



NAČRT EPIDEMIOLOŠKEGA SPREMLJANJA POLIOVIRUSOV V ODPADNI VODI V SLOVENIJI

Načrt epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi v Sloveniji

Avtorji dokumenta

Nacionalni inštitut za javno zdravje

Center za nalezljive bolezni

asist. dr. An Galičič, mag. san. inž.

Jan Rožanec, mag. san. inž.

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

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 | 2. izdaja

Kraj in leto izdaje | Ljubljana, 2025

Elektronska izdaja

Spletni naslov | www.nijz.si

Besedilo ni lektorirano.

Zaščita dokumenta | © 2025 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

1. Uvod.....	1
2. Strokovna izhodišča za vzpostavitev epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi v Sloveniji	2
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 odpadni vodi	10
3. Načrt spremljanja poliovirusov v odpadni vodi.....	14
3.1 Namen spremljanja	14
3.2 Frekvenca in lokacija vzorčenja	14
3.3 Definicija potrditve poliovirusa v odpadni vodi.....	16
3.4 Vzorčenje in transport vzorcev.....	16
3.5 Mikrobiološke laboratorijske preiskave za določanje poliovirusov v vzorcih odpadne vode	17
3.6 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje	18
3.7 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav v Mrežo laboratorijev za polioviruse pri Svetovni zdravstveni organizaciji.....	19
4. Upravljanje in analiza podatkov.....	20
4.1 Povezovanje podatkov	20
4.2 Preverjanje in potrjevanje podatkov	20
4.3 Analiza podatkov	20
4.4 Interpretacija rezultatov rednega spremljanja.....	20
4.5 Javno objavljanje rezultatov	23
5. Omejitve.....	24
6. Reference	25
7. Priloge	29
7.1 Priloga 1: Epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadni vodi v svetu	29
7.2 Priloga 2: Algoritem pošiljanja vzorcev s pristonim poliovirusom v referenčni polio laboratorij v Helsinkih.....	32

Kazalo preglednic

Preglednica 1: Precepljenost (%) otrok proti davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, otroški paralizi, okužbam s Hemofilus influenzae tipa b (in hepatitisu B) s tretjim odmerkom cepiva po zdravstvenih regijah Slovenije, 2018-2023 [35].	8
Preglednica 2: Seznam komunalnih čistilnih naprav (KČN), na katerih se izvaja redno spremljanje poliovirusov v Sloveniji, in seznam KNČ naprav za posamezen sestavljeni vzorec.	14
Preglednica 5: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav in ocenjeno potrebno število oseb, katerih izločanje poliovirusa omogoča detekcijo v odpadni vodi po sestavljenih vzorcih.	21
Preglednica 6: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav.	21

Kazalo slik

Slika 1: Aktualna območja pojavljanja divjega in krožečega poliovirusa pridobljenega iz cepiva v letu 2024 [29].	5
Slika 2: Precepljenost 1-letnih otrok s tretjim odmerkom cepiva proti otroški paralizi po državah sveta [30].	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 – 2023 [32].	7
Slika 6: Prostorski prikaz občin, ki so vključene v spremljanje poliovirusov v odpadni vodi v Sloveniji glede na sestavljeni vzorec (lasten vir).	15
Slika 7: Proces mikrobioloških laboratorijskih preiskav posameznega vzorca za določanje poliovirusov v vzorcih odpadne vode (lasten vir).	17

Zgodovina verzij

Verzija	Datum objave	Avtor dopolnitev	Komentar
1	20. 12. 2023	Vsi avtorji	Nov načrt
2	17. 1. 2025	Vsi avtorji	<ul style="list-style-type: none">- Posodobitev opisa trenutne epidemiološke situacije.- Dopolnitev mikrobiološke laboratorijske preiskave za določanje poliovirusov v vzorcih odpadne vode.- Dopolnitev poročanja rezultatov laboratorijskih preiskav Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje.- Dopolnitev interpretacije rezultatov.

Uporabljene kratice

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

Povzetek

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi ima pomembno vlogo pri prizadevanjih Globalne pobude za izkoreninjenje otroške paralize (ang. Global Polio Eradication Initiative (GPEI)) za doseg dokončnega izkoreninjenja otroške paralize v svetu. V Sloveniji je bila zadnja okužba z divjim poliovirusom (WPV) zaznana leta 1978. Evropska regija, in s tem tudi Slovenija, je bila leta 2002 s strani Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) razglašena za območje prosto otroške paralize (ang. polio-free). V Sloveniji je zato namen epidemiološkega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi odkrivanje morebitnega vnosa WPV ali poliovirusov, ki izvirajo iz cepiva (VDPV) v državo. Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi smo v Sloveniji vzpostavili leta 2024. Redno spremljanje se izvaja štirikrat letno vsak prvi teden v mesecih marec, junij, september in december. Vzorčenje se izvaja na 16 komunalnih čistilnih napravah (KČN), ki so porazdeljene po celotnem geografskem območju Slovenije, v vseh 12 statističnih regijah, in vključujejo odpadno vodo iz 33 občin oziroma 34,2 % prebivalstva Slovenije. Vzorci odpadne vode iz posameznih KČN so združeni v 5 sestavljenih vzorcev. Izredno spremljanje zajema povečano pogostost vzorčenja na območju pozitivnega vzorca odpadne vode. Izredno spremljanje se lahko izvede tudi kadar epidemiološki kolegij Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ) zazna visoko tveganje za pojav okužbe s poliovirusom v posameznih skupinah prebivalstva. Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi povečuje občutljivost epidemiološkega spremljanja akutne flakcidne paralize (AFP) in omogoča zgodnje opozarjanje na morebitni pojav otroške paralize na območju, ki je vključeno v sistem spremljanja povzročiteljev nalezljivih bolezni v odpadni vodi.

Laboratorijske preiskave za dokazovanje poliovirusov se v okviru programa eradikacije otroške paralize SZO izvajajo v Laboratoriju za javnozdravstveno virologijo Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) v skladu s smernicami SZO. Mikrobiološke preiskave potekajo z metodo RT-rPCR za specifično določanje RNK enterovirusov, in z dokazovanjem infektivnih virusov z metodo osamitve na predpisanih celičnih kulturah RD in L20B. Laboratorijsko merilo za potrditev prisotnosti poliovirusa v vzorcu odpadne vode je osamitev poliovirusa in diferenciacija tipov virusa. NLZOH vse rezultate laboratorijskih preiskav sporoča NIJZ. NLZOH mora vzorce osamljenega poliovirusa poslati v regionalni referenčni polio laboratorij SZO na Finski nacionalni inštitut za zdravje in blaginjo (finsk. Terveyden ja Hyvinvoinnin Laitos, THL) v Helsinke. V primeru pozitivnega vzorca na poliovirus NLZOH takoj obvesti nacionalno kontaktno točko za pripravljenost in odzivanje na Centru za nalezljive bolezni NIJZ ter skupino za spremljanje povzročiteljev nalezljivih bolezni v odpadni vodi na NIJZ.

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi je kvalitativno spremljanje, ki zagotavlja pomembne informacije o prisotnosti ali odsotnosti kroženja poliovirusa na opazovanem geografskem območju. V državah prostih otroške paralize že en primer AFP, povzročen s poliovirusom ali en pozitiven vzorec odpadne na WPV pomeni razmere, ki zahtevajo takojšnje javnozdravstveno ukrepanje. Detekcija poliovirusa v sistemu spremlja v odpadni vodi običajno pomeni, da virus v populaciji izloča že več posameznikov. Rezultati spremljanja poliovirusov v odpadni vodi so javnosti dostopni na spletni strani NIJZ.

Executive summary

Plan for epidemiological surveillance of polioviruses in wastewater in Slovenia

Wastewater surveillance of polioviruses plays a crucial role in the Global Polio Eradication Initiative (GPEI) to achieve the complete eradication of poliomyelitis worldwide. In Slovenia, the last case of wild poliovirus (WPV) infection was detected in 1978, and the country was declared polio-free, along with the entire European region, by the World Health Organisation (WHO) in 2002. The primary objective of epidemiological surveillance of polioviruses in wastewater in Slovenia is to detect any potential introduction of WPV or vaccine-derived polioviruses (VDPVs). The system, implemented in 2024, involves routine monitoring conducted four times a year during the first week of March, June, September, and December. Samples are collected from 16 wastewater treatment plants (WWTPs) covering all 12 statistical regions and 33 municipalities, representing 34.2% of Slovenian population. Samples from individual WWTPs are pooled into five composite samples for analysis. Emergency wastewater surveillance involves increasing sampling frequency in areas with positive detections. It is also activated when the Epidemiological Board of the National Institute of Public Health (NIJZ) identifies a high risk of poliovirus transmission in specific population groups. This approach enhances the sensitivity of acute flaccid paralysis (AFP) surveillance and provides an early warning system for potential poliomyelitis cases.

Laboratory testing for polioviruses is conducted within the context of the WHO Polio Eradication Programme by the Laboratory for Public Health Virology at the National Laboratory for Health, Environment and Food (NLZOH). Testing follows WHO guidelines and includes RT-rPCR for detecting enterovirus RNA, and virus isolation using RD and L20B cell cultures. Confirmation of poliovirus in wastewater requires both the isolation of the virus and type differentiation. The NLZOH reports all laboratory findings to the NIJZ and sends isolated poliovirus samples to the WHO Regional Polio Reference Laboratory at the Finnish Institute for Health and Welfare (Finnish: Terveystieteiden tutkimuskeskus, THL) in Helsinki. In the event of positive sample, the NLZOH immediately notifies the national contact point for preparedness and response at the NIJZ's the Centre for Communicable Diseases and the NIJZ Wastewater Surveillance Group.

This qualitative surveillance system provides vital information on the presence or absence of circulating polioviruses within monitored regions. In polio-free countries, even a single case of AFP caused by poliovirus or a single positive wastewater sample for WPV requires urgent public health intervention. Wastewater detection of poliovirus indicates that multiple individuals in the population are already shedding the virus. The results of wastewater poliovirus monitoring are publicly available on the NIJZ website, ensuring transparency and accessibility.

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 odpadni vodi [5]. V Sloveniji se izvajajo vsi trije stebri, pri čemer je bil tretji steber, to je spremljanje prisotnosti poliovirusov v odpadni vodi, implementiran z letom 2024.

Za namen implementacije spremljanja prisotnosti poliovirusov v odpadni vodi 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 odpadni vodi 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 načrt spremljanja 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 odpadni vodi 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 *Enterovirusi* (RNK virusi). 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 odpadni vodi, se delijo v tri kategorije [12]:

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

So naravni virusi, ki lahko, zlasti pri majhnih otrocih, povzročijo AFP. Divji poliovirus tipa 2 (WPV2) in tipa 3 (WPV3) sta bila uradno izkoreninjena in ne krožita več med ljudmi, vendar se lahko še vedno uporabljata 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 (stanje na dan 20. 8. 2024); pojavljanje poliovirusov spremljamo na spletni strani GPEI [13].

2. kategorija: **cepilni virusi**

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

Sabin in Sabinu podobne viruse lahko pogosto odkrijemo v populaciji in odpadni vodi, kjer se oralna cepiva uporablja pri rutinskem cepljenju ali pri aktivnostih dodatnega cepljenja za zajezitev izbruha. Od aprila 2016 dalje se je v programih rutinskega cepljenja po vsem svetu začela opuščati uporaba živega cepilnega poliovirusa tipa 2. Cepilne viruse tipa 2 zdaj lahko zaznamo samo ob odzivanju na izbruh poliovirusa tipa 2 ob nedavni uporabi monovalentnega oralnega cepiva proti otroški paralizi tipa 2, trivalentnega oralnega cepiva proti otroški paralizi ali novega peroralnega cepiva proti otroški paralizi tipa 2.

3. kategorija: **poliovirusi, pridobljeni s cepivom (VDPV)**

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

- i) krožeči poliovirus, pridobljen s cepivom (cVDPV): je VDPV, ki se na podlagi dokazov o prisotnosti virusa pri ljudeh ali v odpadni vodi, dokazano prenaša z osebe na osebo v skupnosti. Možni serotipi krožečega poliovirusa, pridobljenega s cepivom 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 posameznik s primarno imunsko pomanjkljivostjo zaradi daljšega obdobja izločanja virusa po prejetju oralnega cepiva, prične izločati genetsko različen VDPV.
- iii) nerazvrščen VDPV (aVDPV) je VDPV, katerega zaporedje gena VP1 ni genetsko povezano z drugimi predhodno identificiranimi zaporedji VDPV in ni dokazov o osebah s primarno imunsko pomanjkljivostjo, ki bi izločale ta virus. VDPV je opredeljen kot nerazvrščen na podlagi laboratorijskih rezultatov, epidemiološke preiskave ter v komunikaciji s terenskimi ekipami, tehničnimi strokovnjaki, laboratorijskim osebjem SZO in regionalnim uradom SZO. Pri izolatih aVDPV so lahko ti odvzeti pri osebah brez znane imunske pomanjkljivosti ali iz vzorca odpadne vode, brez dokazov o kroženju.

Sistem spremljanja poliovirusov v odpadni vodi 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 odpadni vodi.

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 [14]. 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 [15]. Virus vstopi tudi v krvni obtok, kjer lahko prodre v nekatere živčne celice, ki jih poškoduje ali uniči [14].

Prvi znaki bolezni se pri neparalitični obliki pojavijo 3 do 6 dni po okužbi [10]. Pri AFP pa je inkubacijska doba daljša in običajno traja 7 do 14 dni (poročan razpon tudi od 3 do 35 dni). Osebe, okužene s poliovirusom so najbolj kužne 7 do 10 dni pred in po nastopu simptomov, vendar je prenos okužbe možen tudi pozneje [14,16].

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 [4,14,16].

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 [4,14,16–18].

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 bolezni 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 [4,14,16].

Za otroško paralizo so dovzetni tako otroci kot odrasli, ki bolezni niso preboleli ali niso bili zaščiteni s cepljenjem. Simptomi bolezni 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 [11,16].

Specifičnega zdravljenja za otroško paralizo ni. Podporno zdravljenje ob pojavu simptomov vključuje lajšanje bolečin in umetno predihavanje bolnika ob dihalnem zastoju [11,14]. Popolnoma ozdravi le 15 do 35 % bolnikov. Pri osebah, ki so v otroštvu prebolele paralitično obliko bolezni, se lahko v odrasli pojavi nove, dodatne težave, ki jih imenujemo »postpolio sindrom«. Ta vključuje simptome, kot so mišična slabost, bolečine v mišicah in sklepih, atrofija ter utrujenost [10].

Najučinkovitejši način preprečevanja otroške paralize je vzdrževanje visokega deleža cepljenega prebivalstva [19].

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 [17,20]. SZO se je leta 1988 zavzela za izkoreninjenje te bolezni, ustanovila je GPEI [21]. 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 [22,23]. Pojavnost primerov WPV se je do leta 2018 zmanjšala za več kot 99 % [24]. WPV2 in WPV3 sta bila razglašena za izkoreninjena leta 2015 in 2019 [19]. WPV1 pa se endemično pojavlja le še v dveh državah: Afganistan in Pakistan [25]. V letu 2023 je bilo skupno ugotovljenih 12 primerov otroške paralize, povročenih z WPV1. Vsi primeri so izhajali iz Afganistana in Pakistana [26]. Posamezni primeri okužb z WPV1 izven teh dveh držav so bili zaznani nazadnje v Mozambiku leta 2022 [27]. Medtem, ko je bilo v letu 2023 zaznanih 524 primerov otroške paralize, povzročenih z cVDPV iz skupno 32 držav [26].

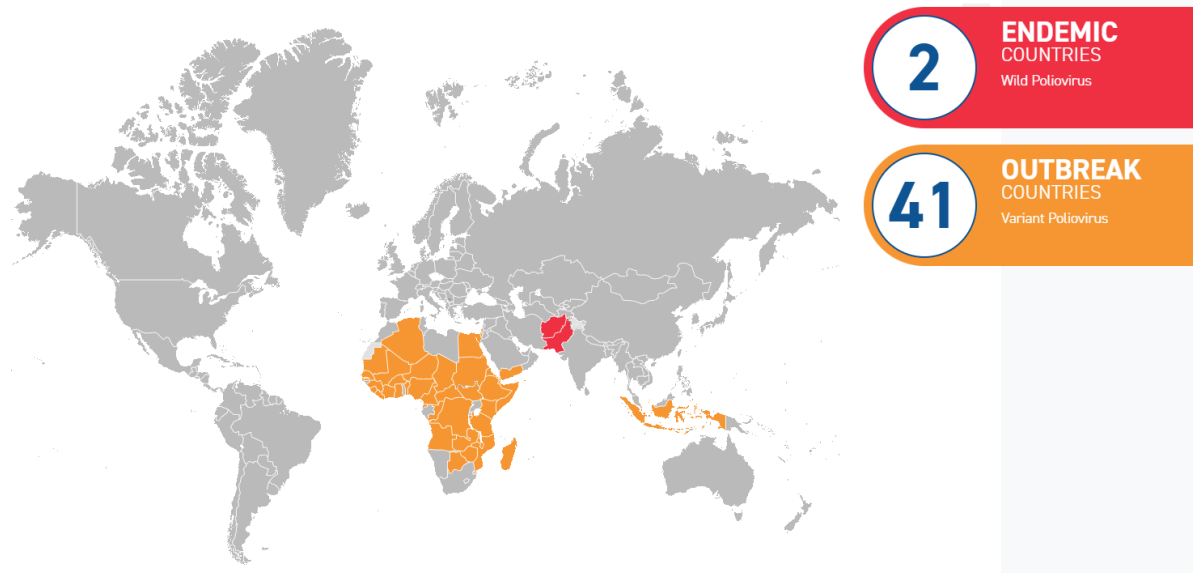
Otroška paraliza se zaradi učinkovitega cepiva in visoke stopnje precepljenosti v razvitih državah skoraj ne pojavlja več. Zadnji primer okužbe s WPV v Evropi je bil zabeležen leta 1998. Evropska regija SZO je od leta 2002 označena kot območje prosto otroške paralize, vendar svetovne migracije ljudi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

2.2.2 Trenutna epidemiološka situacija otroške paralize v svetu

WPV1 je trenutno prisoten v Pakistanu in Afganistanu. V letu 2024 je bilo do 20. avgusta skupno prijavljenih 27 primerov AFP, ki jih je povzročil WPV1 (od tega 14 iz Afganistana in 13 iz Pakistana). Poleg okužb z WPV pa predstavlja tveganje za javno zdravje tudi pojav izbruhov cVDPV. Izbruhi cVDPV

se pojavljajo v populacijah z nizko precepljenostjo, kjer živ oslabljen poliovirus iz OPV kroži v skupnosti dlje časa, predvsem na območju afriške regije. V letu 2024 je bilo do 20. avgusta prijavljenih 133 primerov AFP zaradi cVDPV1 in 133 primerov AFP zaradi cVDPV2 iz skupno 14 afriških držav ter Indonezije in Jemna (Slika 1) [13]. Tveganje za mednarodno širjenje poliovirusa je s strani SZO še vedno opredeljeno kot nevarnost za javno zdravje mednarodnega pomena [28].

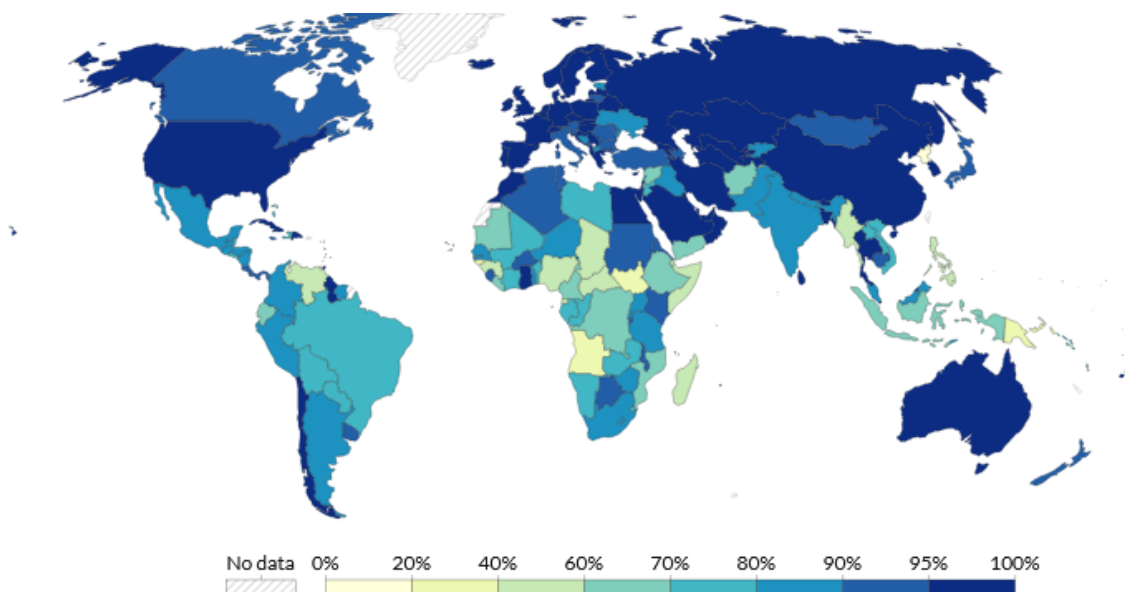
Trenutno aktualna območja pojavljanja WPV in cVDPV v letu 2024 so prikazana na Slika 1.



Slika 1: Aktualna območja pojavljanja divjega in krožečega poliovirusa pridobljenega iz cepiva v letu 2024 [29].

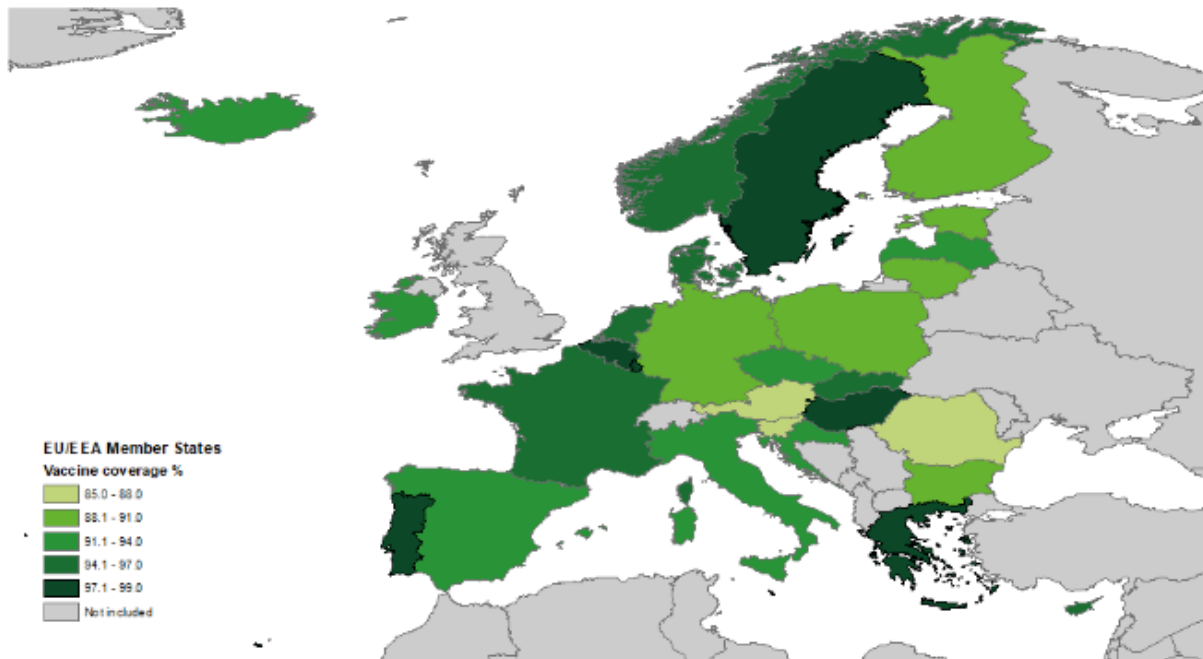
2.2.3 Precepljenost proti otroški paralizi v svetu

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 [30].

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 Slika 3.

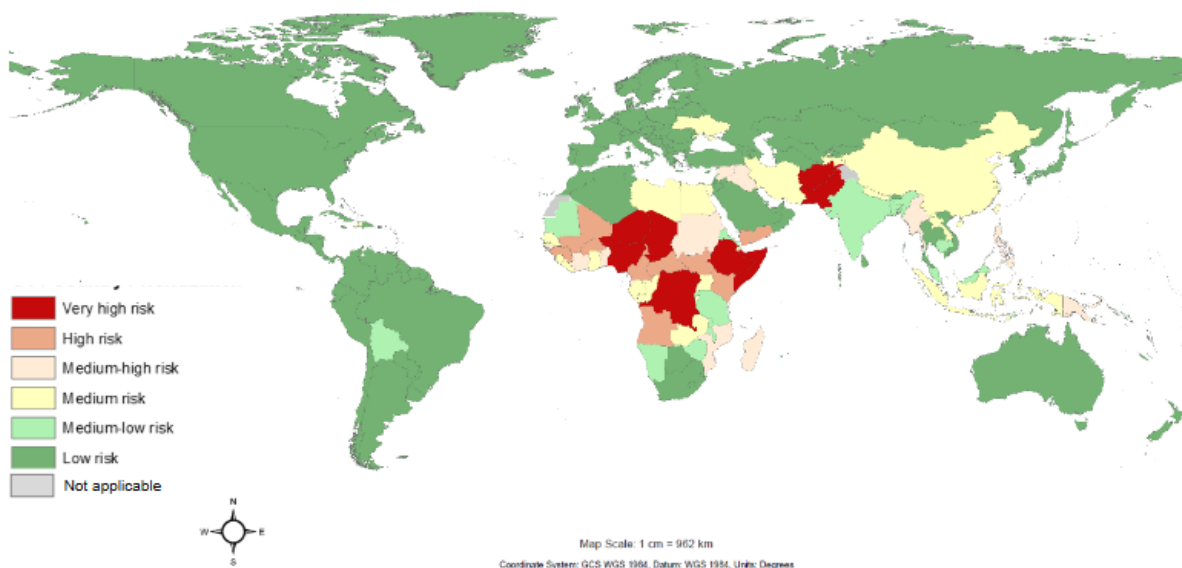


Source: WUENIC POL3 estimates in WHO Immunization Data portal [24]

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.

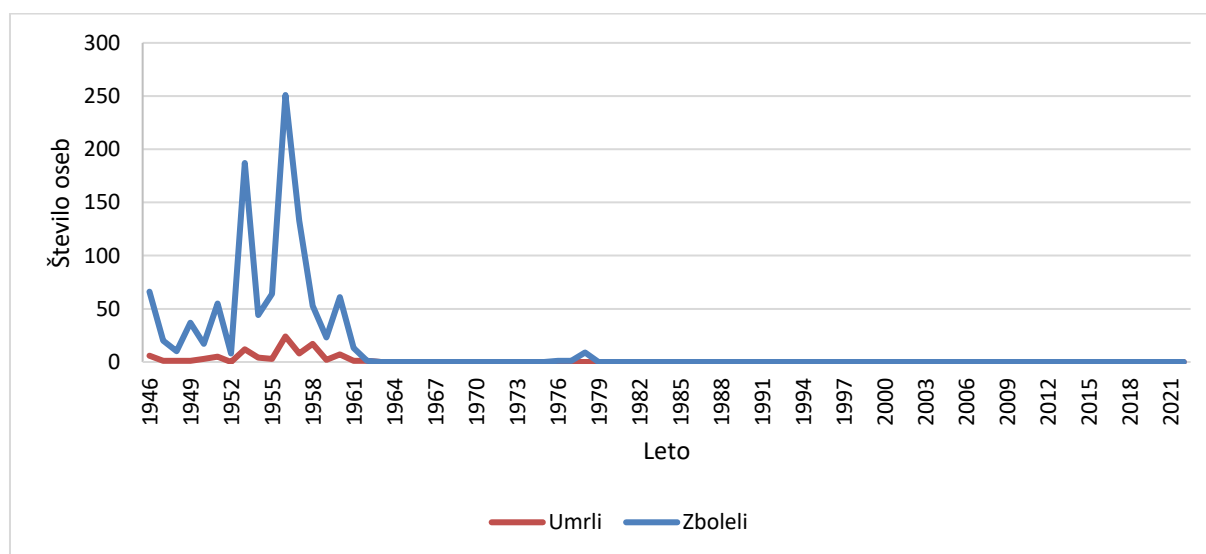


Slika 4: Ocena tveganja za pojav izbruhov otroške paralize po državah, 2022 [5].

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 [31]. 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 od tega 96, ki so zaradi te bolezni umrli [32]. Časovni prikaz primerov otroške paralize in smrti zaradi otroške paralize v Sloveniji je prikazan na Slika 5.



Slika 5: Zboleli in umrli zaradi otroške paralize v Sloveniji, 1946 – 2023 [32].

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 [33] in Pravilnikom o določitvi Programa cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2023 [34] 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.

V skladu z navedeno zakonodajo je cepljenje proti otroški paralizi obvezno tudi za osebe, za katere v primeru sporadičnega primera, izbruha ali epidemije postavi indikacijo NIJZ [33,34]. 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 [34].

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 2023 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, 2018-2023 [35].

Zdravstvena regija	2018	2019	2020 (95% IZ*)	2021 (95% IZ*)	2022 (95% IZ*)	2023 (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)	88,8 (83,9-93,7)
Nova Gorica	95,8	96,4	92,9 (82,7-98,0)	95,6 (89,5-100)	92,7 (85,9-99,6)	98,0 (94,1-100,0)
Koper	93,9	93,0	90,1 (81,5-95,6)	78 (67,4-88,5)	83,8 (75,7-91,8)	80,0 (71,1-89,1)
Kranj	92,0	95,8	95,2 (89,8-98,2)	86,3 (79,4-93,2)	93,3 (88,9-97,8)	93,0 (88,4-97,7)
Ljubljana	89,2	91,9	95,4 (92,9-97,3)	83,5 (79,3-87,7)	87 (83,7-90,4)	87,3 (83,9-90,7)
Maribor	96,0	96,1	96,3 (92,4-98,5)	91,1 (86,0-96,1)	90,5 (86,4-94,6)	90,9 (86,5-95,3)
Murska Sobota	99,4	98,6	98,3 (91,1-99,7)	100,0	94 (87,4-100,0)	96,0 (90,6-100,0)
Novo mesto	95,9	95,2	98 (93,0-99,8)	82,9 (74,0-91,7)	81,1 (73,0-89,2)	87,8 (81,0-94,5)
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)	95,0 (88,3-100,0)
Slovenija	93,4	94,7	95,2 (93,8-96,3)	86,4 (84,1-88,6)	89,2 (87,5-91,0)	89,3 (87,5-91,1)

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 2023 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 na NIJZ skladno s smernicami SZO [29]. Dodatno cepljenje z 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 cepljeni v zadnjih 12 mesecih). Za mednarodne potnike, ki potujejo v države, kjer se pojavlja cVDPV2 je dodatno cepljenje le priporočeno in se to tudi spodbuja s strani obiskane države. Posodobljena priporočila in aktualne informacije glede cepljenja proti otroški paralizi za potnike so na voljo na spletni strani NIJZ [36].

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

V Sloveniji je bil zadnji prijavljeni primer otroške paralize znan 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 Republike Slovenije (RS) za integracijo in oskrbo migrantov je bilo v letu 2023 v Sloveniji novonastanjenih 7.261 prosilcev za mednarodno zaščito, od tega največ v mesecu avgustu (919 novonastanjenih prosilcev). V letu 2023 so bile najpogostejše države izvora prosilcev za mednarodno zaščito Maroko (5.760 prosilcev), Alžirija (473 prosilcev), Pakistan (131), Rusija (118 prosilcev), Indija (111 prosilcev) in Afganistan (106 prosilcev). V letu 2024 je bilo do vključno meseca junija v Sloveniji novonastanjenih 2.608 prosilcev za mednarodno zaščito. V letu 2024 do vključno meseca maja so bile najpogostejše države izvora prosilcev za mednarodno zaščito Maroko (1.673 prosilcev), Alžirija (125 prosilcev), Afganistan (70), Sirija (58), Nepal (57) in Tunizija (50) [37].

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 % [38]. Precepljenosti v Ukrajini se giblje med 60 % in 99 %, odvisna je od starostne skupine in regije [39]. 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 [40].

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 statustom 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 [37].

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

Vsak migrant, ki prispe v azilni dom in pridobi status vlagatelja namere, ima preventivni zdravstveni pregled. Starejši od 18 let so nato deležni zdravstvene oskrbe le v primeru življenjsko ogrožujočega stanja, dokler jim ni odobren status begunca, če zaprosijo za azil. Cepilni status migrantov največkrat

ni poznan. Edina skupina migrantov, ki so po prihodu v Slovenijo popolno cepljeni po našem imunizacijskem programu, so otroci migranti preden vstopijo v šolo v Sloveniji [37].

Tveganje vezano na vnos poliovirusa v državo predstavljajo tako odrasli, kot tudi otroci iz specifičnih populacijskih skupin, ki imajo nižjo precepljenost in/ali živijo v slabših higienskih razmerah.

2.4 Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi ima vse pomembnejšo vlogo pri prizadevanjih GPEI za doseg 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 odpadni vodi 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 odpadne vode [8].

2.4.1 Strokovna izhodišča za epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadni vodi

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 [14,16,41]. 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 [41]. 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 [42]. 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 odpadni vodi je pomembno orodje za odkrivanje in spremljanje otroške paralize na območjih z nedavnim ali ponavljajočim se vnosom poliovirusa v državo in območjih s predhodno nezaznamim (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 odpadni vodi 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 oralnih cepivih proti otroški paralizi.

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi 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 [43,44].

2.4.2 Sistemi spremljanja poliovirusov v odpadni vodi v državah po svetu

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi 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 [9,45]. V državah prostih otroške paralize ima spremljanje poliovirusov v odpadni vodi ključno vlogo pri odkrivanju ponovnega vnosa WPV v državo in spremljanju cVDPV, kot tudi pri spremljanju iVDPV [43,46]. V letu 2023 se spremljanje poliovirusov v odpadni vodi izvaja v 45 državah na približno 550 lokacijah po svetu [8]. Primeri spremljanja poliovirusa v odpadni vodi v številnih državah so predstavljeni v Prilogi 7.1.

2.4.3 Časovni okvir in pogostost spremljanja poliovirusov v odpadni vodi

Glede na namen spremljanja poliovirusov v odpadni vodi 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 odpadni vodi 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 odpadni vodi

Pri izbiri lokacije za optimalno spremljanje poliovirusov v odpadni vodi 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 odpadne vode je najbolj priporočljivo izvajati iz skupnih kanalizacijskih omrežij, kar omogoča spremljanje velikih populacijskih skupin. Priporočena mesta za vzorčenje odpadne vode so dotoki KČN ali drugi večji skupni zbiralniki odpadne vode. 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 odpadni vodi

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi 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 gospodinjne odpadne vode. 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 odpadni vodi

Rezultati spremljanja poliovirusov v odpadni vodi 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 (poglavje 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 znižane precepljenosti populacije že 1

primer odkrite AFP ali 1 pozitiven vzorec iz sistema spremljanja v odpadni vodi z WPV pomeni izredne razmere na področju javnega zdravja, ki zahteva ustrezno ukrepanje [7]. Izolacija WPV iz sistema spremlja v odpadni vodi običajno pomeni, da virus v populaciji izloča že več posameznikov [9]. Teoretično je mogoče, da sistem spremljanja odpadne vode 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 odpadne vode 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 spremljanja poliovirusov v odpadni vodi

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 odpadni vodi v Sloveniji odkrivanje morebitnega ponovnega vnosa poliovirusov v državo.

3.2 Frekvenca in lokacija vzorčenja

Spremljanje poliovirusov v odpadni vodi 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

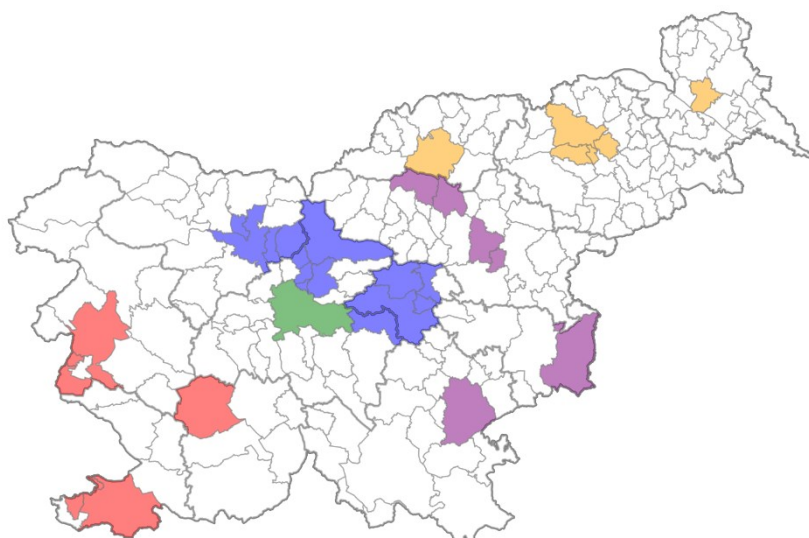
Redno spremljanje se izvaja **4-krat letno: vsak prvi teden v mesecih marec, junij, september in december**. Vzorčenje se izvaja **ob ponedeljkih** skupaj za vse povzročitelje nalezljivih bolezni, ki jih spremljamo v odpadni vodi KČN.

Vzorčenje se izvaja na 16 KČN v Sloveniji, v katere se stekajo odpadne vode 726.612 (34,2 %) prebivalcev Slovenije iz 33 občin. Spremljanje se izvaja v vseh 12 statističnih regijah v Republiki Sloveniji. Vzorce posamezne KČN se združi v **5 sestavljenih vzorcev** po shemi, ki je predstavljena v Preglednici 2 in na Slika 6.

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

Komunalna čistilna naprava	Občine prispevnega območja KČN	Sestavljeni vzorec (oznaka)	Zdravstvena regija	Število oseb, priključenih na KČN za sestavljeni vzorec
CČN Ljubljana	Ljubljana	1 - Osrednjeslovenska - Ljubljana	Ljubljana	225.544
CČN Domžale-Kamnik	Kamnik, Domžale, Mengeš, Trzin, Komenda, Cerklje na Gorenjskem	2 - Osrednjeslovenska - ostalo	Ljubljana in Kranj	167.329
CČN Kranj	Kranj, Naklo, Šenčur			
CČN Trbovlje	Trbovlje			
CČN Litija in Šmartno pri Litiji	Litija, Šmartno pri Litiji			
CČN Zagorje	Zagorje ob Savi			
CČN Koper	Koper, Izola, Ankarana	3 - Primorska	Koper in Nova Gorica	89.208
CČN Nova Gorica	Nova Gorica, Šempeter-Vrtojba, Miren-Kostanjevica			
CČN Postojna	Postojna			
CČN Celje	Celje, Štore	4 - Celjsko- Novomeško	Celje in Novo mesto	100.479
CČN Šaleške doline	Velenje, Šoštanj			

CČN Novo mesto	Novo mesto	5 - Vzhodna Slovenija	Maribor, Murska Sobota in Ravne na Koroškem	140.515
CČN Brežice	Brežice			
CČN Maribor	Maribor, Miklavž na Dravskem polju, Duplek, Hoče-Slivnica			
CČN Murska Sobota	Murska Sobota			
CČN Slovenj Gradec	Slovenj Gradec			



Slika 6: Prostorski prikaz občin, ki so vključene v spremljanje poliovirusov v odpadni vodi v Sloveniji glede na sestavljeni vzorec (lasten vir).

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 Definicija potrditve poliovirusa v odpadni vodi

Laboratorijsko merilo za potrditev prisotnosti poliovirusa v vzorcu odpadne vode:

- osamitev poliovirusa na selektivnih celicah, molekularna potrditev in tipizacija virusa.

3.4 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

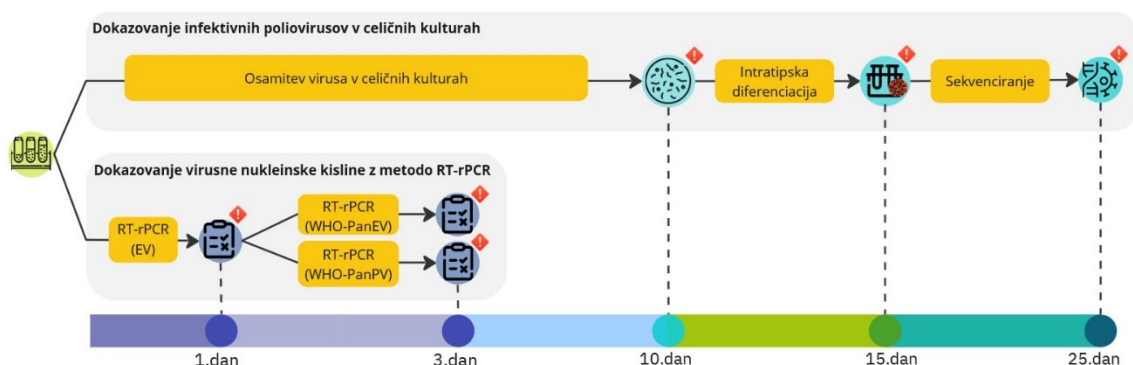
o vzorčenju z navedbo vseh potrebnih parametrov (kraj odvzema, čas, temperatura vzorca) in se z zagotavljanjem hladne verige dostavi v laboratorij. Začetek analiz je največ 48 ur po odvzemu vzorca.

3.5 Mikrobiološke laboratorijske preiskave za določanje poliovirusov v vzorcih odpadne vode

Laboratorijske preiskave za dokazovanje poliovirusov se v okviru programa eradikacije otroške paralize SZO izvaja v Laboratoriju za javnozdravstveno virologijo NLZOH v skladu s smernicami SZO (WHO/IVB/04.10 Supplement 1 to the WHO Polio Laboratory Manual An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization – Priloga 7.2).

Mikrobiološke preiskave potekajo z metodo RT-rPCR za specifično določanje RNK enterovirusov, in z dokazovanjem infektivnih virusov z metodo osamitve na predpisanih celičnih kulturah RD in L20B. Laboratorijske preiskave izvajamo po priporočilih iz priročnika SZO za detekcijo in intratipsko diferenciacijo poliovirusov.

Proces mikrobioloških laboratorijskih preiskav posameznega vzorca za določanje poliovirusov v vzorcu odpadne vode je prikazan na Slika 7.



Legenda: - NLZOH obvesti NIJZ o poteku in vmesnih rezultatih laboratorijske preiskave.

Slika 7: Proces mikrobioloških laboratorijskih preiskav posameznega vzorca za določanje poliovirusov v vzorcih odpadne vode (lasten vir).

Priprava vzorcev za laboratorijske preiskave

V mikrobiološkem laboratoriju vzorec odpadne vode centrifugiramo, da izločimo neraztopljene snovi, pri čemer sedimenta neraztopljenih snovi ne zavržemo. Za koncentriranje virusov supernatant filtriramo z ultrafiltrom. Koncentrat združimo s sedimentom neraztopljenih organskih snovi iz vzorca odpadne vode in jih za molekularne preiskave in za osamitev virusov v celičnih kulturah obdelamo po enakem postopku, kot blato bolnika z AFP ali s sumom na okužbo s poliovirusi.

Iz 16 vzorcev KČN se pripravi 5 sestavljenih vzorcev, ki so opredeljeni v Preglednica 2: Seznam komunalnih čistilnih naprav (KČN), na katerih se izvaja redno spremljanje poliovirusov v Sloveniji, in seznam KNČ naprav za posamezen sestavljeni vzorec.

Dokazovanje virusne nukleinske kisline poliovirusov z metodo RT-rPCR

Iz vzorca, ki smo ga pripravili tako, kot je opisano zgoraj, osamimo nukleinske kisline in nato z metodo RT-rPCR določamo prisotnost specifičnih odsekov RNK enterovirusov in poliovirusov. Izvedemo RT-rPCR za specifično določanje RNK enterovirusov (RT-rPCR(EV) in RT-PCR(WHO-panEV) ter za specifično določanje RNK poliovirusov (RT-rPCR(WHO-panPV)).

Dokazovanje infektivnih poliovirusov v celičnih kulturah

Vse vzorce pregledamo tudi z metodo osamitve virusa v celičnih kulturah. Humane celice RD (rakasto spremenjeni mišični fibroblasti) omogočajo pomnoževanje enterovirusov. Transgene celice mišjih fibroblastov L20B s humanimi polio receptorji CD155, pa se uporabljajo za selektivno pomnoževanje poliovirusov. Citopatogene spremembe v celični kulturi L20B pomenijo sum na poliovirus.

Laboratorijski postopek osamitve poliovirusov od prejema vzorca v laboratorij do rezultatov osamitve virusa traja od 7 do 10 delovnih dni. Za natančno označitev poliovirusa je potrebnih še dodatnih 5 delovnih dni. Skupno je od prejema vzorca v laboratorij do natančne označitve poliovirusov potrebnih do 15 delovnih dni.

Intratipska diferenciacija poliovirusov

Poliovirus v ekstraktu nukleinske kisline ali v selektivni celični kulturi L20B potrdimo s specifičnimi RT-rPCR za identifikacijo in intratipsko diferenciacijo poliovirusov (Poliovirus rRT-PCR ITD Kit in Poliovirus rRT-PCR VDPV Kit), ki ju zagotavlja CDC, Atlanta ZDA. S to metodo določimo znotraj tipsko varianto poliovirusa (Sabinu podoben virus tip 1, Sabinu podoben virus tip 2, Sabinu podoben virus tip 3, poliovirus tip 2, nOPV2, VDPV1, VDPV3 ali WPV1, WPV3).

Pošiljanje osamljenih poliovirusov v regionalni referenčni laboratorij SZO

NLZOH mora vzorec osamljenega poliovirusa poslati v regionalni referenčni polio laboratorij SZO na Finski nacionalni inštitut za zdravje in blaginjo (finsk. Terveyden ja Hyvinvoinnin Laitos, THL) v Helsinke. Postopek je opredeljen v algoritmu, ki je opisan v Prilogi 7.2 (*»Supplement to the WHO Polio Laboratory Manual: An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization«* in *»Sample Application to FTA Micro Cards«*). Za potrditev in natančno označitev osamljenega poliovirusa v regionalnem referenčnem polio laboratoriju SZO je potrebnih 10 dni.

V regionalnem referenčnem polio laboratoriju SZO polioviruse potrdijo in podrobneje opredelijo njihove intratipske značilnosti. S podrobnejšo genomsko analizo ugotavljajo razlike, značilne za izvor oziroma frekvenco točkovnih mutacij, na podlagi česar lahko sklepamo o času kroženja v populaciji in geolokaciji izvora uvoženega poliovirusa.

3.6 Poročanje rezultatov laboratorijskih preiskav Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje

Laboratorij za javnozdravstveno virologijo NLZOH na Center za nalezljive bolezni (CNB) NIJZ sporoči rezultate vseh laboratorijskih preiskav, tudi negativne rezultate.

NLZOH mora prisotnost poliovirusov, ki so povzročitelji nalezljive bolezni otroška paraliza, v odpadni vodi **takoj, najkasneje pa v 24 urah po zaključenih laboratorijskih preiskavah rezultat sporočiti na NIJZ**. Zaradi ukrepanja epidemiološke službe je priporočena takojšnja prijava na NIJZ.

NLZOH **sproti obvešča NIJZ o poteku in vmesnih rezultatih laboratorijske preiskave**. NLZOH na NIJZ sprotno sporoča rezultate posameznih laboratorijskih preiskav, kot je navedeno na Slika 7 :

- rezultat molekularnih laboratorijskih preiskav za specifično določanje enterovirusov;
- rezultat molekularnih laboratorijskih preiskav za specifično določanje poliovirusov;
- rezultati osamitve virusa v celičnih kulturah;
- rezultati intratipske diferenciacije poliovirusa;
- rezultati in analize sekvenciranja poliovirusa.

NLZOH vmesne in končne rezultate laboratorijske preiskave poroča v Aplikacijo za prijavo laboratorijskih rezultatov testiranja vzorcev odpadne vode. NLZOH končne rezultate laboratorijske preiskave poroča tudi v SZO bazo WIISE-Polio Lab site.

V primeru, da na NLZOH potrdijo pristonost poliovirusa v vzorcu odpadne vode v kateremkoli koraku iz tretjega odstavka tega poglavja, o tem takoj obvestijo nacionalno kontaktno točko za pripravljenost in odzivanje na Centru za nalezljive bolezni NIJZ ter skupino za spremljanje povzročiteljev nalezljivih bolezni na NIJZ.

V primeru, da na NLZOH potrdijo pristonost poliovirusa v vzorcu odpadne vode, NLZOH zapisnik vzorčenja odloži na dogovorjeno varno mesto za izmenjavo podatkov med NIJZ in NLZOH, ki ga uporabljajo zaposleni iz obeh organizacij s področja spremljanja NB v odpadni vodi.

3.7 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 odpadne vode odvzetih skladno z načrtom vzorčenja (poglavje 3.2).

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/tip poliovirusa (poliovirus tip 1, tip 2 in tip 3);
- datum rezultata tipizacije;
- ITD izolata (tipizacija poliovirus tip 1 ITD, poliovirus tip 2 ITD, poliovirus tip 3 ITD);
- datum ITD rezultata;
- datum sekvenciranja.

4. Upravljanje in analiza podatkov

4.1 Povezovanje podatkov

Poglavje Povezovanje podatkov obravnava zbiranje, organizacijo in združevanje rezultatov laboratorijskih preiskav, ki so bile izvedene v skladu s fazami, določenimi v poglavju 3.6 in prikazanimi na Sliki 7. Končni in vmesni rezultati teh preiskav se poročajo v navedeno aplikacijo, od koder jih NIJZ zbira v namenski zbirki podatkov spremljanja povzročiteljev nalezljivih bolezni v odpadni vodi.

Zbirka podatkov omogoča učinkovito združevanje in organizacijo vseh vmesnih in končnih rezultatov posameznega vzorca odpadne vode. Za sestavljene vzorce je vzpostavljen enoten sistem kodiranja, ki omogoča povratno identifikacijo posameznih vzorcev, iz katerih je bil sestavljen vzorec združen. S tem se zagotavlja doslednost in preglednost pri obdelavi podatkov.

4.2 Preverjanje in potrjevanje podatkov

NIJZ preverja in potrjuje prejete podatke z namenom zagotavljanja njihove kakovosti in točnosti. Pri tem se osredotoča na več ključnih vidikov. Najprej preveri popolnost podatkov, pri čemer zagotavlja, da so vsi zahtevani rezultati, kot so molekularni testi, izolacija virusov, intratipska diferenciacija in sekvenciranje, poročani v celoti in v ustreznem formatu. Izvede se validacija časovnih okvirjev poročanja, kjer se preverja, ali so rezultati sporočeni znotraj zahtevanega roka, bodisi takoj bodisi najkasneje v 24 urah. S tem se zagotavlja natančne in pravočasne podatke, kar je ključnega pomena za nadaljnjo učinkovito epidemiološko ukrepanje.

4.3 Analiza podatkov

NIJZ izvaja analize prejetih podatkov za podporo pri odločanju in načrtovanju javnozdravstvenih ukrepov. Te analize so podlaga za pripravo ocene tveganja, pri čemer se prejeti rezultati podrobno preučijo z namenom identifikacije morebitnih tveganj za javno zdravje, povezanih s prisotnostjo poliovirusov. Poleg tega NIJZ pripravlja epidemiološka poročila, ki temeljijo na analizi vzorcev, povezanih z detekcijo poliovirusov, ter vključujejo povezovanje laboratorijskih podatkov z epidemiološkimi ugotovitvami, kot je geografska porazdelitev primerov. Analizirani podatki omogočajo epidemiološki službi z identifikacijo regij/območij z večjim tveganjem ali izdajanjem izrednih obvestil ob pozitivnih rezultatih. Poleg tega NIJZ na podlagi analiziranih rezultatov pripravlja priporočila za izboljšanje nadzora.

4.4 Interpretacija rezultatov rednega spremljanja

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

Za namen interpretacije rezultatov spremljanja poliovirusov v odpadni vodi je bil vzpostavljen matematični model, ki omogoča oceniti občutljivost sistema glede na velikost vključene populacije [47]. 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 [48].

Pri interpretaciji laboratorijskih rezultatov sestavljenih vzorcev je potrebno upoštevati velikost populacije na prispevnem območju vseh v posamezni sestavljeni vzorec vključenih KČN (Preglednica 5).

Preglednica 3: Velikost populacije na prispevnem območju komunalnih čistilnih naprav in ocenjeno potrebno število oseb, katerih izločanje poliovirusa omogoča detekcijo v odpadni vodi po sestavljenih vzorcih.

Sestavljeni vzorec	Število prebivalcev na prispevnem območju	Ocenjeno število oseb, katerih izločanje poliovirusa omogoča detekcijo v odpadni vodi ¹
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

¹ Ocenjena vrednost, povzeta po Hovi et al. [48].

Pri interpretaciji laboratorijskih rezultatov vzorcev posamezne KČN je potrebno upoštevati velikost populacije na prispevnem območju KČN (Preglednica 6).

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

Ime komunalne čistilne naprave	Število prebivalcev na prispevnem območju	Ocenjeno število oseb, katerih izločanje poliovirusa omogoča detekcijo v odpadni vodi ¹
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
CČN 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

¹ Ocenjena vrednost, povzeta po Hovi et al. [48].

Pri interpretaciji rezultatov rednega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi je potrebno upoštevati:

- pri zaščiteni populaciji s cepljenjem je izločanje virusa v povprečju lahko manjše, saj prenos virusa ni tako hiter in v danem trenutku večina okuženih ne izloča več najvišje koncentracije virusa. 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 % [7];

- spremljanje poliovirusov v odpadni vodi 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 odpadni vodi 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 oralnih cepiv, kot odziv na izbruh otroške paralize na opazovanem območju;
- možnost izpusta poliovirusov iz laboratorija ali drugih obratov.

4.4.1 Definicija izbruha poliovirusov na podlagi prisotnosti v odpadni vodi

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 odpadni vodi.

Dogodek, ki ga je povzročil pojav poliovirusa

Pojav novega VDPV:

- večkratno odkritje novo opredeljenega VDPV na 1 vzorčni lokaciji odpadne vode 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:

- enkratna detekcija WPV ali cVDPV v vzorcu odpadne vode na needemičnem območju ali državi in brez dokazov o prenosu v lokalni skupnosti; ali
- večkratna detekcija WPV ali cVDPV v okoljskih vzorcih na 1 lokaciji v manj kot 2 mesecih, brez dokaza o neprekinjenem razmnoževanju virusa (izolati so genetsko identični ali skoraj identični in bi lahko ustrezali izločanju 1 same osebe).

Izbruh poliovirusa

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

- dve ločeni detekciji, pri čemer so bili vzorci odpadne vode 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 potrди kroženje virusa na območju detekcije.

4.5 Javno objavljanje rezultatov

Rezultati rednega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi so vsem javnostim dostopni na spletni strani NIJZ.

5. Omejitve

Omejitve rednega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi v Sloveniji:

- spremljanje poliovirusov v odpadni vodi vključuje odpadne vode iz 33 občin oziroma 34,2 % prebivalstva Slovenije. Velika razpršenost prebivalstva v Sloveniji in prisotnost manjših KČN, otežuje zajem večjega deleža prebivalstva, kar vpliva na manjšo možnost detekcije poliovirusov v populaciji;
- ni nujno, da spremljanje poliovirusov v odpadni vodi v Sloveniji pokriva vsa kritična območja s skupinami necepljenega prebivalstva (npr. skupine, ki odklanjajo cepljenje zaradi verskih ali drugih razlogov) oziroma prebivalstvo z nizko precepljenostjo;
- za Slovenijo je značilna velika dnevna mobilnost prebivalstva, kar lahko vpliva na intrepetacijo rezultatov za posamezno KČN;
- v Sloveniji imamo en referenčni laboratorij za polioviruse z omejenimi kapacitetami, kar predstavlja omejitev v primeru nenačrtovanega dodatnega povečanega obsega vzorčenja zaradi pojava primera/izbruha poliovirusa v državi;
- možni okoljski dejavniki, ki bi lahko vplivali na inaktivacijo poliovirusov v odpadni vodi, kot so povečana temperatura, koncentracija amonijaka in pH. Možna prisotnost industrijske odpadne vode v vzorcih odpadne vode, lahko ovirajo razmnoževanje poliovirusov in vplivajo na njihovo slabše zaznavanje.

6. 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 (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. *Communicable disease threats report, 17-23 August 2024, week 34*. European Centre for Disease Prevention and Control 2024. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/communicable-disease-threats-report-17-23-august-2024-week-34> (09. 12. 2024).
- [14] 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).
- [15] Ghendon, Y.; Robertson, S.E. Interrupting the transmission of wild polioviruses with vaccines: immunological considerations. *Bull World Health Organ* **1994**, *72* (6), 973-983.

-
- [16] Heymann, D.L. *Control of communicable diseases manual*, 19th ed.; American Public Health Association: Washington DC, Združene države Amerike, 2008.
- [17] 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.
- [18] 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).
- [19] 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).
- [20] 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.
- [21] 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).
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] Global Polio Eradication Initiative. *Polio Endgame Strategy 2019-2023: Eradication, Integration, Certification and Containment*. World Health Organization, 2019. Dostopno na: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329948> (08. 08. 2023).
- [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-ihr-emergency-committee> (02. 10. 2023).
- [26] Geiger, K; Stehling-Ariza, T; Bigouette, J.P.; Bennett, S.D.; Burns, C.C.; Quddus, A.; Wassilak, S.G.F.; Bolu, O. Progress Toward Poliomyelitis Eradication — Worldwide, January 2022–December 2023. *Morb Mortal Wkly Rep* **2024**, *73* (19), 441–446, doi:10.15585/mmwr.mm7319a4.
- [27] 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).
- [28] World Health Organization. Statement of the Thirty-ninth Meeting of the Polio IHR Emergency Committee. 2024. Dostopno na: <https://www.who.int/news/item/13-08-2024-statement-of-the-thirty-ninth-meeting-of-the-polio-ihr-emergency-committee> (01. 11. 2024).
- [29] Global Polio Eradication Initiative. Where we work. 2024. Dostopno na: <https://polioeradication.org/> (15. 10. 2024).
- [30] 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).
- [31] Matjašič, M. Nekateri epidemiološki in virološki vidiki poliomielitisa v Sloveniji. *Obzornik Zdravstvene Nege* **1979**, *13* (6), 372-374.
- [32] Nacionalni inštitut za javno zdravje. Evidenca nalezljivih bolezni, NIJZ48. 2024.

-
- [33] 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.
- [34] Pravilnik o določitvi Programa cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2022. 2022. Uradni list RS, št. 127/22.
- [35] Nacionalni inštitut za javno zdravje. Elektronski register cepljenih oseb in neželenih učinkov po cepljenju. 2023.
- [36] Nacionalni inštitut za javno zdravje. Priporočila za potnike v države, kjer se pojavlja otroška paraliza. 2023. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/priporocila-za-potnike-v-drzave-kjer-se-pojavlja-otroska-paraliza/> (16. 01. 2025).
- [37] 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).
- [38] 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).
- [39] 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).
- [40] 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).
- [41] Dowdle, W.; van der Avoort, H.; de Gourville, E.; Delpeyroux, F.; Desphande, 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.
- [42] 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.
- [43] 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.
- [44] 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.
- [45] Centers for Disease Control and Prevention. Tracking progress toward global polio eradication-worldwide, 2009-2010. *Morb Mortal Wkly Rep* **2011**, *60* (14), 441-445.
- [46] World Health Organization. Outbreak news. Poliovirus isolation, Egypt. *Morb Mortal Wkly Rep* **2013**, *88* (7), 74-75.
- [47] 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.
- [48] 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.

-
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] 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.
- [52] 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.
- [53] 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.
- [54] Roivainen, M.; Blomqvist, S.; Al-Hello, H.; Paananen, A.; Delpeyroux, 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.
- [55] 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.
- [56] 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.
- [57] 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.
- [58] 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.
- [59] 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.
- [60] 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.

7. Priloge

7.1 Priloga 1: Epidemiološko spremljanje poliovirusov v odpadni vodi v svetu

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

Preglednica 1: Dobre prakse spremljanja divjih sevov poliovirusa in sevov poliovirusa, pridobljenih s cepljenjem v odpadni vodi 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 [49]	- 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 [50]	- 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 [51,52]	- 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 [53]	- Obdobje spremljanja: april do december 1997; - Leto zaznave: 1997	/	- 1 L vzorca.	VDPV1.	/
Finska [54]	- Vzpostavljen sistem rutinskega spremljanja odpadne vode; - Leto zaznave: 2008, 2009 in 2010.	/	/	VDPV1, VDPV2 in VDPV3.	/
Slovaška [55]	- 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 [56]	- 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 [57]	- Vzpostavljen državni sistem spremljanja od leta 2000; - obdobje spremljanja: 2005 do 2010.	/	/	WPV1, VDPV1 in VDPV2.	Vnesen.
Indija [22]	- Preučevanje izvedljivost dolgoročnega spremljanja poliovirusov v odpadni vodi; - 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.	Avtoton.
Izrael, Zahodni Breg in Gaza [58]	- 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 [59]	- 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 [43]	- 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 [60]	- 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.

7.2 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:



NewAlgorithmForPoliovirusIsolationSupple

Sample Application to FTA Micro Cards:



Sample Application to FTA Micro CardsVe