulturah RD za bogatitev in L20B selekcijo polivirusov od drugih enterovirusov, ki niso poliovirusi (NPEV) po novem algoritmu za hitro odzivanje predpisanem v priročniku SZO za detekcijo in karakterizacijo poliovirusov (WHO/IVB/04.10 Supplement 1 to the WHO Polio Laboratory Manual An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization).

---

Vsak L20B pozitiven vzorec, ki je sumljiv na poliovirus, sproži algoritem obveščanja in zahteva hitro odzivanje skladno z *Načrtom pripravljenosti in odzivanja za pojav poliovirusov*.

Za laboratorijski postopek potrditve prisotnosti/odsotnosti poliovirusov v vzorcu odpadne vode je od prejema vzorca do rezultatov izolacije virusa potrebnih od 7 do 10 delovnih dni (min 2x5 dni za potrditev negativnega rezultata izolacije – glej prilogo 2). Za laboratorijski postopek natančne označitve poliovirusa je potrebnih še nadaljnjih 5 delovnih dni.

### 3.6 Podrobnejša označitev osamljenih poliovirusov

Vzorec osamljenega poliovirusa varno na FDA karticah pošljemo v referenčni polio laboratorij v THL v Helsinkih. Algoritem, ki ta korak natančneje opredeljuje, je v Prilogi 2.

Osamljene polioviruse podrobneje opredelijo z ITD molekularnim panelom različnih tarčnih PCR, s čemer ugotavljajo tip poliovirusa in njegove intratipske karakteristike Sabin poliovirusa, VDPV in WPV. Nadalje z detekcijo nukleotidnih sprememb VP1 regije genoma s sekvenciranjem in bioinformatično obdelavo podatkov ugotavljajo razlike značilne za izvor oziroma frekvenco točkovnih mutacij, na podlagi česar lahko sklepamo o času kroženja v populaciji in geolokaciji izvora uvoženega poliovirusa.

Za potrditev in natančno označitev osamljenega poliovirusa v referenčnem laboratoriju GPLN THL Helsinkih je po prejemu po pošti potrebnih 10 dni.

### 3.7 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje

NLZOH NIJZ-ju poroča rezultate laboratorijskih analiz vzorcev odpadnih voda odvzetih skladno z načrtom vzorčenja (poglavje 3.1 Frekvenca in lokacija vzorčenja).

NLZOH rezultate laboratorijskih analiz poroča najpozneje v 2 tednih od odvzema vzorca, to pomeni tretji ponedeljek v mesecih **marec, junij, september** in **december**.

Mesto odlaganja podatkov za NIJZ: Platforma Nextcloud na strežnikih NLZOH, NIJZ do podatkov dostopa kot zunanji uporabnik.

Podatki, ki jih NLZOH poroča NIJZ-ju:

- protokolna številka;
- datum začetka vzorčenja;
- oznaka sestavljenega vzorca (glej Preglednico 2);
- ime KČN, kadar gre za izredno vzorčenje (glej Preglednico 2);
- prisotnost poliovirusa v vzorcu odpadne vode (binarni zapis);
- sev poliovirusa, če je dokazana prisotnost poliovirusa v vzorcu odpadne vode;
- opombe - obvezne v primeru, da ni možno pridobiti katerega koli izmed obveznih podatkov, služi kot pojasnilo.

V primeru, da na NLZOH potrdijo pristonost poliovirusa (WPV1, WPV2, WPV3, VDPV1, VDPV2, VDPV3, aVDPV in iVDPV) v vzorcu odpadne vode, o tem takoj obvestijo nacionalno kontaktno točko za pripravljenost in odzivanje na Centru za nalezljive bolezni NIJZ.

---

V primeru, da na NLZOH potrdijo pristonost poliovirusa (WPV1, WPV2, WPV3, VDPV1, VDPV2, VDPV3, aVDPV in iVDPV) v vzorcu odpadne vode, NLZOH deli zapisnik vzorčenja na platformi Nextcloud na strežnikih NLZOH, NIJZ do podatkov dostopa kot zunanji uporabnik.

### 3.8 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav v Mrežo laboratorijev za polioviruse pri Svetovni zdravstveni organizaciji

NLZOH v Mrežo laboratorijev za polioviruse (GPLN) pri SZO poroča rezultate laboratorijskih analiz vzorcev odpadnih voda odvzetih skladno z načrtom vzorčenja (poglavje 3.1 Frekvenca in lokacija vzorčenja).

NLZOH rezultate laboratorijskih analiz poroča najpozneje v 2 tednih od odvzema vzorca, to pomeni tretji ponedeljek v mesecih marec, junij, september in december.

Mesto odlaganja podatkov za GPLN: spletni laboratorijski sistem za upravljanje podatkov o poliovirusih (LDMS) na strežniku SZO.

Podatki, ki jih NLZOH poroča na GPLN preko LDMS platforme CISID baze:

- država izvora vzorca;
- vrsta nadzora: okoljski /AFP/Enterovirus ;
- pokrajina-okrožje;
- laboratorijska številka vzorca (prikaži EPID št. - povezava s CISID za prevzem EPID številke in podatkov);
- stanje vzorca (kakovost: dobro/ slabo);
- podatek, ali je dokumentacija, količina, hladna veriga, embalaža skladna;
- podatek ali je bil vzorec ustrezno obdelan;
- vir vzorca: odpadne vode/drugi okoljski/neznano/AFP primer/kontakt/druge bolezni/zdravi;
- tip vzorca: drugo/neznano blato/rektalni bris/nazofaringalni bris, izpirek/CSF;
- datum odvzema vzorca;
- datum sprejema v analizo;
- rezultat izolacije testiranja na prisotnost poliovirusa v vzorcu odpadne vode;
- rezultat izolacije;
- datum zaključka izolacije;
- datum poročanja o izolaciji poliovirusa GPLN in datum pošiljanja;
- FTA vzorec poslan;
- opombe;
- tipizacija: enterovirus negativen/PV tip (P1 ,P2, P3);
- datum rezultata tipizacije;
- ITD izolata (tipizacija P1 ITD, P2 ITD, P3 ITD) ;
- datum ITD rezultata;
- datum sekvenciranje.

### 3.9 Interpretacija rezultatov

V državah prostih otroške paralize že 1 primer AFP, povzročen s polovirusom ali 1 pozitiven vzorec odpadne na WPV pomeni razmere, ki zahtevajo takojšnje javnozdravstveno ukrepanje.

Za namen interpretacije rezultatov spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah je bil vzpostavljen matematični model, ki omogoča oceniti občutljivost sistema glede na velikost vključene populacije

[45]. Ob upoštevanju povprečne dnevne količine izločenega poliovirusa, ki znaša  $10^7$  infekcijskih enot, bi izločanje poliovirusa 1 posameznika v vzorcu odpadne vode zaznali, če bi vzorec obsegal populacijo velikosti 15.000 oseb [46].

Pri interpretaciji laboratorijskih rezultatov sestavljenih vzorcev je potrebno upoštevati velikost populacije na prispevnem območju vseh v posamezni sestavljeni vzorec vključenih KČN (Preglednica 4).

Preglednica 3: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav po sestavljenih vzorcih.

Sestavljeni vzorec	Število prebivalcev na prispevnem območju	Ocenjeno število oseb na prispevnem območju, ki v času detekcije poliovirusa v odpadni vodi, le-tega izločajo <sup>1</sup>
1 - Osrednjeslovenska - Ljubljana	225.544	15,0
2 - Osrednjeslovenska - ostalo	167.329	11,2
3 - Primorska	89.208	5,9
4 - Celjsko-Novomeško	100.479	6,7
5 - Vzhodna Slovenija	140.515	9,4

<sup>1</sup> Ocenjena vrednost, povzeta po Hovi et al. [46].

Pri interpretaciji laboratorijskih rezultatov vzorcev posamezne KČN je potrebno upoštevati velikost populacije na prispevnem območju KČN (Preglednica 5).

Preglednica 4: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav.

Ime komunalne čistilne naprave	Število prebivalcev na prispevnem območju	Ocenjeno število oseb na prispevnem območju, ki v času detekcije poliovirusa v odpadni vodi, le-tega izločajo <sup>1</sup>
CČN Ljubljana	225.544	15,0
ČN Domžale-Kamnik	80.144	5,3
ČN Kranj	51.851	3,5
CČN Trbovlje	13.420	0,9
CČN Litija in Šmartno pri Litiji	13.364	0,9
CČN Zagorje	8.550	0,6
ČN Celje	42.415	2,8
OČN Šaleške doline	33.345	2,2
ČN Novo mesto	24.719	1,6
CČN Brežice	7.811	0,5
ČN Koper	54.355	3,6
ČN Nova Gorica	25.658	1,7
CČN Postojna	9.195	0,6
ČN Maribor	110.740	7,4
CČN Slovenj Gradec	12.266	0,8
CČN Murska Sobota	17.509	1,2

<sup>1</sup> Ocenjena vrednost, povzeta po Hovi et al. [46].

---

Pri interpretaciji rezultatov spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah je potrebno upoštevati:

- spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah je kvalitativno spremljanje, ki nam poda informacijo, ali so poliovirusi v odpadni vodi prisotni, ne poda nam informacije o količini poliovirusov v odpadni vodi. Izolacija poliovirusov pri spremljanju v odpadnih vodah običajno pomeni, da virus v populaciji izloča že več posameznikov;
- spremljanje poliovirusov v odpadni vodi nam poda informacijo o prisotnosti poliovirusov v odpadni vodi na prispevnem območju, ne poda nam informacije o okuženi osebi;
- sev prisotnega poliovirusa, saj je odzivanje vezano na značilnosti identificiranega poliovirusa. Sev poliovirusov so natančno opredeljeni v podpoglavju 2.1.1 Etiologija in kategorije sevov poliovirusov;
- rezultate iz sistemov epidemiološkega spremljanja, ki temeljijo na testiranju bolnikov z AFP ali iz nadomestnega epidemiološkega spremljanja vzorcev blata;
- značilnosti prispevnega območja (socio-demografske značilnosti prebivalcev);
- vrsta uporabljenega cepiva v programu cepljenja. Pri izolatih poliovirusa tipa 2 je potrebno jasno ločiti med imunostjo prebivalstva na poliovirus tipa 2 v primerjavi s tipoma 1 in 3. Upoštevati je potrebno ali je bila opazovana populacija cepljena z oralnim cepivom oziroma je bila cepljena le z inaktivnim cepivom;
- možna predhodna uporaba peroralnih cepiv, kot odziv na izbruh otroške paralize na opazovanem območju;
- možne okoljske dejavnike, ki bi lahko vplivali na inaktivacijo poliovirusov v odpadni vodi, kot so povečana temperatura, koncentracija amonijaka in pH. Možna prisotnost industrijskih odpadnih vod v vzorcih odpadne vode, lahko ovirajo razmnoževanje poliovirusov in vplivajo na njihovo slabše zaznavanje;
- možnost izpusta poliovirusov iz laboratorijev ali drugih obratov.

### *3.9.1 Definicija izbruha poliovirusov na podlagi prisotnosti v odpadnih vodah*

Definicije novega pojavnega dogodka, dogodka vnosa in izbruha poliovirusov (otroške paralize), ki jih je pripravil GPEI [12] so predstavljene v Nacionalnem načrtu pripravljenosti in odzivanja na pojav poliovirusov v Sloveniji. V nadaljevanju so predstavljeni kriteriji za nov pojavni dogodek, dogodek uvoza in izbruha poliovirusov, ki izhajajo iz rezultatov spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah.

#### **Nov pojavni dogodek**

Pojav novega VDPV:

- večkratno odkritje novo opredeljenega VDPV na 1 vzorčni lokaciji v 2 mesecih, brez viroloških dokazov o prisotnosti večih izločevalcev virusa (tj. genetska zaporedja so enaka ali skoraj enaka).

#### **Vnos poliovirusa**

Zaznavanje WPV ali cVDPV, brez dokaza prenosa v skupnosti, izpolnjen je eden izmed naslednjih kriterijev:

- 1 detekcija WPV ali cVDPV v vzorcu na needemičnem območju ali državi in brez dokazov o prenosu v lokalni skupnosti,
- večkratna detekcija WPV ali cVDPV na 1 lokaciji v manj kot 2 mesecih, brez dokaza o neprekinjeni razmnoževanju virusa. Izolati so genetsko identični ali skoraj identični in bi lahko ustrezali izločanju 1 same osebe.



---

## Izbruh

Odkritje WPV ali cVDPV s prenosom v skupnosti in izpolnjen je eden izmed naslednjih kriterijev:

- 2 ločeni detekciji, pri čemer so bili vzorci odvzeti na 2 različnih neprekrivajočih lokacijah ali pa na isti lokaciji, vendar v razmaku vsaj 2 mesecev;
- vsak na novo odkriti cVDPV (bodisi kadar je VDPV izoliran v človeškem blatu ali odpadni vodi), genetsko povezan z drugim VDPV, s čimer se potrdi kroženje virusa na območju detekcije.

### 3.10 Odzivanje na prisotnost poliovirusa v odpadnih vodah

Odzivanje se izvaja skladno z *Nacionalnim načrtom pripravljenosti in odzivanja za pojav poliovirusov v Sloveniji*.

### 3.11 Javno objavljanje rezultatov spremljanja

#### 3.11.1 Javno objavljanje rezultatov na spletni strani Nacionalnega inštituta za javno zdravje

Rezultati spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah so vsem javnostim dostopni na spletni strani NIJZ.

#### 3.11.2 Javno objavljanje rezultatov v strojno berljivi obliki

Rezultati spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah so v strojno berljivi obliki dostopni na portalu Odprti podatki Slovenije (OPSI).

### 3.12 Redno usklajevanje med Nacionalnim inštitutom za javno zdravje in Nacionalnim laboratorijem za zdravje, okolje in hrano

Strokovni skupini za spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah na NIJZ in NLZOH imata skupen sestanek najmanj 1-krat letno oziroma pogosteje, če je za to izkazana potreba.

---

#### 4. Reference

- [1] Paul, J.R. *A history of poliomyelitis*, 1st ed.; Yale University Press: New Haven, Združene države Amerike, 1971.
- [2] Aylward, R.B. Eradicating polio: today's challenges and tomorrow's legacy. *Ann Trop Med Parasitol* **2006**, *100* (5-6), 401-413, doi:10.1179/136485906X97354.
- [3] European Centre for Disease Prevention and Control. *Poliomyelitis situation update, tehcnical report, april 2023*. European Centre for Disease Prevention and Control, 2023. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/poliomyelitis-situation-update> (26. 06. 2023).
- [4] Schincariol, M.; Savić, J.; Slavec, Z.Z. Otroška paraliza – pozabljena bolezen? Otroška paraliza na Stari Gori. *Zdravniški vestnik* **2016**, *85* (2), doi:10.6016/ZdravVestn.1456.
- [5] Global Polio Eradication Initiative. *Global polio surveillance action plan 2022-2024*. World Health Organization, 2022. Dostopno na: <https://iris.who.int/handle/10665/354479> (13. 07. 2023).
- [6] Global Polio Eradication Initiative. *Standard operating procedures for polio environmental surveillance enhancement following investigation of a poliovirus event or outbreak*. World Health Organization, 2020. Dostopno na: <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2021/02/SOPs-for-Polio-ES-enhancement-following-outbreak-20210208.pdf> (12. 09. 2023).
- [7] Global Polio Eradication Initiative. *Guidelines on environmental surveillance for detection of polioviruses*. World Health Organization, 2015. Dostopno na: [https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/GPLN\\_GuidelinesES\\_April2015.pdf](https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/GPLN_GuidelinesES_April2015.pdf) (20. 09. 2023).
- [8] Global Polio Eradication Initiative. *Field guidance for the implementation of environmental surveillance for poliovirus*. World Health Organization, 2023. Dostopno na: <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2023/06/Field-Guidance-for-the-Implementation-of-ES-20230007-ENG.pdf> (04. 10. 2023).
- [9] World Health Organization. *Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation*. World Health Organization, 2003. Dostopno na: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67854> (25. 05. 2023).
- [10] Čížman, M. Otroška paraliza. In *Infekcijske bolezni*, 2nd ed.; Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo: Ljubljana, Slovenija, 2017; pp 229-230.
- [11] Estivariz, F.; Link-Gelles, R.; Shimabukuro, T. Poliomyelitis. In *The pink book: Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases*, 14th ed.; Centers for Disease Control and Prevention: Washington DC, Združene države Amerike, 2021; pp 275-288.
- [12] Global Polio Eradication Initiative. *Standard operating procedures: responding to a poliovirus event or outbreak, version 4*. World Health Organization, 2022. Dostopno na: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240049154> (28. 09. 2023).
- [13] European Centre for Disease Prevention and Control. Disease factsheet about poliomyelitis. 2021. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/poliomyelitis/facts> (29. 06. 2023).
- [14] Ghendon, Y.; Robertson, S.E. Interrupting the transmission of wild polioviruses with vaccines: immunological considerations. *Bull World Health Organ* **1994**, *72* (6), 973-983.
- [15] Heymann, D.L. *Control of communicable diseases manual*, 19th ed.; American Public Health Association: Washington DC, Združene države Amerike, 2008.
- [16] Mehndiratta, M.M.; Mehndiratta, P.; Pande, R. Poliomyelitis: historical facts, epidemiology, and current challenges in eradication. *The Neurohospitalist* **2014**, *4* (4), 223-229, doi:10.1177/1941874414533352.

- 
- [17] Tesini, B.L. Poliomyelitis (Infantile Paralysis; Acute Anterior Poliomyelitis; Polio). 2023. Dostopno na: <https://www.msmanuals.com/professional/infectious-diseases/enteroviruses/poliomyelitis> (16. 08. 2023).
- [18] Puzić Ravnjak, N.; Burger, H. Utrujenost pri osebah, ki so prebolele otroško paralizo. *Rehabilitacija (Ljubljana)* **2008**, 7 (2), 12-16.
- [19] Sáinz, M.P.; Pelayo, R.; Laxe, S. Castaño, B.; Capdevilla, E.; Portell, E. Describing post-polio syndrome. *Neural Engl Ed* **2022**, 37 (5), 346-354, doi:10.1016/j.nrleng.2019.03.023.
- [20] Global Polio Eradication Initiative. *Polio eradication strategy 2022–2026: delivering on a promise*. World Health Organization, 2021. Dostopno na: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240031937> (08. 08. 2023).
- [21] Groce, N.E.; Banks, L.M.; Stein, M.A. Surviving polio in a post-polio world. *Soc Sci Med* **2014**, 107, 171-178, doi:10.1016/j.socscimed.2014.02.024.
- [22] World Health Assembly. *Global eradication of poliomyelitis by the year 2000*. World Health Organization, 1988. Dostopno na: <https://iris.who.int/handle/10665/164531> (13. 06. 2023).
- [23] Deshpande, J.M.; Shetty, S.J.; Siddiqui, Z.A. Environmental surveillance system to track wild poliovirus transmission. *Appl Environ Microbiol* **2003**, 69 (5), 2919-2927, doi:10.1128/AEM.69.5.2919-2927.2003.
- [24] Hull, H.F.; Ward, N.A.; Hull, B.P.; Milstien, J.B.; de Quadros, C. Paralytic poliomyelitis: seasoned strategies, disappearing disease. *Lancet* **1994**, 343 (8909), 1331-1337, doi:10.1016/s0140-6736(94)92472-4.
- [25] World Health Organization. Statement of the thirty-sixth meeting of the polio IHR Emergency Committee. 2023. Dostopno na: <https://www.who.int/news/item/25-08-2023-statement-of-the-thirty-sixth-meeting-of-the-polio-ihf-emergency-committee> (02. 10. 2023).
- [26] European Centre for Disease Prevention and Control. *Communicable disease threats report, 13-19 August 2023, week 33*. European Centre for Disease Prevention and Control 2023. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/communicable-disease-threats-report-13-19-august-2023-week-33> (09. 10. 2023).
- [27] Global Polio Eradication Initiative. Polio now. 2023. Dostopno na: <https://polioeradication.org/> (15. 05. 2023).
- [28] Our World in Data. Share of one-year-olds who are vaccinated against polio. 2023. Dostopno na: <https://ourworldindata.org/grapher/polio-vaccine-coverage-of-one-year-olds> (29. 09. 2023).
- [29] Matjašič, M. Nekateri epidemiološki in virološki vidiki poliomielitisa v Sloveniji. *Obzornik Zdravstvene Nege* **1979**, 13 (6), 372-374.
- [30] Nacionalni inštitut za javno zdravje. Evidenca nalezljivih bolezni, NIJZ48. 2023.
- [31] Zakon o nalezljivih boleznih. 1995. Uradni list RS, št. 33/06 – uradno prečiščeno besedilo, 49/20 – ZIUZEOP, 142/20, 175/20 – ZIUOPDVE, 15/21 – ZDUOP, 82/21, 178/21 – odl. US in 125/22.
- [32] Pravilnik o določitvi Programa cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2022. 2022. Uradni list RS, št. 127/22.
- [33] Nacionalni inštitut za javno zdravje. Elektronski register cepljenih oseb in neželenih učinkov po cepljenju. 2023.
- [34] Nacionalni inštitut za javno zdravje. Priporočila za potnike v države, kjer se pojavlja otroška paraliza. 2023. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/potovalna-medicina/priporocila-za-potnike-v-drzave-kjer-se-pojavlja-otroska-paraliza/> (11. 08. 2023).

- 
- [35] Urad Vlade Republike Slovenije za oskrbo in integracijo migrantov. Sprejem, oskrba in nastanitev prosilcev za mednarodno zaščito. 2023. Dostopno na: <https://www.gov.si/teme/sprejem-oskrba-in-nastanitev-prosilcev-za-mednarodno-zascito/> (18. 09. 2023).
- [36] World Health Organization. Poliomyelitis vaccination coverage for Ukraine. 2022. Dostopno na: <https://immunizationdata.who.int/pages/coverage/pol.html?CODE=UKR&ANTIGEN=&YEAR=> (28. 06. 2023).
- [37] Public Health Center of the Ministry of Health of Ukraine. In 2021, Polio vaccination coverage was 80%. 2022. Dostopno na: <https://phc.org.ua/news/u-2021-roci-riven-okhoplennya-scheplennyami-ditey-proti-poliomielitu-buv-8> (28. 06. 2023).
- [38] World Health Organization. Catch-up polio immunization campaign to begin in Ukraine. 2022. Dostopno na: <https://www.who.int/europe/news/item/27-01-2022-catch-up-polio-immunization-campaign-to-begin-in-ukraine> (01. 07. 2023).
- [39] Dowdle, W.; van der Avoort, H.; de Gourville, E.; Delpeyroux, F.; Deshpande, J.; Hovi, T.; Martin, J.; Pallansch, M.; Kew, O.; Wolff, C. Containment of polioviruses after eradication and OPV cessation: characterizing risks to improve management. *Risk Anal* **2006**, *26* (6), 1449-1469, doi:10.1111/j.1539-6924.2006.00844.x.
- [40] Hovi, T.; Shulman, L.M.; van der Avoort, H.; Deshpande, J.; Roivainen, M.; D.E. Gourville E.M. Role of environmental poliovirus surveillance in global polio eradication and beyond. *Epidemiol Infect* **2012**, *140* (1), 1-13, doi:10.1017/S095026881000316X.
- [41] Anis, E.; Kopel, E.; Singer, S.R.; Kaliner, E.; Moerman, L.; Moran-Gilad, J.; Sofer, D.; Manor, Y.; Shulman, L.M.; Mendelson, E. Insidious reintroduction of wild poliovirus into Israel, 2013. *Euro Surveill* **2013**, *18* (38), 20586, doi:10.2807/1560-7917.es2013.18.38.20586.
- [42] Manor, Y.; Shulman, L.M.; Kaliner, E.; Hindiyeh, M.; Ram, D.; Sofer, D.; Moran-Gilad, J.; Lev, B.; Grotto, I.; Gamzu, R.; et al. Intensified environmental surveillance supporting the response to wild poliovirus type 1 silent circulation in Israel, 2013. *Euro Surveill* **2014**, *19* (7), 20708, doi:10.2807/1560-7917.es2014.19.7.20708.
- [43] Centers for Disease Control and Prevention. Tracking progress toward global polio eradication-worldwide, 2009-2010. *Morb Mortal Wkly Rep* **2011**, *60* (14), 441-445.
- [44] World Health Organization. Outbreak news. Poliovirus isolation, Egypt. *Morb Mortal Wkly Rep* **2013**, *88* (7), 74-75.
- [45] Ranta, J.; Hovi, T.; Arjas, E. Poliovirus surveillance by examining sewage water specimens: studies on detection probability using simulation models. *Risk Anal* **2001**, *21* (6), 1087-1096, doi:10.1111/0272-4332.t01-1-216174.
- [46] Hovi, T.; Stenvik, M.; Partanen, H.; Kangas, A. Poliovirus surveillance by examining sewage specimens. Quantitative recovery of virus after introduction into sewerage at remote upstream location. *Epidemiol Infect* **2001**, *127* (1), 101-106, doi:10.1017/s0950268801005787.
- [47] Böttiger, M.; Herrström, E. Isolation of polioviruses from sewage and their characteristics: experience over two decades in Sweden. *Scand J Infect Dis* **1992**, *24* (2), 151-155, doi:10.3109/00365549209052605.
- [48] van der Avoort, H.G.; Reimerink, J.H.; Ras, A.; Mulders, M.N.; van Loon, A.M. Isolation of epidemic poliovirus from sewage during the 1992-3 type 3 outbreak in the Netherlands. *Epidemiol Infect* **1995**, *114* (3), 481-491.
- [49] Al-Hello, H.; Jorba, J.; Blomqvist, S.; Raud, R.; Kew, O.; Roivainen, M. highly divergent type 2 and 3 vaccine-derived polioviruses isolated from sewage in Tallinn, Estonia. *J Virol* **2013**, *87* (23), 13076-13080, doi:10.1128/JVI.01174-13.

- 
- [50] Blomqvist, S.; Savolainen, C.; Laine, P.; Hirttiö, P.; Lamminsalo, E.; Penttilä, E.; Jöks, S.; Roivainen, M.; Hovi, T. Characterization of a highly evolved vaccine-derived poliovirus type 3 isolated from sewage in Estonia. *J Virol* **2004**, *78* (9), 4876-4883, doi:10.1128/JVI.78.9.4876-4883.2004.
- [51] Dedepsidis, E.; Kyriakopoulou, Z.; Pliaka, V.; Kottaridi, C.; Bolanaki, E.; Levidiotou-Stefanou, S.; Komiotis, D.; Markoulatos, P. Retrospective characterization of a vaccine-derived poliovirus type 1 isolate from sewage in Greece. *Appl Environ Microbiol* **2007**, *73* (21), 6697-6704, doi:10.1128/AEM.00535-07.
- [52] Roivainen, M.; Blomqvist, S.; Al-Hello, H.; Paananen, A.; Delpyroux, F.; Kuusi, M.; Hovi, T. Highly divergent neurovirulent vaccine-derived polioviruses of all three serotypes are recurrently detected in Finnish sewage. *Euro Surveill* **2010**, *15* (19), 19566.
- [53] Hovi, T.; Paananen, A.; Blomqvist, S.; Savolainen-Kopra, C.; Al-Hello, H.; Smura, T.; Shimizu, H.; Nadova, K.; Sobotova, Z.; Gavrilin, E.; et al. Characteristics of an environmentally monitored prolonged type 2 vaccine derived poliovirus shedding episode that stopped without intervention. *PLoS One* **2013**, *8* (7), e66849, doi:10.1371/journal.pone.0066849.
- [54] El Bassioni, L.; Barakat, I.; Nasr, E.; de Gourville, E.M.; Hovi, T.; Blomqvist, S.; Burns, C.; Stenvik, M.; Gary, H.; Kew, O.M. Prolonged detection of indigenous wild polioviruses in sewage from communities in Egypt. *Am J Epidemiol* **2003**, *158* (8), 807-815, doi:10.1093/aje/kwg202.
- [55] Blomqvist, S.; El Bassioni, L.; El Maamoon Nasr, E.M.; Paananen, A.; Kaijalainen, S.; Asghar, H.; de Gourville, E.; Roivainen, M. Detection of imported wild polioviruses and of vaccine-derived polioviruses by environmental surveillance in Egypt. *Appl Environ Microbiol* **2012**, *78* (15), 5406-5409, doi:10.1128/AEM.00491-12.
- [56] Manor, Y.; Handsher, R.; Halmut, T.; Neuman, M.; Bobrov, A.; Rudich, H.; Vonsover, A.; Shulman, L.; Kew, O.; Mendelson, E. Detection of poliovirus circulation by environmental surveillance in the absence of clinical cases in Israel and the Palestinian authority. *J Clin Microbiol* **1999**, *37* (6), 1670-1675, doi:10.1128/JCM.37.6.1670-1675.1999.
- [57] Manor Y, Blomqvist S, Sofer D, et al. Advanced environmental surveillance and molecular analyses indicate separate importations rather than endemic circulation of wild type 1 poliovirus in Gaza district in 2002. *Appl Environ Microbiol* **2007**, *73* (18), 5954-5958, doi:10.1128/AEM.02537-06.
- [58] Vinjé, J.; Gregoricus, N.; Martin, J.; Gary, H.E.; Caceres, V.M.; Venczel, L.; Macadam, A.; Dobbins, J.G.; Burns, C.; Wait, D. Isolation and characterization of circulating type 1 vaccine-derived poliovirus from sewage and stream waters in Hispaniola. *J Infect Dis* **2004**, *189* (7), 1168-1175, doi:10.1086/382545.
- [59] Riordan, J.T. Isolation of enteroviruses from sewage before and after vaccine administration. *Yale J Biol Med* **1962**, *34* (5), 512-521.
- [60] Hovi, T.; Cantell, K.; Huovilainen, A.; Kinnunen, E.; Kuronen, T.; Lapinleimu, K.; Pöyry, T.; Roivainen, M.; Salama, N.; Stenvik, M. Outbreak of paralytic poliomyelitis in Finland: widespread circulation of antigenically altered poliovirus type 3 in a vaccinated population. *Lancet Lond Engl* **1986**, *1* (8495), 1427-1432, doi:10.1016/s0140-6736(86)91566-7.

---

## 5. Priloge

### 5.1 Priloga 1: Epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah v svetu

Za namen spremljanja kroženja WPV ter VDPV v populaciji je bilo v več državah vzpostavljeno redno ali začasno vzorčenje odpadnih vod. Zbrane dobre prakse spremljanja odpadne vode v tujih državah predstavljajo pomemben vir informacij za vzpostavitev sistema vzorčenja odpadnih vod tudi v Sloveniji. Predstavljene publikacije opisujejo različne pristope spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah. V Preglednici 1 so predstavljene dobre prakse spremljanja WPV in VDPV v odpadnih vodah posameznih držav.

Preglednica 1: Dobre prakse spremljanja divjih sevov poliovirusa in sevov poliovirusa, pridobljenih s cepljenjem v odpadnih vodah iz posameznih držav.

Država	Namen spremljanja, obdobje spremljanja/leto zaznave spremenjenega seva	Uporabljen pristop	Število lokacij, pogostost vzorčenja in velikost vzorca	Potrjen tip poliovirusa v odpadni vodi	Izvor virusa
Švedska [47]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 1967; - obdobje spremljanja: 1967 do 1990.	Vzorčenje odpadne vode z uporabo večplastne blazinice iz bombažne gaze.	- 3 lokacije v mestu Stockholm.	WPV1, WPV2 in WPV3.	Vnesen.
Nizozemska [48]	- Odzivanje na pojav primera otroške paralize, brez predhodno vzpostavljenega sistema rutinskega spremljanja odpadne vode; - obdobje spremljanja: 1992 do 1993.	Vzorčenje odpadne vode in rečne vode.	- 2 lokaciji na območju začetne okužbe, razširitev na 120 lokacij v okoliških regijah; - 0,5 L vzorca.	WPV3.	Vnesen.
Estonija [49,50]	- Vzpostavljen sistem rutinskega spremljanja odpadne vode; - Leto zaznave: 2002, 2008, 2009 in 2010.	Vzorčenje odpadne vode na dotoku komunalnih čistilnih naprav in z uporabo večplastne blazinice iz bombažne gaze.	- 2 lokaciji v mestu Talin; - 1-krat mesečno; - 1 L vzorca.	VDPV2 in VDPV3.	/
Grčija [51]	- Obdobje spremljanja: april do december 1997; - Leto zaznave: 1997	/	- 1 L vzorca.	VDPV1.	/
Finska [52]	- Vzpostavljen sistem rutinskega spremljanja odpadne vode; - Leto zaznave: 2008, 2009 in 2010.	/	/	VDPV1, VDPV2 in VDPV3.	/
Slovaška [53]	- Obdobje spremljanja 2003 do 2005; - Leto zaznave: 2003, 2004 in 2005.	Vzorčenje iz glavnih kanalizacijskih kanalov.	- 48 lokacij po državi; - 2-krat mesečno; - 1 L vzorca.	VDPV2.	/
Egipt [54]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 2000; - obdobje spremljanja: januar do december 2001.	Vzorčenje odpadne vode na dotoku komunalnih čistilnih naprav in iz krajevnih odprtih kanalov.	- 11 lokacij po državi; - 1-krat do 2-krat mesečno; - 1 L vzorca.	WPV1.	Avtohton.



Država	Namen spremljanja, obdobje spremljanja/leto zaznave spremenjenega seva	Uporabljen pristop	Število lokacij, pogostost vzorčenja in velikost vzorca	Potrjen tip poliovirusa v odpadni vodi	Izvor virusa
Egipt [55]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 2000; - obdobje spremljanja: 2005 do 2010.	/	/	WPV1, VDPV1 in VDPV2.	Vnesen.
Indija [23]	- Preučevanje izvedljivost dolgoročnega spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah; - obdobje spremljanja: januar do december 2001.	Vzorčenje odpadne vode iz kanalizacijskega sistema iz črpališča po odstranitvi večjih plavajočih predmetov in odprtih kanalov, kamor se odvaja odpadna voda iz gospodinjstev (zajemanje odpadne vode z vedrom).	- 3 lokacije v otoškem mestu Mumbai; - 1-krat tedensko *(št. vzorcev na časovno enoto se lahko zmanjša); - 2 L vzorca *(1 L vzorca je dovolj).	WPV1 in WPV3.	Avtohton.
Izrael, Zahodni Breg in Gaza [56]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 1989; - obdobje spremljanja: februar 1989 do februar 1997.	Vzorčenje odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav s avtomatskim vzorčevalnikom ali z ročnim vzorčenjem in vzorčenje z uporabo večplastne blazinice iz bombažne gaze.	- 25 do 30 lokacij po državi; - 1-krat mesečno; - 1,5 do 2 L vzorca.	WPV1.	Vnesen.
Izrael, Zahodni Breg in Gaza [57]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 1989; - obdobje spremljanja: 1998 do 2006.	Vzorčenje odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav s avtomatskim vzorčevalnikom ali z ročnim vzorčenjem.	- 15 lokacij po državi; - 1-krat mesečno - 1,5 do 2 L vzorca	WPV1.	Vnesen.
Izrael [41]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 1988; - obdobje spremljanja: februar do september 2013.	Vzorčenje odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav.	- 8 do 10 lokacij po državi (ob pojavu okužb razširili na 79 lokacij); - 1-krat mesečno.	WPV1.	Vnesen.
Hispaniola, USA [58]	- Obdobje spremljanja: november do december 2000; - Leto zaznave: 2000	Vzorčenje odpadne vode iz komunalnih čistilnih naprav in vode iz potokov ter kanalov.	- 1 L vzorca.	VDPV1.	/

Legenda: / - ni podatka.

---

## Švedska

Na Švedskem sta Böttiger in Herrström [47] med leti 1967 in 1990 v Stockholmu vzorčili odpadno vodo iz 3 KČN. Primerov avtohtonega WPV na Švedskem ni bilo zaznanega od leta 1962. Vzorčenje so izvajali na dotoku KČN z tesno povezano večplastno blazinico iz bombažne gaze (velikosti 4 x 4 cm). Ta je bila pritrjena in izpostavljena toku odpadne vode en teden, nato so blazinico odstranili in transportirani v laboratorij pri 4 °C v 24 urah oziroma pri – 20 °C, v kolikor je bila predvidena zamuda [59]. V opazovanem obdobju so skupno zbrali 950 vzorcev odpadne vode, kjer so v 22 vzorcih odkrili prisotnost Sabinu podobne viruse in v 51 vzorcih prisotnost WPV. Časovna razporeditev pozitivnih vzorcev je bila naslednja: 24 (3 %) vzorcev od 741-tih odvzetih vzorcev med leti 1967 in 1972; 7 (19 %) vzorcev od 37 odvzetih vzorcev leta 1974; 19 (48 %) vzorcev od 40 odvzetih vzorcev leta 1977; 18 (22 %) vzorcev od 54 odvzetih vzorcev leta 1985; ter 11 (6 %) vzorcev od 78 odvzetih vzorcev med leti 1986 in 1989. Na podlagi zbranih letnih rezultatov naključnega testiranja blata švedskih bolnikov niso odkrili dokazov o kroženju poliovirusa v populaciji, zato predvidevajo, da so okužene osebe virus vnesle iz tujine. Zaključili so, da je spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah eno izmed bistvenih sredstev za globalno izkoreninjanje otroške paralize [47].

## Nizozemska

Na Nizozemskem so van der Avoort et al. [48] preučevali izbruh WPV3. Po potrditvi začetnega primera otroške paralize pri 14-letnem dečku, so izvedli vzorčenje odpadne vode na 2 bližnjih lokacijah. Dodatno so bili analizirani vzorci rečne vode gorvodno od domačega kraja bolnika, ki so bili odvzeti 3 do 5 tednov pred potrjenim primerom. Po pozitivnih rezultatih vzorcev odpadne vode in vzorca rečne vode gorvodno 3 tedne pred pojavom primera, so vzorčenje odpadne vode razširili na 120 lokaciji. Lokacije vzorčenja so izbrali na podlagi območji, kjer so predhodno bili zaznani izbruhi otroške paralize, območji z necepljenim prebivalstvom ter na lokacijah, kjer je bil vpliv industrije na vzorec odpadne vode majhen. Vzorci so bili odvzeti ob dnevih brez dežja (vzorec 0,5 L), da bi preprečili njegovo redčenje. Vzorci so bili odvzeti v temne steklenice in transportirani v laboratorij pri 4 °C v 24 urah. Med septembrom 1992 in februarjem 1993 so skupno zabeležili 71 primerov otroške paralize. V opazovanem obdobju so zbrali 269 vzorcev odpadne vode, kjer so v 23 vzorcih (8,55 %) odkrili prisotnost WPV3 (vsi iz lokacij, kjer prebivalstvo ni bilo cepljeno) ter v 30 vzorcih (11,15 %) Sabin viruse. Z vzorčenjem odpadnih vod so uspešno zaznali prisotnost WPV, 1 teden pred pojavom primerov bolnikov s tega območja. Na območjih odkritega WPV so sprožili kampanijo cepljenja za necepljenje in nepopolno cepljene osebe. Zaključili so, da lahko rutinsko spremljanje odpadnih voda napove možne izbruhe otroške paralize in s tem omogoči službi javnega zdravja pravočasno odzivanje in izvajanje preventivnih ukrepov. Glede na to, da so se okužbe pojavljale tudi 75 do 100 km stran od začetnega primera okužbe, le-to nakazuje na možno tveganje širjenja WPV med necepljeno populacijo po celotnem ogroženem območju.

## Estonija

V Estoniji so Blomqvist et al. [50] iz vzorca odpadne vode v Talinu (glavno mesto Estonije) oktobra 2002 izolirali VDPV3 (E252), ki je najvrjetneje motiral iz uporabljenih cepiv in imel značilnosti iVDPV. Omenjeni poliovirus je bil izoliran med rutinskim spremljanjem odpadne vode za kroženje WPV. V Estoniji ni bilo primerov otroške paralize od leta 1961. Vzorčenje se je v Talinu izvajalo na 2 lokacijah 1-krat mesečno. Vzorčenje so izvajali na dotoku KČN po načelu »pasti« z tesno povezano večplastno blazinico iz bombažne gaze (približno 10 x 10 x 2 cm). Ta je bila nameščena na steno kanalizacije in

---

izpostavljena (potopljena) toku odpadne vode 6 dni, nato so blazinice odstranili in prenesli v laboratorij (v posodi z 10 ml hladne raztopine Hanksove soli z pH 7,5). V prvi polovici leta 2002 je bilo odvzetih 13 vzorcev odpadne vode, kjer so v 1 vzorcu zaznali VDPV3. Kot odziv na pozitiven rezultat analize vzorca so vzorčenje v Talinu razširili še na 4 lokacije. Ob tem sta bila odvzeta tudi 2 vzorca odpadne vode po 1 L, odvzeta iz dotoka čistilne naprave in transportirana pri 4 °C v laboratorij. Določili so, da je pri izoliranem VDPV3 (E252), najverjetneje šlo za kombinacijski sklop polivirusov cepiv Sabin virusa tipa 3 in Sabin virusa tipa 1. S vidika strukture je imel virus potencial za širjenje v populaciji, saj je imel opažene antigenske spremembe, ki bi se lahko izognile imunosti povzročene s cepljenjem. Kljub temu v nadaljnjem spremljanju odpadne vode, iz vzorcev niso uspeli izolirati omenjenega seva poliovirusa, prav tako ni bilo zaznanega nobenega primera otroške paralize. Na podlagi zbranih podatkov niso našli dokazov o kroženju omenjenega virusa v populaciji, vendar predvidevajo, da je bil opisan sev poliovirusa uvožen iz tujine.

V Estoniji so Al-Hello et al. [49] iz odpadne vode v Talinu po letu 2002, leta 2008 ponovno izolirali VDPV3 (E252). Poleg omenjenega genoma poliovirusa so v odpadnih vodah leta 2008, 2009 in 2010 izolirali visoko evolucionsko razvit VDPV2. Podatki kažejo, da bi lahko omenjen poliovirus izvirali iz neidentificiranih imunsko pomanjklivih kronično okuženih posameznikov. Zaključili so, da je visoka stopnja cepljenja proti poliovirusu, skupaj z visoko stopnjo higiene ključna za omejitev možnega širjenja iVPDV v razvitih državah. Prisotnost oseb v populaciji z dolgotrajnimi in neprepoznanimi okužbami različnih VDPV, poudarja pomen ohranjanja visoke ravni imunosti prebivalstva proti poliovirusom, še leta po eliminaciji avtohtonih WPV.

## Grčija

V Grčiji so Dedepsidis et al. [51] med aprilom in decembrom 1997 v Antenah izvajali vzorčenje odpadne vode iz KČN. Skupno so zbrali 14 vzorcev odpadne vode po 1 L, na katerih so izvedli molekularno in fenotipsko karakterizacijo pozitivnih vzorcev na VDPV. Ugotovili so, da sta 2 izolata izvirala iz cepiva Sabin tipa 2, 2 izolata iz cepiva Sabin tipa 3 in 1 izolat iz cepiva Sabin tipa 1. Novo ugotovljen izolat aVDPV (7/b/97) se je močno razlikoval od prvotnega virusa cepiva Sabin tipa 1, kjer so zaznali rekombinacijski dogodek na kapsidi v nestrukturiranem delu genoma med cepilnim sevom in neidentificiranim Enterovirusom C. Zaključili so, da izolacija tako genomsko spremenjenega VDPV predstavlja potrebo po izvajanju nadzora v odpadnih vodah za ugotavljanje pomembnih genskih izolatov, ki bi lahko bili potencialni vir izbruhov poliovirusa tudi v državah z visoko stopnjo precepljenosti.

## Finska

Na Finskem so Roivainen et al. [52] od decembra 2008 v odpadnih vodah v mestu Tampere izolirali 21 genetsko zelo različnih nevrovulentnih VDPV1, VDPV2 in VDPV3. Na Finskem niso poročali o primeru oziroma sumu na otroško paralizo od leta 1985. Vir VDPV ni bil prepoznan, vendar epidemiološki in genetski podatki nakazujejo na možen izvor proučevanega seva poliovirusa iz neidentificiranih imunsko pomanjklivih oseb z kronično okužbo. Izpostavili so, da se bolniki z hipogamaglobulinemijo lahko okužijo bodisi neposredno z oralnimi cepivi ali zaradi stika z okuženo osebo. Po okužbi lahko omenjeni bolniki izločajo poliovirus še več let oziroma do konca življenja. Čeprav ni poznanega medicinskega zdravljenja, ki bi omogočilo prenehanje izločanja virusa, se lahko tveganje za prenos okužbe pri imunsko pomanjklivem bolniku na njegove bližnje zniža s poživitvenim cepljenjem z inaktiviranim cepivom proti otroški paralizi. Čeprav so bili izolirani sevi VDPV oslabljeni, so ti imeli sposobnost

---

ponovne pridobitve nevrovirulentnosti. Zaključili so, da ponavljajoča izolacija genetsko različnih nevrovirulentnih VDPV poudarja pomen ohranjanja visoke precepljenosti proti otroški paralizi ter kaže na pomembnost spremljanja odpadnih vod za namen nadzora poliovirusov.

## Slovaška

Na Slovaškem so Hovi et al. [53] v mestu Bratislava iz odpadne vode izolirali VDPV2, ki se je močno razlikoval od povezanega cepilnega Sabin virusa tipa 2 in se je v odpadni vodi večkrat pojavljal v obdobju 22 mesecev v letih 2003 do 2005. Spremljanje odpadne vode je zajemalo 48 lokacij po vsej državi in je bilo izvajano 2-krat mesečno iz glavnih kanalizacijskih kanalov (vzorec 1 L). Odkritje VDPV2 aprila 2003 je spodbudilo h iskanju potencialnih bolnikov s pomanjklivim imunskim sistemom, vendar osebe niso uspeli indentificirati. V obdobju pojavljanja aVDPV ni bilo zaznanih kliničnih primerov poliovirusa. Kljub temu dolgotrajno pojavljanje nevrovirulentnih in antigensko spremenjenih sevov v okolju, potencialno lahko povzroči tveganje za prenos poliovirusa na populacijo. To je najverjetneje preprečila visoka precepljenost prebivalstva. V letu 2005 se je pojavljanje VDPV nenadoma prenehalo, kar nakazuje, da se je okužena oseba verjetno preselila na drugo lokacijo.

## Egipt

V Egiptu so El Bassioni et al. [54] med januarjem in decembrom 2001 v 8 provincah (Asuan, Gharbia, Minya, Fajum, Beni Suef, Asyut, Sohag in Qena) vzorčili odpadno vodo iz KČN in krajevnih odprtih kanalov na 11 lokacijah. V Egiptu imajo vzpostavljen državni sistem spremljanja poliovirusa v odpadnih vodah od leta 2000. Lokacije za odvzem odpadne vode so bile izbrane glede na območja, kjer so v zadnjih 3 letih zaznali potrjene primere otroške paralize oziroma je bilo prebivalstvo na območju slabo precepljeno. Vzorčenje na posamezni lokaciji je bilo izvedeno 1-krat do 2-krat mesečno iz strani usposobljene lokalne organizacije. Vzorce so odvzeli na dotoku KČN med največjim jutranjim pretokom (1 L vzorec). Na lokacijah, kjer je bil prisoten krajeven odprt kanal so odvzeli 4 vzorce po 250 ml v štiriurnih intervalih, ki so bili združeni v sestavljen vzorec. Vzorca odpadne vode so bili hranjeni na hladnem do analize v laboratoriju in običajno analizirani v 1 dnevu. V opazovanem obdobju so zbrali 130 vzorcev odpadne vode, kjer so v 74-tih vzorcih (57 %) odkrili prisotnost WPV1. V večini vzorcev je bila ugotovljena tudi prisotnost enterovirusov ter Sabin podobnih virusov, kot posledica uporabe peroralnega cepiva proti poliovirusu. Pozitivni vzorci WPV1 iz odpadne vode so bili zaznani na 10 od 11 (91 %) lokacij, ob tem so le na 2 lokacijah poročali o primerih AFP. Na lokacijah 5 provinc so po začetnem pozitivnem vzorcu odpadne vode, le-te na KČN zaznavali neprestano še 3 ali več mesecev. To nakazuje, da WPV1 lahko med populacijo kroži brez povzročanja tipičnih paralitičnih simptomov, hkrati pa kaže na pomanjklivosti standardnega testiranja na otroško paralizo.

V Egiptu so Blomqvist et al. [55] med leti 2005 in 2010 s spremljanjem odpadnih vod, ugotovili 3 neodvisne uvoze WPV1 (od leta 2005 je bil Egipt potrjen kot država brez otroške paralize). Hkrati je bilo na različnih lokacijah v Egiptu, ugotovljenih več pozitivnih vzorcev na VDPV2 in VDPV1. Rezultati raziskave poudarjajo pomembnost stalnega nadzora odpadnih vod, kot podpora standardnemu kliničnemu testiranju na otroško paralizo. Zaključili so, da kljub temu, da je prenos WPV trenutno globalno omejen, ta še ni popolnoma prekinjen in obstaja možnost širjenja poliovirusa v državah, ki so načeloma proste otroške paralize. Tako lahko uvožen primer WPV povzroči ponovne izbruhe okužb med dovzetno populacijo.

---

## Indija

V Indiji so Deshpande et al. [23] med januarjem in decembrom 2001 v otoškem mestu Mumbai vzorčili odpadno vodo na 3 območji v mestu (Wadala, Dharav, Shivajinagar), kjer je bilo prepoznano visoko tveganje za »tihu« prenos WPV (tj. gosto poseljena in revna območja). V izvedeni raziskavi so preučevali izvedljivost dolgoročnega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi. Določitev lokacij za odvzem vzorcev odpadne vode so izbrali na podlagi večletnega poznavanja pojavnosti primerov AFP na različnih območjih v Mumbaju. Vzorčenje na posamezni lokaciji je bilo izvedeno 1-krat tedensko. Na območju Wadala so bili vzorci odpadne vode odvzeti iz kanalizacijskega sistema iz črpališča po odstanitvi večjih plavajočih predmetov, medtem, ko so bili vzorci na območjih Dharav, Shivajinagar odvzeti iz 2 do 3 kilometre dolgih odprtih kanalov, kamor se je odvaja odpadna voda iz gospodinjstev. Vzorčenje je potekalo z zajemanjem odpadne vode z vedrom in prenosom vzorca v čisto steklenico (2 L vzorca). Vzorca so bili prepeljani v laboratorij v roku 1 ure. V opazovanem obdobju so zbrali 137 vzorcev odpadne vode, kjer so v 35 vzorcih (26 %) odkrili prisotnost WPV1 in v 1 vzorcu WPV3. Na vseh 3 območjih so zaznali Sabin podobne viruse tipa 1, 2 in 3, skupno v 86 (62,77 %) vzorcih. Ugotovljene so bile 4 podlinije WPV1: A, B, C in D. Po ugotovitvi pozitivnega vzorca odpadne vode na WPV, je ta ostal v obtoku od 2 do 3 mesece. V 2 primerih je vnos WPV (pozitivnega vzorca na poliovirus) povzročil nadaljno zaznavanje virusa v odpadnih vodah še 5 do 7 mesecev. Odsotnost različnih izolatov istih linij poliovirusa v posameznem obdobju, v študiji kaže na omejeno kroženje WPV v populaciji in hitro ustavitev izbruha. V obdobju spremljanja so ugotovili 1 primer AFP, ob tem so prisotnost poliovirusa v odpadni vodi odkrili 3 mesece prej, kot je to uspelo storiti z standarnim nadzorom AFP. Zaključili so, da spremljanje poliovirusov v odpadnih vodi zahteva veliko virov in dela, vendar lahko na podlagi predhodnih epidemioloških podatkov, število vzorčnih mest in tako stroške močno zmanjša. Ugotovili so, da je količinsko 1 L vzorca dovolj za odkrivanje WPV v odpadnih vodah, hkrati pa glede na poročila Hovi et al. [46], se ta lahko dodatno zmanjša. Nadaljno so Deshpande et al. [23] ugotovili, da so izolirani WPV iz zaporednih tedenskih vzorcev odpadne vode iste genetske linije, zato je mogoče število vzorcev na časovno enoto zmanjšati, brez znižanja občutljivosti za odkrivanje poliovirusov. Pri spremljanju poliovirusov v odpadnih vodah je negativen vzorec odpadne vode na WPV, pomemben rezultat le v primeru dolgoročnega spremljanja, medtem, ko je pozitiven vzorec lahko v vsakem primeru spodbuda za izvedbo načrtovanih ukrepov.

## Izrael, Zahodni Breg in Gaza

V Izraelu in Palestinski skupnosti so Manor et al. [56] med februarjem 1989 in februarjem 1997 v 17 judovskih mestih, 10 arabskih mestih, 6 mestih z mešanim prebivalstvom in v 3 arabskih begunskih taboriščih vzorčili odpadno vodo iz KČN na 25 do 30 lokacijah. V Izraelu in Palestinski skupnosti imajo vzpostavljen državni sistem spremljanja poliovirusa v odpadnih vodah od leta 1989. Vzorčenje na posamezni lokaciji je bilo izvedeno 1-krat mesečno iz strani usposobljene lokalne organizacije. Vzorca so bili odvzeti na podlagi 24-urnega sestavljenega vzorca s avtomatskim vzorčevalnikom ali z ročnim vzorčenjem vsake pol ure v času največje obremenitve (1,5 do 2 L vzorca). Alternativen način vzorčenja je predstavljalo vzorčenje z uporabo večplastne blazinice iz bombažne gaze, ki je bila položena v kanalizacijski sistem za 24 do 48 ur. Vzorca odpadne vode ali blazinica gaze so bili hranjeni na temperaturi 4 °C do analize v laboratoriju. V opazovanem obdobju so zbrali 2294 vzorcev odpadne vode, kjer so v 17 vzorcih (0,7 %) odkrili prisotnost WPV v 4 »tihih« izbruhov poliovirusa in sicer septembra 1990 izbruh WPV3; med majem in septembrom 1991, med oktobrom 1994 in junijem 1995 ter decembra 1996 izbruhu WPV1. 15 od 17 pozitivnih vzorcev je bilo zbranih na območju Gaze, 1 vzorec na Zahodnem bregu in 1 vzorec v izraelskem mestu Ašdod, ki leži blizu Gaze. Večina izolatov WPV je bila ugotovljenih v odpadnih vodah predmestnih skupnosti s slabimi sanitarnimi in socialno-

---

ekonomskimi razmerami. Vendar iz omenjenega ni mogoče sklepati, da virus kroži samo v takšnih skupnostih, zaradi razlik kanalizacijskega sistema v večjih mestih. Večja mesta so lahko v primerjavi s predmestnimi skupnostimi povezana z različno vrsto kanalizacijskega sistema in vsebnostjo drugih snovi v odpadni vodi. V večjih KČN obstaja možnost velikega rečenja gospodinjskih odpadnih voda z ostalimi vrstami odpadne vode ter možnost vpliva industrijskih odpadnih voda na vzorec. Hovi et al. [60] ocenjujejo, da v industrijsko razvitih skupnostih bi morale virus izločati približno 1 % prebivalstva, da bi le-tega lahko zaznali v nekoncentriranem vzorcu odpadne vode. Zato Manor et al. [56] menijo, da je potrebno pri vzorčenju odpadnih vod iz industriskih skupnosti izvesti nevtralizacijo vzorca ter kasnejšo njegovo koncentriranje. Z nadzorom AFP ni bilo odkritega nobenega primera otroške paralize, ki je krožil v opazovani populaciji. Zaključili so, da ima spremljanje poliovirusov v odpadnih vodah pomembno vlogo pri izkoreninjanju otroške paralize. Spremljanje v odpadnih vodah lahko podaja tako kvalitativne, kot kvantitativne informacije o kroženju poliovirusa v populaciji.

V Izraelu in Palestinski skupnosti so Manor et al. [57] med letom 1998 do 2006 nadaljevali s spremljanjem odpadne vode iz KČN z zmanjšanim številom lokacij vzorčenja na 15, ki so zajemala predvsem večja mesta z visokim tveganjem. Vzorčenje na posamezni lokaciji je bilo izvedeno 1-krat mesečno. Vzorci so bili odvzeti vsakih 30 do 60 minut na podlagi 24-urnega sestavljenega vzorca s avtomatskim vzorčevalnikom. Ponekod se je vzorčenje izvajalo ročno vsakih 30 minut med 3 urami največje jutranjega pretoka (1,5 do 2 L vzorca). Vzorci odpadne vode so bili med transportom v laboratorij in 1 tednu skladiščenja pred laboratorijsko analizo hranjeni na temperaturi 4 °C. Po pričakovanjih je bila večina (98 %) izolatov poliovirusov iz vzorcev odpadne vode identificirani kot cepilni sevi virusa. Kljub izvajanju obsežnega programa cepljenja v obdobju spremljanja odpadnih vod je bilo spremljanje WPV uspešno. S spremljanjem odpadnih vod so ugotovili 2 izolata WPV1 iz območja Gaze, ki nista bila povezana z endemičnim kroženjem virusa v državi, vendar sta bila najverjetneje uvožena iz Egiptovskih južnih provinc. Ugotovitve študije prikazujejo možnost stalnega širjenja WPV v regijah brez otroške paralize in poudarja pomembnost daljnoročnega spremljanja odpadnih vod pri izkoreninjanju poliovirusa.

V Izraelu so Anis et al. [41] s spremljanjem odpadnih vod, aprila leta 2013 zaznali WPV1, ki je kasneje vodil v številne izbruhe otroške paralize po državi. Pred tem je zadnji večji izbruh poliovirusa v Izraelu bil zaznan leta 1988, medtem, ko leta 2002 je bil Izrael potrjen kot država brez otroške paralize. Od leta 1988 je spremljanje z vzorčenjem odpadne vode potekalo na 8 do 10 KČN, ki so se nahajale v večjih naseljenih območjih in območjih prepoznanih, kot kontrolne točke za tvegan vnos WPV. Vzorčenje na posamezni lokaciji je bilo izvedeno 1-krat mesečno. Po odkritju WPV so nadzor z vzorčenjem odpadnih vod razširil na 79 vzorčevalnih lokacij po celotni državi. Med februarjem in septembrom 2013 so tako skupno zbrali 220 vzorcev odpadne vode, kjer so v 87 vzorcih (39,55 %) odkrili prisotnost WPV1. Ta je izviral iz Južne Azije, ki je v tistem obdobju krožil v Pakistanu in je bil decembra 2012 izoliran v Egiptu. Predvidevajo, da je šlo najverjetneje za asimptomatske prenašalce, ki so potovali preko države. K širjenju WPV1 pa so pripomogli tudi otroci, ki se po letu 2005 niso zaščitili z oralnim cepljenjem, zaradi ukinitve rutinskega programa cepljenja. Na območjih odkritega WPV so sprožili kampanijo cepljenja, da bi povečali precepljenost otrok. Hkrati pa so uvedli poživitveno cepljenje za vse odrasle, ki niso imeli dokaza o dodatnem cepljenju v odrasli dobi (npr. pred potovanjem v države, kjer je poliovirus endemičen). K cepljenju so nagovorili tudi vse delavce KČN in migrantske skupnosti iz Egipta, ki so se v Izrael preselile po letu 2007. Za povečanje precepljenosti so bile zdravnikom in ostali javnosti dostopne strokovne informacije o poliovirusih in cepljenju, ki so bile komunicirane preko tradicionalnih in družbenih medijev ter interneta. Med drugim so ustvarili nacionalno higiensko kampanijo, kjer so javnost ozaveščali o kroženju WPV ter o higieni umivanja rok oziroma osebni higieni. Po odkritju WPV so v Izraelu razširili nadzor AFP na vse starostne skupine. Zaključili so, da je sistem spremljanja poliovirusov v odpadnih vodah omogočil pravočasno odkrivanje kroženja virusa v populaciji in nadaljnjo

---

preiskavo ter načrtovanje učinkovitega nacionalnega odziva. Spremljanje polivirusov v odpadnih vodah so opredelili, kot pomembno opozorilno orodje za države v katerih se otroška paraliza ne pojavlja več.

#### Hispaniola, Amerika

V Hispanioli (Amerika) so Vinjé et al. [58] med novembrom in decembrom 2000 po potrditvi prisotnosti cVDPV v kliničnem vzorcu blata, izvedli vzorčenje odpadne vode iz KČN in vode iz potokov ter kanalov. Leta 2000 so v Hispanioli skupno zabeležili 21 primerov AFP. Lokacije odvzema vzorcev so zajemala tako območja s prisotnimi primeri AFP, kot tudi območja kjer primerov AFP niso zaznali. Odvzetih je bilo 55 vzorcev odpadne vode (1 L vzorca), kjer je bilo od 23 pozitivnih vzorcev (41,81 %), 10 testiranih pozitivno na polivirus tipa 1, 7 vzorcev na poliovirus tipa 2, 5 vzorcev na poliovirus tipa 3 in 1 vzorec na poliovirus tako tipa 2, kot 3. Z analizo zaporedja kapsidnega gena 10 vzorcev pozitivnih na poliovirus tipa 1, je bilo nadalno ugotovljenih 7 izolatov cVDPV1 s spremembo v genetskem zaporedju od 2,1 do 3,7 %, ki jih ni bilo mogoče nevtralizirati s protitelesi Sabin cepiva. Zaključili so, da je spremljanje nevrovirulentnih cVDPV v odpadnih vodah pomembno za izkoreninjenje otroške paralize.



---

## 5.2 Priloga 2: Algoritem pošiljanja vzorcev s pristonim poliovirusom v referenčni polio laboratorij v Helsinkih

Supplement to the WHO Polio Laboratory Manual: An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization:



NewAlgorithmForPoliovirusIsolationSupplier

Sample Application to FTA Micro Cards:



Sample Application to FTA Micro CardsVe