

Polioviruksen diagnostiikka

TkK-tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biotekniikka
Huhtikuu 2024
Eveliina Saario

Turun yliopiston laatujaarjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO
Bioteknologian laitos
EVELIINA SAARIO: Polioviruksen diagnostiikka
TkK-tutkielma, 14 s.
Biotekniikka
Huhtikuu 2024

Poliovirus on enterovirusiin kuuluva vaipaton RNA-virus. Polioviruksesta on kolmea serotyyppiä, joista vain yhtä villityyppiä eli WP1 esiintyy edelleen. Tämän lisäksi polioviruksesta on olemassa suullisesta rokotteesta johtuva polioviruksen tyyppi. Vaikka polio onkin melkein saatu hävitettyä maailmasta, niin nämä kaksi tyyppiä voivat kuitenkin levitä, jos niitä ei diagnosoida tarpeeksi nopeasti. TkK-tutkielman tarkoituksena oli tehdä kirjallisuuskatsaus polioviruksen diagnostiikasta.

Poliovirusta diagnosoidaan eri tavoin. Yleensä poliovirusta aletaan epäillä vasta halvausoireista, joiden perusteella potilas ohjataan lisäkokeisiin. Ainut WHO:n viralliseksi hyväksymä diagnosointitapa on viljellä poliovirusta potilaalta otetusta uloste- tai nielunäytteestä ja, sitten sekvensoida perimä. Potilaalta otetaan myös seerumi- ja selkäydinnestänäytteet, joista seurataan muutosta PV1- ja PV3-vasta-aineiden määrissä.

Poliovirusta on mahdollista diagnosoida myös ilman virusviljelyä eristämällä RNA suoraan näytteestä. Tähän on käytetty sanger-sekvensointia tai nanopore-sekvensointia. Molemmat näistä menetelmistä olisivat nopeampia kuin virusviljelyä käyttävä menetelmä. Virusviljelystä luopuminen nopeuttaisi diagnosointia.

Polioviruksen esiintyvyyttä ympäristössä ja jätevedessä seurataan ottamalla näytteitä ja analysoimalla näytteiden polioviruspitoisuutta. Tällä pyritään ehkäisemään poliovirustartuntoja ennen kuin yhtään halvaustapausta ilmaantuu alueella.

Polioviruksen diagnosointi perustuu tällä hetkellä vain virusviljelyyn, joka on aikaa vievä prosessi, eikä siksi kovin hyvä keino poliovirustapausten nopeaan vähenemiseen. Poliovirusdiagnostiikkaa tulisi kehittää nopeammaksi, jolloin pystyttäisiin estämään tartuntojen leviäminen ja näin hävittämään polio maailmasta.

Asiasanat
poliomyeliitti, diagnostiikka, poliovirus, virusviljely, RNA-virus, serotyyppi

Sisällys

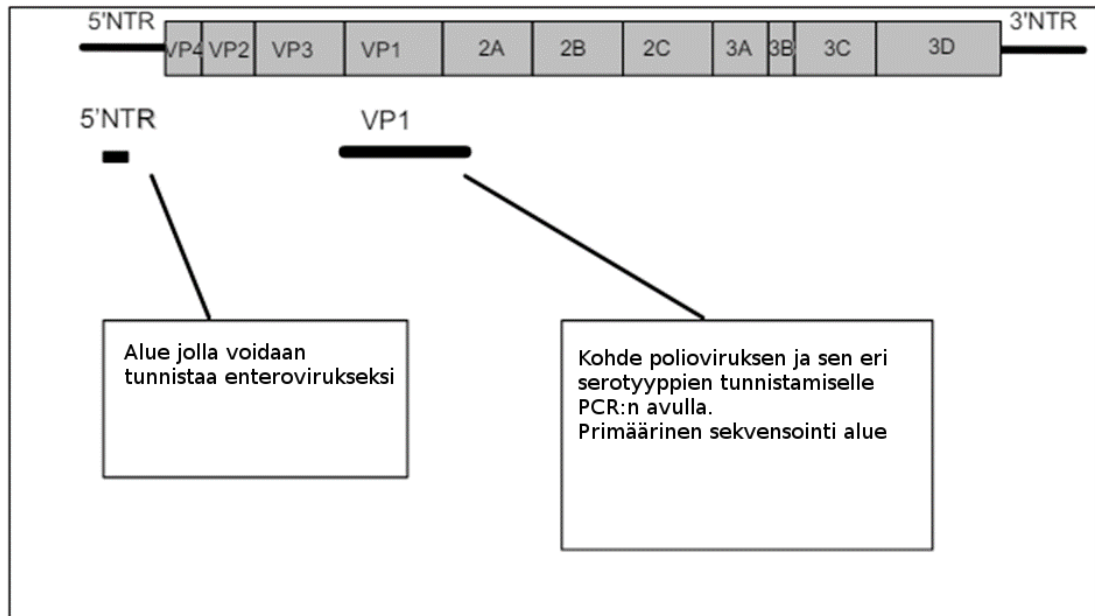
1 Johdanto	2
2 Diagnosointi oireiden pohjalta	5
3 Virusviljely.....	7
4 Seerumi- ja selkäinnestenäytteet	9
5 Diagnosointi ilman virusviljelyä.....	10
5.1 Suora RNA:n eristäminen	10
5.2 Suora RNA:n eristäminen ja nanopore sekvensointi.....	11
6 Polioviruksen esiintymisen seuraus ympäristöstä ja jätevedestä	12
7 Loppuyhteenveto.....	13
Lähteet.....	15

1 Johdanto

Polio eli poliomyeliitti eli lapsihalvaus on helposti tarttuva pikornavirusten enteroviruksiin kuuluvan polioviruksen aiheuttama sairaus, joka leviää useimmiten sairaan ihmisen ulosteesta toiselle ihmiselle suun ja hengityksen kautta. On myöskin mahdollista, että poliovirus leviää esimerkiksi saastuneesta vedestä tai ruuasta. Polioon sairastuneet ovat useimmiten alle 5-vuotiaita lapsia, mutta kaikki muutkin rokottamattomat ovat alttiita tartunnalle. (World Health Organization 2023)

Polioviruksen geneettinen aines on yksinauhaista RNA:ta, joka on pituudeltaan noin 7500 nukleotidia (Mbani ja muut 2023). Polioviruksella on neljä kapsidiproteiinia VP1, VP2, VP3 ja VP4. Näistä proteiineista VP1 on se, jonka avulla RT-PCR:llä ja sekvensoinnilla voidaan tunnistaa virus ja sen serotyyppi. Kuvassa 1 nähdään polioviruksen genomi. (World health organization, Laboratory manual 4th edition 2004)

Poliovirusta on esiintynyt kolmea eri serotyyppiä: WPV1 (engl. wild poliovirus, WPV), WPV2 ja WPV3. Näistä serotyypeistä ainoastaan WPV1 esiintyy yhä ja sitäkin vain Afganistanissa ja Pakistanissa. WPV2 julistettiin hävitetyksi vuonna 2015 ja WPV3 vuonna 2019 (Global Polio Eradication Initiative, The virus 2023). Villin polioviruksen lisäksi on olemassa rokotteesta johtuva poliovirus (engl. circulating vaccine-derived poliovirus, cVDPV). Kuvasta 2 voidaan nähdä, missä alueilla poliota vielä tänä päivänä esiintyy ja mitä tyyppiä ne ovat. Ennen aloitetta polion hävittämisestä 1988 polioon sairastui vuosittain noin 350 000 ihmistä ja endeemisiä valtioita oli 125. Nykyään polioon sairastuu vain noin prosentti tuosta aikaisemmasta luvusta. (Kuva 3) (World Health Organization. Poliomyelitis 2023)

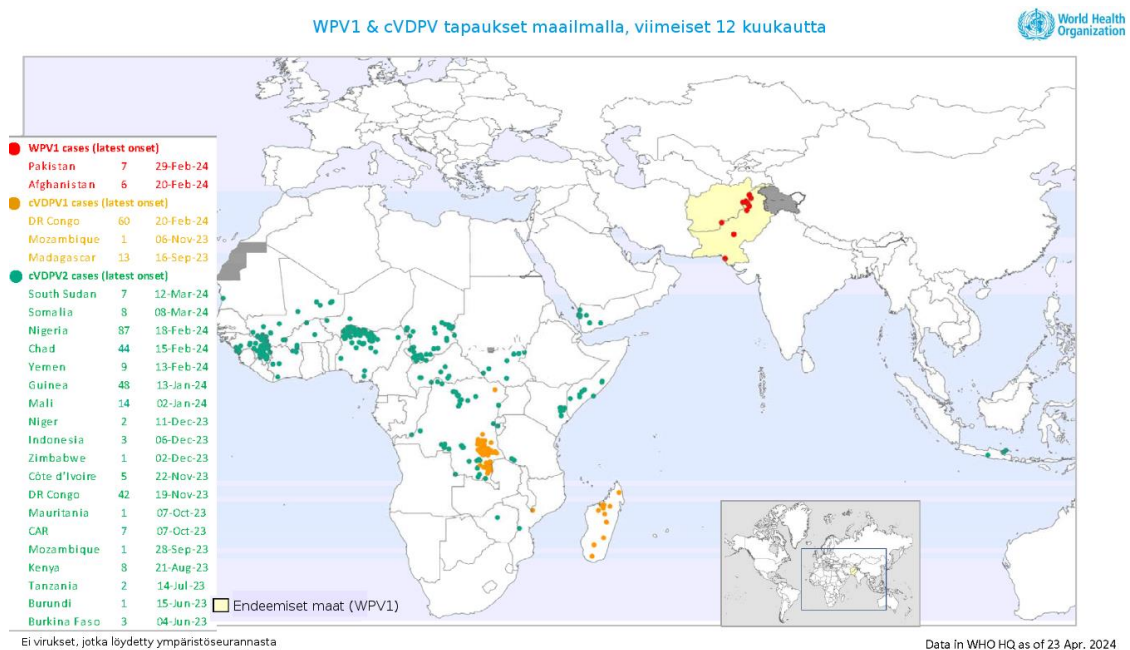


Kuva 1. Polioviruksen genomi. Kuvassa erikseen alueet, jotka tärkeitä polioviruksen ja sen serotyypin tunnistamiselle. (Kuva muokattu lähteestä World health organization, Laboratory manual 4th edition 2004)

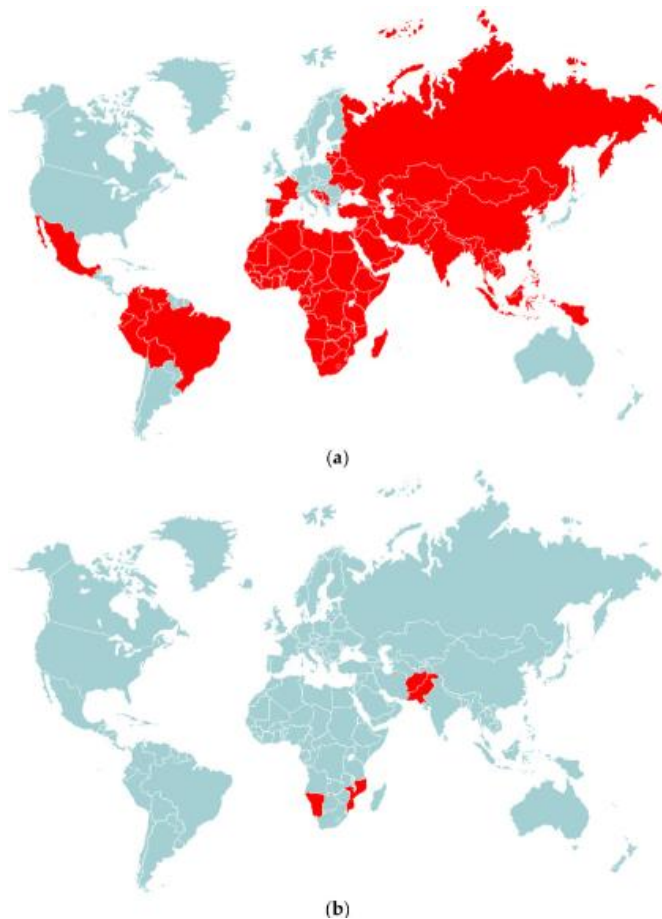
VDPV:n voi saada sellainen ihminen, joka on saanut suun kautta otettavan poliovirusrokotteen (engl. oral poliovirus vaccine, OPV), joka sisältää heikennettyä poliovirusta. cVDPV voi siis levitä näiltä sen rokotteesta saamilta ihmisiltä muihin rokottamattomiin ihmisiin. OPV voi sisältää joko yhtä, kahta tai kolmea polioviruksen tyyppiä. Nykyisin OPV sisältää yleisesti tyyppiä 1 ja 3, sillä tyyppin 2 poliovirus aiheutti verrattain suuren osan VDPV-tapauksista ja ei siksi ole kannattavaa laittaa rokotteeseen varsinkin, kun WPV2 on julistettu hävitetyksi. Vaikka suun kautta otettavasta poliovirusrokotteesta voi aiheutua cVDPV:tä, on sen käyttö silti kannattavaa. OPV:n käyttö on helppoa ja sillä on mahdollista rokottaa paljon ihmisiä kerrallaan. Rokottaminen on helppo toteuttaa sellaisissakin oloissa, joissa perinteisen injektiona annettavan rokotteiden antaminen ei olisi mahdollista esimerkiksi hygieenisistä syistä. Eniten cVDPV:tä esiintyy ympäri Afrikkaa ja onkin ainut polion muoto siellä. cVDPV-tartuntojenkin määrä voidaan rajoittaa rokottamalla lapset poliota vastaan, sillä rokote toimii riippumatta siitä onko kyseessä villi poliovirus vai cVDPV.

Tämän tutkielman tavoitteena on kertoa eri tavoista diagnosoida poliovirus ja vertailla näitä tapoja keskenään. Vaikka nykypäivänä villiä poliovirusta esiintyy enää virallisesti vain kahdessa valtiossa, ei se tarkoita, etteikö poliovirusdiagnostiikka olisi tärkeää.

Poliovirus voi kuitenkin levitä sen esiintyvyyden maista rokottamattomien keskuudessa muuallekin maailmaan. Diagnostiikka on tärkeä keino polioviruksen leviämisen estämisessä. Vaikka polioon ei lääkitystä olekaan eikä sitä siis voida varsinaisesti parantaa, on sen diagnosoimalla silti suuri merkitys sairastuneen henkilön lisäksi muille ihmisille. Diagnosoimalla tartunnan saaneet nopeasti voidaan estää polion leviäminen ja sen tarttuminen muihin ihmisiin. Kehittämällä poliovirusdiagnostiikkaa voidaan vähentää polion esiintyvyyttä ja polion aiheuttamia ongelmia.



Kuva 2. Poliovirustapausten määrä maailmassa 24.4.2023 – 24.4.2024. (Muokattu lähteen kuvasta Global Polio Eradication Initiative. Polio Today, 2024)



Kuva 3. Kuvan kartoissa on punaisella maat, joissa on ollut villin polioviruksen aiheuttamia tapauksia. Kartassa a) on kuvattu polioviruksen esiintyvyys vuonna 1988 ennen aloitetta polioviruksen hävittämisestä maailmasta. Kartassa b) on kuvattu villin polioviruksen aiheuttamat tapaukset vuoden 2021 tammikuun ja vuoden 2023 toukokuun välillä. (Lähde Mbani ja muut 2023)

2 Diagnosointi oireiden pohjalta

Ensimmäinen vaihe polion diagnosoinnissa on tunnistaa polioviruksen aiheuttamat oireet. Oireiden avulla potilas voidaan ohjata tarkempiin testeihin. Näillä testeillä sairaus voidaan varmuudella osoittaa polioksi.

Noin 70 % poliovirustartunnan saaneista on oireettomia. Noin 25 – 30 % sairastuneista saa flunssan kaltaisia oireita. Näihin oireisiin kuuluvat esimerkiksi päänsärky, kuume, väsymys, paha olo, kurkkukipu, oksentaminen ja kipu raajoissa (Walter ja Malani 2022) (World Health Organization 2023). Usein poliovirustartunta jääkin oireettomuuden tai heikkojen oireiden takia tunnistamatta. Polion tunnetuimmat ja pahimmat oireet ovat polioviruksen aiheuttamat halvausoireet. Näitä kuitenkin esiintyy vain alle prosentilla

tartunnan saaneista. Yleiset flunssan kaltaiset oireet kestävät yleensä 2-10 päivää. Näistä oireista sairastunut paranee yleensä täysin. (World Health Organization, Poliomyelitis 2023)

Oireisiin vaikuttaa myös sairastuneen ikä. Yleensä polioviruksen aiheuttamaan sairauteen sairastuvat lapset ja etenkin alle 5-vuotiaat. Myös nuoret ja aikuiset voivat kuitenkin saada polion. Aikuisilla on useammin vakavia oireita kuin lapsilla ja halvausoireita saaneista aikuisista jopa 15 – 30 % voi kuolla, kun taas lapsilla halvausoireisiin kuolleisuus on paljon pienempi. (Centers for Disease Control and Prevention 2021)

Halvausoireet johtuvat siitä, että poliovirus on päässyt leviämään ihmisen keskushermostoon. Useimmiten halvausoireita esiintyy jaloissa, mutta sairastuneilla voi olla vaikeuksia myöskin nielemisessä ja puhumisessa (Walter ja Malani 2022). Halvaantumisen voi tapahtua vain muutama tunti tartunnan saannin jälkeen. 5 – 10 % halvausoireita saaneista kuolee, kun heidän hengitykseensä käyttämät lihaksensa halvaantuvat (World Health Organization 2023). Polioviruksen aiheuttamat halvausoireet ovat yleensä pysyviä, mutta ne voivat osittain parantua kuuden kuukauden sisällä halvaantumisesta (World Health Organization. Manual for the virological investigation of polio 1997).

On olemassa myöskin postpoliosyndrooma eli polion myöhäisoreet. Tässä poliosta selvinnyt ihminen saa useiden vuosien yleensä jopa kymmenten jälkeen oireita aikaisemmin sairastamansa polion takia. Tällaisia oireita voivat olla esimerkiksi uudet lihasheikkoudet, väsymys, lihasten surkastuminen, kipu lihaksissa tai nivelissä ja univaikeudet. (Tiffreau ja muut 2010) (Invalidiliitto 2024)

Poliota ei voida diagnosoida pelkkien yleisten flunssan kaltaisten oireiden perusteella, sillä suurin osa yleisistä oireista sopii myös moneen muuhunkin sairauteen. Siksi pitääkin olla myös jokin muu syy epäillä sitä, onko kyseisellä henkilöllä polio. Esimerkiksi sen perusteella, onko kyseistä henkilöä rokotettu poliota vastaan tai onko kyseinen henkilö ollut sellaisessa maassa, missä poliota vielä esiintyy ja saanut mahdollisesti tartunnan sieltä. Halvausoireet ovat niitä oireita, joiden perusteella voidaan yleensä epäillä poliota ja ohjata potilas tarkempiin testeihin. Jokaiselle alle 15-vuotiaalle lapselle, jolla todetaan olevan akuutti velttohalvaus, tehdään poliotesti (World Health Organization. Manual for the virological investigation of polio 1997).

3 Virusviljely

Perinteisin ja yleisin tapa diagnosoida poliovirustartunta on tehdä poliovirusnäytteestä virusviljely, jossa potilaalta kerätään joko nielu- tai ulostenäyte, ja tästä eristetään poliovirus. Paras näyte tähän kuitenkin on ulostenäyte, koska ulosteessa viruksen olemassa olo näkyy pidempään. Virusviljely on mahdollista tehdä myöskin selkäydinnestenäytteestä, mutta viruksen löytyminen tästä on aika epätodennäköistä (Terveysten ja hyvinvoinninlaitos 2023). Virusviljely on poliiodiagnostiikan kultainen standardi (Harrington ja muut 2021). Virusviljelyllä saadaan tunnistettua luotettavasti se, onko kyseessä poliovirus ja se, mikä polioviruksen tyyppi on kyseessä. Se on myöskin menetelmänä edullinen (Harrington ja muut 2021). Tällä hetkellä virusviljely on myöskin ainoa tapa, jolla voidaan WHO:n hyväksymänä diagnosoida poliovirustartunta.

Polioviruksen viljelyssä käytettävällä solulinjalla on merkitystä. Polioviruksen eristämiseen käytetään ihmisen rhabdomyosarkooma solulinjaa (engl. human rhabdomyosarcoma cell line, RD), mutta se voi tukea myöskin muiden enterovirusten kuin polioviruksen kasvua. Toinen käytössä oleva solulinja on poliovirukselle herkempi geneettisesti poliovirusreseptoria ekspressoivaksi muokattu hiiren fibroblasti L-solu (engl. mouse fibroblast L-cell, L20B). Poliovirus kiinnittyy soluissa yleensä poliovirusreseptoriin, joka on tietty pintaproteiini, johon mikään muu pikornavirus ei kiinnity. L20B-solulinjan herkkyys perustuukin juuri siihen, että nämä solut ekspressoivat tätä poliovirusreseptoria. Joten kun käytetään L20B-solulinjaa verrattuna RD-solulinjaan voidaan olla varmempia siitä, että näissä soluissa todella on poliovirusta. Yleensä poliovirusta diagnosoitaessa käytetään kuitenkin RD- ja L20B-solulinjoja samaan aikaan. Kahden solulinjan käyttö parantaa spesifisyyttä ja sensitiivisyyttä. On myös hyvä, että pystytään huomaamaan myös vähän muita enterovirusia. (Mbani ja muut 2023) (Harrington ja muut 2021) (World health organization, Laboratory manual 2004)

Viruksen viljelyn jälkeen monistetaan viruksen RNA:sta reaaliaikaisella RT-PCR:llä DNA:ta, joka voidaan sen jälkeen sekvensoida. Sekvensoitava alue on se osa viruksen genomia, joka koodaa polioviruksen kapsidiproteiini PV1 (kuva 1). Sekvensointiin käytetään esimerkiksi sanger-sekvensointia. Sekvensoinnin avulla saadaan selvitettyä,

onko kyseessä jokin villoista polioviruksen serotyypeistä vai onko kyseessä sittenkin cVDPV (Mbani ja muut 2023). Polioviruksen hävittämisen näkökulmasta on tärkeää tietää, mikä polioviruksen tyyppi on aiheuttanut positiivisen näytteen. Ilman tietoa serotyypistä ei oltaisi pystytty hävittämään tietyn serotyypin poliovirusia. Tieto serotyypin tuntemisesta on auttanut myöskin esimerkiksi siihen, että tiedetään tyypin 2 cVDPV:n aiheuttavan iso osa cVDPV-tartunnoista. Tällä tiedolla on voitu esimerkiksi tehdä päätös siitä, mitä polioviruksen tyyppiä sisällytetään rokotteeseen.

Polioviruksen tunnistus perustuu siihen, että löydetään tietty kapsidiproteiinin VP1 geneettinen järjestys (kuva 1) (Burrill ja muut 2013), jonka avulla voidaan erottaa kiertävä virus ja rokotteen jättämästä jäljestä (Shaw ja muut 2020). Eri serotyypeillä ja rokotteen jättämällä jäljellä VP1-proteiinia koodaava geneettinen järjestys on hieman erilainen ja silloin myös PCR:ssä käytettävät koettimet ovat erilaisia riippuen viruksen tyypistä. VP1 on polioviruksen kapsidiproteiineista se, joka on eniten viruksen pinnalla. (World health organization, Laboratory manual 4th edition 2004)

Polioviruksen tunnistamiseen on voitu käyttää myös neutralisoivia vasta-ainetestejä. Näissä testeissä on sekoitettu keskenään soluissa kasvatettua virusta ja antiseerumia, ja laitettu näistä näytteet kuoppalevyille. Vasta-aineiden tulisi sitoutua virukseen inkuboinnin aikana. Näyte antaa positiivisen tuloksen jos kaivossa ei ole havaittavissa sytopaattista vaikutusta eli viruksen aiheuttamaa muutosta solun rakenteessa. Testissä käytetty antiseerumi sisältää vasta-aineita kaikkia kolmea serotyyppiä vastaan. (World health organization, Laboratory manual 4th edition 2004)

Aikaisemmin on voitu käyttää myöskin ELISA:aa (engl. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) viruksen tyypin tunnistamiseen, mutta se on vaatinut sen, että läsnä on vain yhtä polioviruksen tyyppiä. Myös tämä tapa on perustunut viruksen ja vasta-aineen sitoutumiseen. Tätä tapaa ei enää käytetä polioviruksen tunnistamisessa. (Mbani ja muut 2023)

Polioviruksen viljelyllä on myös huonoja puolia, sillä se on verrattain hidas tapa diagnosoida poliovirus. Keskimääräinen aika joka kuluu näytteen ottamisesta sekvensoinnin tuloksen saamiseen voi olla jopa 30 päivää (kuva 4). On myös kyseenalaistettu se, onko järkevää viljellä laboratorioissa sellaista virusta, joka on saatu melkein kokonaan hävitettyä maailmasta (Harrington ja muut 2021), koska aina voi olla kuitenkin se mahdollisuus, että virus voisi päästä vahingossa leviämään näistä

laboratorioista rokottamattoman väestön joukkoon ja aiheuttaa näin polion hävittämiselle uusia ongelmia

4 Seerumi- ja selkäydinnestenäytteet

Näitä polioviruspotilaalta otettavia veri- ja selkäydinnestenäytteitä voidaan kutsua myös täydentäviksi testeiksi, sillä nämä otetaan ulostenäytteen lisäksi, mutta eivät ole pääasiallinen testausmenetelmä polioviruksen tunnistamiseksi. Verinäytteen seeruminäyte otetaan sekä oireiden alettua, että kaksi viikkoa myöhemmin ja selkäydin- eli likvorinäyte otetaan oireiden alettua (Terveyden ja hyvinvoinninlaitos 2023).

Nimensä mukaan täydentävien testien tarkoitus on tarkentaa varsinaisen virusviljelyyn perustuvan testin tulosta. Seerumitesteillä etsitään muutosta PV1- ja PV3-vasta-aineiden määrissä. Ja tätä suhteutetaan selkäydinnestenäytteen vasta-ainepitoisuuteen. Seerumista tehtävillä testeillä mitataan neutraloivia vasta-aineita, eikä testi erota rokotteesta johtuvaa vastetta viruksen aiheuttamasta (Terveyden ja hyvinvoinninlaitos 2023).

Poliovirusta voidaan diagnosoida mikroneutralisaatiotestillä (eng. microneutralization test, MNT). MNT:ssä eri serotyypit tulee erottaa toisistaan. Testissa käytetään kuoppalevyjä, jonka kuoppiin laitetaan seerumia ja sen jälkeen virusta ja sitten kyseisen polioviruksen antigeeniä. Tällaiselle kuoppalevyille lisätään soluja, joissa virus voisi kasvaa. Lopuksi kuopat värjätään. Värjäytyneessä kaivossa on vasta-aineita ja värjäytymättömässä kaivossa virus kasvaa.

5 Diagnosointi ilman virusviljelyä

Tällä hetkellä polioviruksen diagnosoinnissa ei ole käytössä muita kuin virusviljelyyn perustuvia testausmenetelmiä, mutta se ei tarkoita, etteikö muitakin menetelmiä polioviruksen diagnosointiin kokeilla tai tutkita. Vaikka virusviljely onkin herkkä tapa diagnosoida, niin se on myöskin varsin aikaa vievä kuten kuvasta 4 käy ilmi, että nykyisellä tavalla polion diagnosoinnissa voi kestää keskimäärin 30 päivää. Nopeammalla diagnosoinnilla voitaisiin saada poliovirustartunnat kuriin sillä alueella, josta positiivinen näytetulos saatiin. Mitä nopeammin saadaan tieto positiivisesta poliovirusdiagnoosista sitä nopeammin voidaan puuttua taudin leviämiseen. Poliota ei voida parantaa, mutta sitä vastaan voidaan rokottaa. Mitä nopeammin pystytään aloittamaan rokottamattomien rokotukset sitä nopeammin voidaan pysäyttää polion leviäminen.

Polioviruksen diagnosointiin on tutkittu sitä, onko aikaa vievä virusviljely tarpeellinen vai voisiko sen korvata suoraan eristämällä RNA virusnäytteestä. RNA:n sekvensointi voitaisiin tehdä esimerkiksi nanopore sekvensointina (Harrington ja muut 2021) (Shaw ja muut 2023).

5.1 Suora RNA:n eristäminen

Virusviljelyn hitauden ja mahdollisen jo melkein hävitetyn polioviruksen leviämiskin takia virusviljelyn voisi korvata suoraan RNA:n eristämiseen perustuvaan testaukseen, jolloin tulosten saaminen olisi nopeampaa ja polioviruksen leviäminen muihin ihmisiin yhteisössä saataisiin pysäytettyä nopeammin.

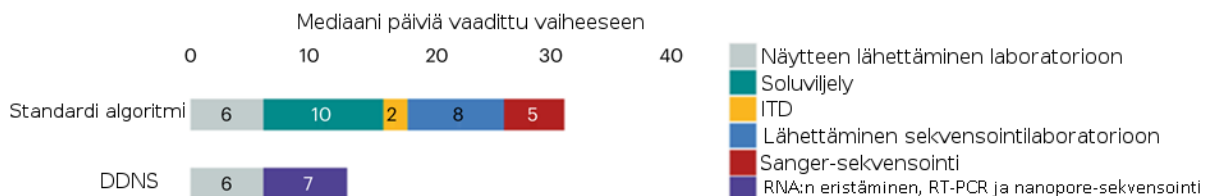
Yleensä virusviljelyyn perustuvaa menetelmää on pidetty herkempänä, mutta tutkimuksen mukaan valitsemalla oikeanlaisen menetelmän RNA:n eristämiseksi, voi suora RNA:n eristäminen näytteestä kaupallisella kitillä olla ihan yhtä herkkä tapa kuin sen eristäminen virusviljelystä. (Harrington ja muut 2021)

5.2 Suora RNA:n eristäminen ja nanopore sekvensointi

Suora molekulaarinen havainnointi ja nanopore-sekvensointi (engl. direct molecular detection and nanopore sequencing, DDNS) on yksi vaihtoehtoinen tapa tunnistaa poliovirustartunta ilman virusviljelyä (Shaw ja muut 2023). Myös tässä tavassa käytetään RNA:n eristämiseen kaupallisia kittejä. Eroavaisuutena tässä on se, että sekvensointiin on käytetty perinteisen sanger-sekvensoinnin sijaan nanopore-sekvensointia.

Nanopore-sekvensoinnin etu on siinä, että tällä sekvensointitavalla voidaan sekvensoida sellaisia näytteitä, joissa on useampaa kuin yhtä poliovirustyyppiä (kuva 1) (Shaw ja muut 2020). Tämä olisi tärkeä ominaisuus esimerkiksi ympäristö- ja jätevesiseurannassa, joissa voi esiintyä useampaa poliovirustyyppiä saman aikaisesti.

Kuten aiemmin todettiin virusviljelyn pois jättäminen säästää paljon aikaa, joka on hyvin oleellista silloin, kun pyritään pitämään tartuntamäärät mahdollisimman alhaisina. Nopean diagnostiikan avulla voidaan tavoittaa altistuneet nopeammin ja näin rokottaa tartunta-alueella olevat rokottamattomat. Tätä on havainnollistettu kuvan 4 avulla, missä on vertailtu DDNS:ään ja perinteiseen virusviljelyyn perustuvaan tapaan keskimäärin kuluvaan aikaan, kun kyseessä on ollut positiivinen cVDPV2 näyte (Shaw ja muut 2023). Kuvassa 4 on kuvattu mediaaniajajat, jotka kuluisivat testin suorittamiseen, mutta testit on mahdollista suorittaa myös nopeammin. Todennäköisesti kummankin testityypin testausaikoja saisi lyhyemmäksi jos laboratorioita, joissa näytteitä analysoidaan olisi enemmän, sillä kuten kuvasta 4 nähdään niin keskimääräinen aika, joka kuluu näytteen kuljettamiseen laboratorioon on kuusi päivää. Kuvan perusteella esimerkiksi DDNS:ään kuluva aika olisi keskimäärin puolet lyhyempi, jos analyysi tapahtuisi samassa paikassa näytteenoton kanssa.



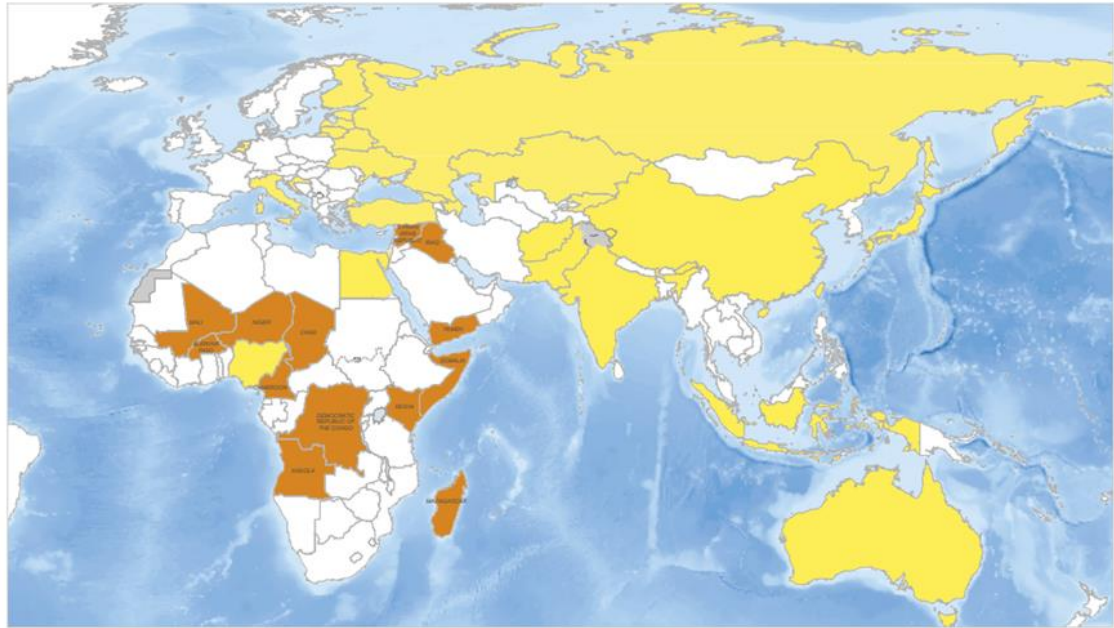
Kuva 4. Positiivisen cVDPV2 näytteen tunnistamisen vertailu. Perinteisellä polioviruksen tunnistamiseen virusviljelyyn perustuvan menetelmän avulla kulunut keskimääräinen aika verrattuna aikaan, joka kuluisi jos käytettäisiin DDNS-menetelmää. (Kuva muokattu Shaw ja muut 2023)

6 Polioviruksen esiintymisen seuranta ympäristössä ja jätevedessä

Polioviruksen esiintymistä seurataan myös jätevedestä ja ympäristöstä. Suurin osa poliovirustartunnan saaneista ihmisistä ei välttämättä saa minkäänlaisia oireita tartunnasta johtuen. Näillä ihmisillä, kuten oireellisillakin, kuitenkin erittyy virusta ulosteeseen useiden viikkojenkin ajan ja siten poliovirusta päätyy ympäristöön ja jätevesiin (Hovi ja muut 2012).

Ottamalla näytteitä jätevedestä ja ympäristöstä voidaan seurata polioviruksen esiintyvyyttä. Ympäristöstä otetusta näytteestä voidaan selvittää se, onko alueella oleva poliovirus WPV vai VDPV muotoa ja mitä serotyyppiä viruksesta se on (World Health Organization 2003). Jos virusta löytyy jätevedestä, voidaan tiedostaa sen esiintyminen ja näin estää viruksen leviäminen tällä alueella ennen kuin tartuntojen määrä kasvaa tai tavataan yhtään sellaista tapausta, jossa tartunnan saaneella olisi halvausoireita. Jätevesi- ja ympäristöseurantaa toteutetaan useassa eri maassa, myöskin esimerkiksi Suomessa (Kuva 5) (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2023). Jätevesinäytteelle tehdään samanlaiset testit kuin ihmiseltä otetulle ulostenäytteellekin eli tehdään virusviljely, jossa käytetään samoja RD- ja L20B-solulinjoja. Virusviljelyn jälkeen vuorokaudessa on RT-PCR ja sitten sekvensointi. (World Health Organization 2003)

Maissa, joissa esiintyy poliovirusta, voidaan saada viikoittain positiivisia ympäristöseurantatestien tuloksia. Esimerkiksi Afganistanissa ja Pakistanissa, joissa molemmissa vielä esiintyy villiä poliovirusta, on saatu positiivisia WPV1 ympäristönäytteitä. Esimerkiksi Jemenissä ja Zimbabwessa on saatu positiivisia cVDPV2 ympäristönäytteitä (Global Polio Eradication Initiative, Polio this week 2024). Myös Suomessa on havaittu ympäristöseurannassa poliovirusta, mutta se on hyvin harvinaista. Vuosien 2008-2010 aikana Tampereella ympäristöseurannassa havaittiin positiivisia näytteitä rokotteen aiheuttamasta polioviruksesta. Näissä näytteissä oli kaikkia kolmea serotyyppiä VDPV:tä. ((Roivainen ja muut 2010)



■ Maat, joissa olemassa ympäristöseuranta vuoden 2013 lopussa

■ Maat, joihin ympäristöseurannan suunniteltu leviäminen 2016

Kuva 5. Maat joissa toteutetaan polion ympäristöseurantaa vuoteen 2013 mennessä (keltaisella) ja ne maat joihin ympäristöseuranta laajeni vuonna 2016 (ruskealla). (Kuva muokattu liitteestä *Polio Environmental Surveillance Expansion Plan*:stä. *Global Polio Eradication Initiative 2023*)

7 Loppuyhteenveto

Vaikka usein voidaankin ajatella, että poliovirus olisi hävitetty maailmasta, niin näin ei kuitenkaan ole. Villin polioviruksen viimeistä jäljellä olevaa serotyyppiä, WPV1, esiintyy vielä virallisesti Afganistanissa ja Pakistanissa ja tämän lisäksi suun kautta otettavan poliorokotteen aiheuttamaa cVDPV:tä esiintyy Afrikassa (kuva 2). Jos rokotekattavuus jostain syystä alenisi, voisivat nämä levitä muuallekin maailmaan.

Polioviruksen diagnostiikka voidaan jakaa kahteen ryhmään, potilasdiagnostiikkaan ja ympäristödiagnostiikkaan. Molemmat diagnostiikat ovat tärkeitä ja niillä on omat hyvät puolensa. Potilasdiagnostiikassa tärkeintä on se, että voidaan pyrkiä estämään polion leviäminen, kun tiedetään, kuka sitä voi levittää. Toisaalta vain pienelle osalla polion saaneista tulee edes oireita, joten potilasdiagnostiikalla polion leviämisen estäminen voi olla vaikeaa. Polioon sairastunutta ei voida parantaa, mutta sairastuneen lähellä olevat ihmiset voidaan rokottaa.

Ympäristödiagnostiikassa seurataan polioviruksen esiintyvyyttä jätevedessä. Vaikka polioon sairastuneella ihmisellä ei olisi vakavia oireita niin tämä voi silti erittää virusta ulosteeseen. Ulostesta poliovirus päätyy jäteveteen ja siksi voidaan tämän avulla saada selvillä se, esiintyykö jollain alueella poliovirusta. Ympäristöseurannan ansioista saadaan tieto viruksen esiintymisestä ja voidaan rokottaa alueella asuvia rokottamattomia. Toisaalta ei välttämättä koskaan saada selville sitä, kenellä sillä alueella olleella on ollut polio, mutta saadaan kuitenkin tietää, missä poliovirusta esiintyy.

Tärkeimmät polioviruksen tyypit, joita testeillä etsitään, ovat vielä esiintyvä WPV1 sekä cVDPV:n eri tyypit ja voisi olla ehkä kannattavaa jos diagnostiikka keskittyisi erityisesti näihin. Toisaalta on tärkeää tarkkailla myös muiden serotyypin esiintyvyyttä, jotta voidaan tietää se, että ne ovat varmasti hävitetty maailmasta.

On tärkeää, että polioviruksen diagnostiikkaa kehitetään. Nykyisin ainut virallisessa käytössä oleva tapa, virusviljely, on aika hidas, eikä sen avulla siksi välttämättä pystytä estämään viruksen leviämistä. Nopeamman diagnosointitavan kehittäminen on siis hyvin tärkeää ja sillä voitaisiin ehkä saada poliovirus hävitettyä maailmasta kokonaan. Virusviljelylle yksi vaihtoehto voisi olla RNA:n eristäminen suoraan näytteestä ja korvaamalla sanger-sekvensointi nanoporella. Tämä voisi vähentää huomattavasti polioviruksen diagnosointiin kuluva aikaa. Nopeamman poliovirusdiagnostiikan kehittäminen on asia, joka hyödyttäisi koko maailmaa eikä vain valtioita, joissa poliota vielä esiintyy.

Lähteet

- Burrill, C. P., Westesson, O., Schulte, M. B., Strings, V. R., Segal, M. & Andino, R. (2013) Global RNA structure analysis of poliovirus identifies a conserved RNA structure involved in viral replication and infectivity. *J Virol* **87**:11670–11683.
- Harrington, C., Sun, H., Jeffries-Miles, S., Gerloff, N., Mandelbaum, M., Pang, H., ... Vega, E. (2021) Culture-Independent Detection of Poliovirus in Stool Samples by Direct RNA Extraction. *Microbiol Spectr* **9**:e0066821.
- Hovi, T., Shulman, L. M., van der Avoort, H., Deshpande, J., Roivainen, M. & DE Gourville, E. M. (2012) Role of environmental poliovirus surveillance in global polio eradication and beyond. *Epidemiol Infect* **140**:1–13.
- Mbani, C. J., Nekoua, M. P., Moukassa, D. & Hober, D. (2023) The Fight against Poliovirus Is Not Over. *Microorganisms* **11**:1323.
- Roivainen, M., Blomqvist, S., Al-Hello, H., Paananen, A., Delpeyroux, F., Kuusi, M. & Hovi, T. (2010) Highly divergent neurovirulent vaccine-derived polioviruses of all three serotypes are recurrently detected in Finnish sewage. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull* **15**:pii/19566.
- Shaw, A. G., Majumdar, M., Troman, C., O'Toole, Á., Benny, B., Abraham, D., ... Grassly, N. (2020) Rapid and Sensitive Direct Detection and Identification of Poliovirus from Stool and Environmental Surveillance Samples by Use of Nanopore Sequencing. *J Clin Microbiol* **58**:e00920-20.
- Shaw, A. G., Mampuela, T. K., Lofiko, E. L., Pratt, C., Troman, C., Bujaki, E., ... Mbala-Kingebeni, P. (2023) Sensitive poliovirus detection using nested PCR and nanopore sequencing: A prospective validation study. *Nat Microbiol* **8**:1634–1640.

Tiffreau, V., Rapin, A., Serafi, R., Percebois-Macadré, L., Supper, C., Jolly, D. &

Boyer, F.-C. (2010) Post-polio syndrome and rehabilitation. *Ann Phys Rehabil Med* **53**:42–50.

Walter, K. & Malani, P. N. (2022) What Is Polio? *JAMA* **328**:1652.

Centers for Disease Control and Prevention. Hall E., Wodi A.P., Hamborsky J., et al., (2021) *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. 14. painos, luku 18 Poliomyelitis. Washington, D.C. Public Health Foundation

Global Polio Eradication Initiative, World Health Organization. *Polio laboratory manual 4th edition*, 2004. <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2017/05/Polio_Lab_Manual04.pdf> (Luettu 28.4.2024)

Global Polio Eradication Initiative, World Health Organization. *Polio now*. <<https://polioeradication.org/polio-today/polio-now/>> (Luettu 19.11.2023)

Global Polio Eradication Initiative, World Health Organization. *Polio this week*, <<https://polioeradication.org/this-week/>> (Luettu 29.4.2024)

Global Polio Eradication Initiative, World Health Organization. *Polio today* <<https://polioeradication.org/polio-today/>> (Luettu 28.4.2024)

Global Polio Eradication Initiative, World Health Organization. *The virus*. <<https://polioeradication.org/polio-today/polio-prevention/the-virus/>> (Luettu 19.11.2023)

Global Polio Eradication Initiative, World Health Organization. *Polio Environmental Surveillance Expansion Plan*. <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/GPLN_ExpansionPlanES.pdf> (Luettu 21.11.2023)

Invalidiliitto. *Polio* <<https://www.invalidiliitto.fi/polio>> (Luettu 28.4.2024)

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. *Polion jätevesiseuranta*. <<https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/polio/polion-jatevesiseuranta>> (Luettu 19.11.2023)

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. *Polion laboratoriotutkimukset*. <<https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/polio/polion-laboratoriotutkimukset>> (Luettu 21.11.2023)

World Health Organization. *Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation*. (2003) <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/WHO_V-B_03.03_eng.pdf> (Luettu 21.11.2023)

World Health Organization. *Manual for the virological investigation of polio*. WHO/EPI/GEN 97.01. WHO, Geneva 1997

World Health Organization. *Poliomyelitis*. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/poliomyelitis>> (Luettu 19.11.2023)