PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE LA DETECCIÓN DE POLIOVIRUS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES

Febrero 2023

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE SANIDAD

Índice

PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE LA DETECCIÓN DE POLIOVIRUS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES 1

Elaboración del documento 3

Acrónimos 4

Definiciones 5

Resumen Ejecutivo 6

Introducción 7

Niveles de alerta establecidos a partir de la vigilancia ambiental 8

Anexo 1: Protocolo de vigilancia ambiental 12

Anexo 2: Flujo de comunicación y acciones ante una sospecha de PV en aguas residuales 15

Anexo 3: Metodología para la confirmación y caracterización de PV detectados en aguas residuales 16

Bibliografía 17

Elaboración del documento

Dirección General de Salud Pública. Ministerio de Sanidad

- Aurora Limia Sánchez, Elena Cantero Gudino (Asistencia técnica TRAGSATEC) y Ana Fernández Dueñas. Subdirección General de Promoción de la Salud y Prevención.
- María José Sierra Moros, Berta Suárez Rodríguez, Bernardo Guzmán Herrador. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias.
- Margarita Palau Miguel. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral.

Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e Innovación

- Josefa Masa Calles y Noemí López Perea. Centro Nacional de Epidemiología. CIBERESP.
- María Cabrerizo Sanz. Laboratorio Nacional de Polio. Centro Nacional de Microbiología. CIBERESP.

Coordinación: Aurora Limia Sánchez.

Acrónimos

CA/CCAA	Comunidad Autónoma/Comunidades Autónomas y Ciudades Autónomas de Ceuta y Melilla
CCAES	Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias
CCR	Comité de Coordinación de la Respuesta
CNC	Comité Nacional para la Certificación de la Erradicación de la Poliomielitis
CNE	Centro Nacional de Epidemiología
CNM	Centro Nacional de Microbiología
CSP	Comisión de Salud Pública
DGSP	Dirección General de Salud Pública
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
EWRS	Early Warning and Response System
GAT	Grupo de apoyo técnico
HEBAR	Herramienta epidemiológica basada en las aguas residuales
IEMP	Iniciativa para la erradicación mundial de la poliomielitis
ITD	Diferenciación intratípica
LNP	Laboratorio Nacional de Poliovirus
MS	Ministerio de Sanidad
nVPO	Nueva vacuna frente a poliomielitis oral
OMS	Organización Mundial de la Salud
PFA	Parálisis flácida aguda
PPAV	Poliomielitis paralítica asociada a la vacuna
PV	Poliovirus
PVDV	Poliovirus derivado de la vacuna
PVDVa	Poliovirus derivado de la vacuna ambiguo
PVDVc	Poliovirus derivado de la vacuna circulante
PVDVi	Poliovirus derivado de la vacuna asociado a inmunodeficiencia
PVS	Poliovirus salvaje
RKI	Robert Koch Institute
VPI	Vacuna frente a poliomielitis inactivada
VPO	Vacuna frente a poliomielitis oral
VPOb	Vacuna frente a poliomielitis oral bivalente
VPOm	Vacuna frente a poliomielitis oral monovalente

Definiciones[1]

Poliovirus vacunal o Sabin-like: cepas de poliovirus (PV) tipos 1, 2 y 3 atenuadas presentes en la VPO y en las nuevas vacunas orales de PV tipo 2 (nVPO2) con una divergencia en la secuencia de nucleótidos en la región VP1 <1% con respecto a la cepa Sabin de la VPO tipos 1 y 3 y <0,6% para para la cepa de VPO tipo 2. Los PV vacunales o Sabin-like se detectan comúnmente en la población y en muestras ambientales cuando se utiliza la VPO en la vacunación rutinaria o en las actividades de vacunación suplementaria.

Poliovirus derivado de la vacuna (PVDV): PV con una divergencia en la secuencia de nucleótidos en la región VP1 > 1% (≥ 10 nucleótidos diferentes) con respecto a la cepa Sabin de la VPO tipos 1 y 3 y de >0,6% (≥ 6 nucleótidos diferentes) para la cepa de VPO tipo 2. Los PVDV se clasifican en:

- **PVDV circulante (PVDVc):** es un PVDV para el que se ha demostrado transmisión persona a persona en la comunidad, basado en que hay detecciones en humanos y/o en muestras ambientales de PV que están genéticamente relacionados.
- **PVDV asociado a inmunodeficiencia (PVDVi):** PVDV que se detecta en individuos que presentan algún tipo de inmunodeficiencia primaria y, excretan el PV vacunal durante un periodo de tiempo prolongado después de recibir la VPO y acaba derivando genéticamente en un PVDV.
- **PVDV ambiguo (PVDVa):** es un PVDV detectado en muestras clínicas o ambientales que no proviene de un individuo con inmunodeficiencia primaria y que genéticamente no está relacionado con otras cepas previamente identificadas. Para su clasificación, los expertos utilizarán criterios epidemiológicos y de laboratorio.

Poliovirus salvaje (PVS): PV con una divergencia en la secuencia de nucleótidos en la región VP1 > 15% con respecto a la cepa parental atenuada (Sabin) tipo 1, 2 o 3 de la vacuna oral (VPO).

Vinculación genética: Relación genética entre PV que sugiere un origen común.

Sospecha de detección de poliovirus: Detección de PV en el laboratorio primario en una o varias muestras de aguas residuales, pendiente de confirmación.

Laboratorio primario: laboratorio que procesa muestras de aguas residuales y con capacidad para detectar PV en las mismas.

Estación depuradora de aguas residuales (EDAR): instalación o conjunto de instalaciones que tiene por objeto la reducción de la contaminación de las aguas residuales hasta límites aceptables para el cauce receptor.

Resumen Ejecutivo

La persistencia de poliovirus (PV) en dos zonas endémicas en el mundo y la aparición de brotes tanto de poliovirus salvaje (PVS) como de poliovirus derivados de la vacuna (PVDV) en países no endémicos, hacen que exista un riesgo real de importación de PV.

Tras los aislamientos de PV en aguas residuales de países de nuestro entorno a lo largo del 2022, se consideró la necesidad de realizar un estudio piloto en aguas residuales en España como parte de la Estrategia Nacional HEBAR (Herramienta Epidemiológica basada en las Aguas Residuales) para conocer la situación en nuestro país en cuanto a la posible presencia de PV. Este estudio piloto se ha llevado a cabo durante el último trimestre de 2022 en trece estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) de doce localidades de España.

El presente protocolo establece un nivel de prealerta y tres niveles de alerta en función de los hallazgos derivados de la vigilancia en aguas residuales y las acciones de salud pública asociadas a cada uno de estos niveles:

- **Nivel de prealerta:** Detección de PV en el laboratorio primario en una o varias muestras de aguas residuales, pendiente de confirmación por el Laboratorio Nacional de Poliovirus (LNP) del Centro Nacional de Microbiología (CNM).
- **Nivel 1:** Identificación de PV vacunal tipo 1 o 3 en una o más muestras de aguas residuales en uno o más EDAR.
- **Nivel 2:** Identificación de PV vacunal tipo 2 en una o más muestras de aguas residuales en uno o más EDAR o de PVS o PVDV en una única muestra de aguas residuales. Asimismo, también se considera nivel 2, múltiples identificaciones de PVS o de PVDV en muestras de aguas residuales a lo largo de un periodo inferior a dos meses en uno o más EDAR y sin evidencia de replicación vírica.
- **Nivel 3:** Identificación de PVS o PVDV en más de una muestra de aguas residuales con evidencias claras de circulación, es decir, múltiples identificaciones en muestras de aguas residuales en dos o más EDAR diferentes o en el mismo EDAR siempre que las detecciones sean con al menos dos meses de diferencia, con evidencia de replicación vírica.

Introducción

En mayo de 1988, la Asamblea Mundial de la Salud adoptó la resolución para la erradicación mundial de la poliomielitis. Para gestionar este proceso se creó, ese mismo año, la Iniciativa para la Erradicación Mundial de la Poliomielitis (IEMP) *(Global Polio Eradication Initiative - GPEI)*[2]. Desde entonces, se han certificado libres de poliomielitis cinco de las seis Regiones de la OMS. Sin embargo, las últimas etapas de la certificación están resultando más complejas de lo previsto.

En mayo de 2014 la OMS declaró la poliomielitis como un Evento de Salud Pública de Importancia Internacional, debido a la constatación de la diseminación internacional de poliovirus (PV) desde países que continuaban con circulación activa[3]. Sin embargo, los esfuerzos por la conseguir la erradicación permitieron la declaración, en 2015, de la erradicación del poliovirus salvaje (PVS) tipo 2 y, en de 2019, la erradicación de PVS tipo 3[4,5].

En la actualidad, la poliomielitis sigue siendo endémica en dos países: Pakistán y Afganistán (Región del Mediterráneo Oriental de la OMS).

A finales de 2021 y principios de 2022 se identificaron los primeros casos de PVS en países no endémicos, como Malawi y Mozambique, países vecinos sin detección de PVS desde 1992. En ambos países se confirmaron poliovirus tipo 1 (PV1) vinculados genéticamente con cepas que habían circulado en la provincia de Sindh (Pakistán) en octubre de 2019. Asimismo, en los últimos años se han detectado también brotes de poliomielitis por poliovirus derivados de la vacuna (PVDV) en varios países, especialmente en África y Asia.

Además, a lo largo del año 2022, varios países de nuestro entorno, incluyendo Reino Unido, Estados Unidos e Israel, han detectado circulación de PVDV circulante (PVDVc) en aguas residuales, identificándose también 2 casos clínicos de poliomielitis paralítica (1 en Israel y otro en EE.UU.)[6,7].

Los PVDV provienen de alguna de las tres cepas incluidas en la vacuna oral atenuada frente a la poliomielitis (VPO). A efectos de vigilancia e intervención, los PVDV tienen la misma consideración que los PVS. La mayoría de los casos de poliomielitis por PVDV están asociados al tipo 2, de ahí que entre los objetivos del Plan Estratégico 2013-2018 de la OMS figura la eliminación de este componente de la VPO, con la finalidad de eliminar los riesgos de poliomielitis paralítica asociada a la vacuna, las infecciones crónicas por PVDV en personas inmunodeprimidas y los brotes de PVDVc[8]. Para ello, se propuso la utilización rutinaria de una vacuna oral bivalente (VPOb), que confiere protección frente a los PV tipo 1 y 3; y para intervenciones específicas, utilizar una vacuna monovalente (VPOm) frente a PV tipo 1 o 3 (o incluso tipo 2)[9]. Asimismo, desde noviembre 2020 está disponible una nueva vacuna oral monovalente tipo 2 (PVO2 novel o PVO2n), que contiene cepas Sabin modificadas genéticamente más estables[10]. Además, se está trabajando en el desarrollo de vacunas monovalentes similares frente a los tipos 1 y 3.

Los brotes epidémicos de PVDV tipo 2 (PVDV2c) se han convertido en una preocupación mundial, ya que desde 2017 se han registrado en el mundo más casos anuales de PVDV2c que de PVS1. Por ello el objetivo 2 de la Estrategia de Erradicación de la Poliomielitis 2022-2026 es detener la circulación y transmisión de PVDVc e impedir que se produzcan brotes epidémicos en los países en los que la enfermedad no es endémica[11].

En España, el último caso de poliomielitis por virus salvaje autóctono ocurrió en el año 1988. En 1998 se aprobó el Plan de actuaciones necesarias para la consecución del Certificado de Erradicación de la Poliomielitis en España[12] y, tras la certificación de la Región Europea de la OMS como libre de poliomielitis en 2002, se han elaborado sucesivos planes de acción (2007, 2011 y el que está actualmente vigente de 2016)[13,14] para mantener esta situación. En el año

2004, se sustituyó la VPO por la vacuna frente a poliomielitis inactivada (VPI) en el calendario de vacunación. El Protocolo de Vigilancia de Poliomielitis de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE)[15] se actualizó en 2013[14].

En España, en los últimos 30 años, se han detectado cuatro casos de poliomielitis (en 1999, 2001, 2005 y 2021) y se ha identificado PV en una persona con inmunodepresión asintomática en 2019. Todos los casos estaban relacionados con cepas vacunales, pero en ningún caso resultaron en transmisión a la población[16].

Desde el año 2000, las coberturas de vacunación frente a poliomielitis en España superan el 95% en primovacunación[17]. Según los resultados del 2ª estudio de seroprevalencia en España (2017-2018), la prevalencia de anticuerpos neutralizantes frente a PV tipos 1 y 3 es muy alta en todos los grupos de edad, asegurando el nivel de población susceptible inferior al 15% necesario para evitar la transmisión en caso de introducción de estos virus. Estos resultados garantizan el cumplimiento del objetivo de inmunidad de la población para contribuir a la erradicación de la poliomielitis[18,19]. La alta inmunidad en la población, las condiciones higiénico-sanitarias en España y la calidad de los sistemas de vigilancia, con alta capacidad de detección y respuesta a posibles eventos relacionados con PV hacen que el riesgo de transmisión en nuestro país tras una reintroducción del virus se considere muy bajo[16]. No obstante, mientras no se erradique la poliomielitis en el mundo y se siga utilizando VPO, existe riesgo real de importación en todos los países.

Tras los aislamientos de PV en aguas residuales de Jerusalén, Londres y Nueva York entre febrero y agosto de 2022[6], se consideró la necesidad de realizar un estudio piloto en aguas residuales en España para conocer la situación en nuestro país.

El estudio piloto se ha incluido dentro de la Estrategia Nacional HEBAR (Herramienta Epidemiológica basada en las Aguas Residuales) que se implementó en abril de 2020 para vigilar la presencia de material genético de SARS-CoV-2 en las aguas residuales[20]. Este estudio se ha llevado a cabo durante el último trimestre de 2022, en 13 depuradoras de 12 localidades. La toma de muestras se produce a la entrada de la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) con una periodicidad semanal. El objetivo de este estudio piloto es conocer si existe presencia de PV y en el caso de que se identificara un aislamiento positivo, conocer su evolución durante al menos 4 semanas (para más información consultar Anexo 1).

Para elaborar el presente protocolo se ha tenido en cuenta el procedimiento de respuesta ante un brote de poliomielitis de la IEMP[1], el documento de posicionamiento de la OMS sobre las vacunas frente a poliomielitis[10] y el *PHE national polio guidelines local and regional services*[21] del Reino Unido.

En este documento se establecen los niveles de alerta ambiental y las acciones de salud pública asociadas a cada uno de estos niveles. Asimismo, se describe el protocolo de vigilancia ambiental y la metodología para la confirmación y caracterización de PV detectados en aguas residuales.

Niveles de alerta establecidos a partir de la vigilancia ambiental

Se definen un nivel de prealerta y tres niveles de alerta en función de los hallazgos derivados de la vigilancia ambiental y, para cada nivel se presentan una serie de intervenciones en salud pública. En el Anexo 2 se incluye el flujo de comunicación y las principales acciones a tomar según el nivel de alerta ante una sospecha de PV en aguas residuales.

Nivel de prealerta

Detección de PV en el laboratorio primario en una o varias muestras de aguas residuales, pendiente de confirmación por el Laboratorio Nacional de Poliovirus (LNP) del Centro Nacional de Microbiología (CNM). Esto se considera una sospecha de detección de PV.

Acciones:

- El laboratorio primario enviará inmediatamente la totalidad de la o las muestras al LNP (CNM) para la confirmación y caracterización genómica del PV detectado según Anexo 3. De manera simultánea, notificará la sospecha de PV a Salud Pública de la Comunidad Autónoma (CA) implicada siguiendo los circuitos habituales de notificación de la CA.
- El CNM notificará esta sospecha de detección PV de manera simultánea al Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) y al Centro Nacional de Epidemiología (CNE). Asimismo, informará al Área de Programas de vacunación del Ministerio de Sanidad (MS) (coordinador/a del Plan de acción para la erradicación de poliomielitis en España). A su vez el CCAES notificará a los Servicios de Salud Pública de la CA implicada.
- En caso de confirmarse la presencia de PV por el CNM, se elevará al nivel de alerta correspondiente en función del tipo de PV detectado (PV vacunal, PVS o PVDV).
- En caso de descartarse, se informará a todas las partes involucradas y se continuará la vigilancia ambiental según el protocolo establecido en cada CA.

Nivel 1

Identificación de PV vacunal tipo 1 o 3 en una o más muestras de aguas residuales en uno o más EDAR.

Acciones:

- El CNM notificará el resultado del estudio microbiológico de manera simultánea al CCAES y al CNE. Asimismo, informará al Área de Programas de vacunación del Ministerio de Sanidad (MS) (coordinador/a del Plan de acción para la erradicación de poliomielitis en España) y al laboratorio primario. A su vez, el CCAES notificará a los Servicios de Salud Pública de la CA implicada.
- Se valorará ampliar el estudio virológico de los PV detectados por parte del CNM (secuenciación del genoma completo y análisis filogenético para determinar si se han producido mutaciones en otras regiones diferentes a VP1 y/o recombinación).
- Se continuará la vigilancia ambiental según el protocolo establecido.

Nivel 2

- Identificación de PV vacunal tipo 2 en una o más muestras de aguas residuales en uno o más EDAR.
- Identificación de PVS o PVDV en una única muestra de aguas residuales.
- Identificación de más de un PVS o PVDV en más de una muestra con genética y/o características epidemiológicas NO compatibles con transmisión endémica o circulación local. Es decir, múltiples identificaciones en muestras de aguas residuales a lo largo de un periodo inferior a dos meses en uno o más EDAR y sin evidencia de replicación vírica (los PV aislados son genéticamente idénticos).

Acciones:

- El CNM notificará el resultado del estudio microbiológico de manera simultánea al CCAES y al CNE. Asimismo, informará al Área de Programas de vacunación del Ministerio de Sanidad (MS) (coordinador/a del Plan de acción para la erradicación de poliomielitis en España) y al laboratorio primario. En las primeras 24 horas de esta notificación, el CCAES notificará a los Servicios de Salud Pública de la CA implicada.

- En las primeras 24 horas tras recibir la notificación del CNM, el CCAES notificará a la Oficina Regional para Europa de la OMS, y a la Comisión Europea a través de la plataforma *Early Warning and Response System* (EWRS). El CNM notificará a la Red de laboratorios de PV de la Región Europea de la OMS mediante la plataforma *Laboratory Data Manager System* (LDMS)[22].

- En las primeras 48 horas tras recibir la notificación del CNM, el CCAES constituirá y coordinará un Grupo de Apoyo Técnico (GAT) que incluirá a los responsables de vigilancia epidemiológica y del programa de vacunación de la CA implicada, la Subdirección General de Sanidad Ambiental, el Área de Programas de Vacunación del Ministerio de Sanidad (MS), el CNM y el CNE. Además, si se considera pertinente, se invitará a otros profesionales de salud pública, microbiología y/o neurología.

  En el seno del GAT se actualizará la información disponible hasta el momento, se evaluará el riesgo que supone el hallazgo, se definirá el área de riesgo y, dentro de ella, se establecerán los niveles de riesgo en función de las coberturas de vacunación y se propondrán las actuaciones de respuesta junto con la CA implicada.

- Los responsables de salud pública de las CCAA implicadas elaborarán, con el apoyo del GAT, **un Plan específico de actuaciones de respuesta.** Entre las actuaciones a realizar en el área de riesgo se considerará:

    - Refuerzo de la vigilancia epidemiológica, informando de la situación y sus implicaciones a los responsables de la CA y a los centros asistenciales ubicados en el área de riesgo. Se podrán implantar las siguientes actividades:

        - Refuerzo de la vigilancia de PFA[15]:

            - Búsqueda retrospectiva de casos, revisando los ingresos con clínica de PFA en los hospitales del área de riesgo.

            - Establecimiento de un sistema de notificación diaria de cero casos de PFA en los hospitales del área del riesgo para asegurar la notificación oportuna de los casos sospechosos hasta el cierre del evento.

        - Además se podrá valorar el establecimiento de una investigación de otras patologías neurológicas como son las meningitis, encefalitis, meningoencefalitis o ataxia, (valorar la implementación de un sistema de notificación diaria de cero casos con los servicios clínicos implicados) estudiando en estos casos si hay infección por enterovirus con la toma de muestras de líquido cefalorraquídeo y exudado faríngeo (o heces) para su diagnóstico (ver Vigilancia de Enterovirus[14]). Se enviarán al Laboratorio Nacional de Referencia de Enterovirus/LNP (CNM) todas las muestras que resulten positivas a enterovirus para su caracterización.

    - Refuerzo de la vigilancia ambiental, para determinar la extensión de la circulación del virus. Ampliación del muestreo a otras EDAR (incluyendo CCAA limítrofes si se considerara necesario) con una frecuencia de muestreo semanal para monitorizar la evolución de la presencia de PV. Dependiendo de la EDAR

implicada y del incremento de la concentración en las aguas residuales, se podrá plantear realizar una vigilancia aguas arriba, es decir, en la red de saneamiento, para ubicar mejor las áreas de donde procede el PV. Tanto el muestreo en entrada de la EDAR como en la red de saneamiento se mantendrá al menos durante 4 semanas.

- Evaluación de las coberturas de vacunación desagregadas por grupos etarios en el área de riesgo. En función de las mismas, se podrá valorar la necesidad de llevar a cabo una estrategia de vacunación con vacuna VPI.
- Ampliación del estudio virológico de los PV detectados por parte del CNM (secuenciación del genoma completo y análisis filogenético para determinar si se han producido mutaciones en otras regiones diferentes a VP1 y/o recombinación).

Nivel 3

- Identificación de PVS o PVDV en más de una muestra de aguas residuales con evidencias claras de circulación. Es decir, múltiples identificaciones en muestras de aguas residuales en dos o más EDAR diferentes o en el mismo EDAR siempre que las detecciones sean con al menos dos meses de diferencia, con evidencia de replicación vírica (los PV aislados no son genéticamente idénticos).

Acciones:

Se llevarán a cabo las mismas acciones que en el nivel 2. Además, se evaluarán las coberturas de vacunación a nivel local y regional, y si son inferiores al 90% se organizará una estrategia de vacunación. Se utilizará VPI como primera opción, pudiendo considerarse otras opciones según las características y la magnitud del brote[10].

Además, desde la Dirección General de Salud Pública del MS, se constituirá y se presidirá un Comité de Coordinación de la Respuesta (CCR), siguiendo con las recomendaciones de la OMS[1].

Además de la Director/a General de Salud Pública, formarán parte del CCR:

- Director/a General de Salud Pública de la CA implicada.
- Presidente del Comité Nacional para la Certificación de la Erradicación de la Poliomielitis (CNC).
- Director/a del CCAES y coordinador/a del GAT.
- Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).
- Director/a del Instituto de Salud Pública Carlos III (ISCIII).

También pueden formar parte del CCR los responsables en comunicación del MS y de la CA implicada.

El CCR decidirá sobre las medidas de respuesta propuestas por el GAT, podrá nombrar un/a portavoz y asumirá la coordinación de la comunicación a nivel nacional e internacional.

Anexo 1: Protocolo de vigilancia ambiental

Vigilancia ambiental en España

En España desde 1999, se lleva a cabo una vigilancia ambiental complementaria a la vigilancia clínica (descrita en el Plan de Acción en España para la Erradicación de la Poliomielitis[14]). Esta vigilancia consiste en un estudio para la detección de PV y otros EV-no polio en aguas residuales en colaboración con el Canal de Isabel II (Comunidad de Madrid) realizado por el LNP del CNM.

Este estudio consiste en el análisis de muestras de aguas residuales (aproximadamente 20 al año) procedentes de las diferentes estaciones de depuración de la Comunidad de Madrid, mediante métodos moleculares y de cultivo celular, según el protocolo recomendado por la OMS[23]. La realización de este estudio permite descartar la presencia de PV en las muestras analizadas e identificar otros EV no-polio circulantes. Asimismo, sirve para mantener la infraestructura y la metodología necesarias para su aplicación en cualquier momento y lugar de España, en caso de que fuera necesaria la realización de vigilancia ambiental como ocurrió en la detección de los casos importados de PVDV2 en Mallorca en 2005[24] o en Murcia en septiembre 2021[25].

Estrategia nacional HEBAR

Desde marzo 2020, como parte de las acciones llevadas a cabo durante la pandemia de COVID-19, se han llevado a cabo estudios para la detección del material genético del SARS-CoV-2 en las aguas residuales.

En junio de 2020, en España se implantó la Estrategia nacional de vigilancia del material genético del SARS-CoV-2 en agua residual, el llamado proyecto VATar COVID-19 (Vigilancia microbiológica en aguas residuales y aguas de baño como indicador epidemiológico para un sistema de alerta temprana para la detección de SARS-CoV-2 en España)[26].

En marzo de 2021, la Comisión Europea aprobó la Recomendación (UE) 2021/472, sobre un enfoque común para establecer una vigilancia sistemática del SARS-CoV-2 y sus variantes en las aguas residuales de la Unión Europea[20]. Más adelante en abril de 2022 se publicó la Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Europeo Económico y Social y al Comité de las Regiones: 'COVID-19 mantenimiento de la preparación y respuesta de la UE: mirar hacia el futuro'[27], en la que se aboga por los sistemas integrados de vigilancia y más concretamente por el fortalecimiento de sistemas de monitorización y vigilancia en aguas residuales de SARS-CoV-2 y otros problemas de salud (como por ejemplo, poliovirus, virus influenza y microorganismos resistentes a los antibióticos).

A raíz de todos estos acontecimientos, actualmente en España se está trabajando en un proyecto de Orden Ministerial por el que se establece el sistema de información de las aguas residuales denominado, 'herramienta epidemiológica ambiental basada en la vigilancia de las aguas residuales' (en adelante, HEBAR), como apoyo a la vigilancia en salud pública. Esta herramienta recogerá la información sobre las características del sistema de saneamiento y estaciones depuradoras de las aguas residuales urbanas, así como los resultados analíticos de microorganismos o contaminantes de preocupación sanitaria mediante la vigilancia, de forma consensuada y homogénea para todo el territorio.

Mediante el establecimiento de este sistema se pretende dar respuesta a las necesidades nacionales e internacionales sobre la detección y/o monitorización de posibles brotes, alertas y emergencias.

En esta Orden se prevé el establecimiento de estrategias nacionales de vigilancia basadas en la detección en aguas residuales. Estas estrategias serán propuestas por el Ministerio de Sanidad en el seno de la Comisión de Salud Pública, a través del órgano responsable de la vigilancia en

salud pública y de los órganos responsables de sanidad ambiental, en función de la situación epidemiológica de los problemas de salud de interés o de posibles eventos peligrosos para la salud humana y cuando la vigilancia de las aguas residuales complemente a la vigilancia en salud pública y a la vigilancia clínica.

Estudio Piloto para detección poliovirus en aguas residuales[28]

A raíz de los acontecimientos recientes sobre la identificación de poliovirus en aguas residuales de Nueva York (EEUU), Londres (Reino Unido) e Israel[6], se ha considerado necesario realizar un estudio piloto en el marco de la Estrategia nacional HEBAR.

Objetivo principal

Proteger la salud de la población en España mediante el análisis de aguas residuales para detectar la posible presencia de PV como complemento a la vigilancia clínica y de salud pública.

Ámbito

El ámbito territorial de este estudio piloto abarca toda España. Se han aprovechado las EDAR incluidas en el Proyecto VATar que son de las poblaciones mayores de 150 000 habitantes, las capitales de provincia o capitales de CA y localidades pertinentes en el ámbito de la pandemia por SARS-CoV-2.

El listado de las EDAR y poblaciones son las siguientes:

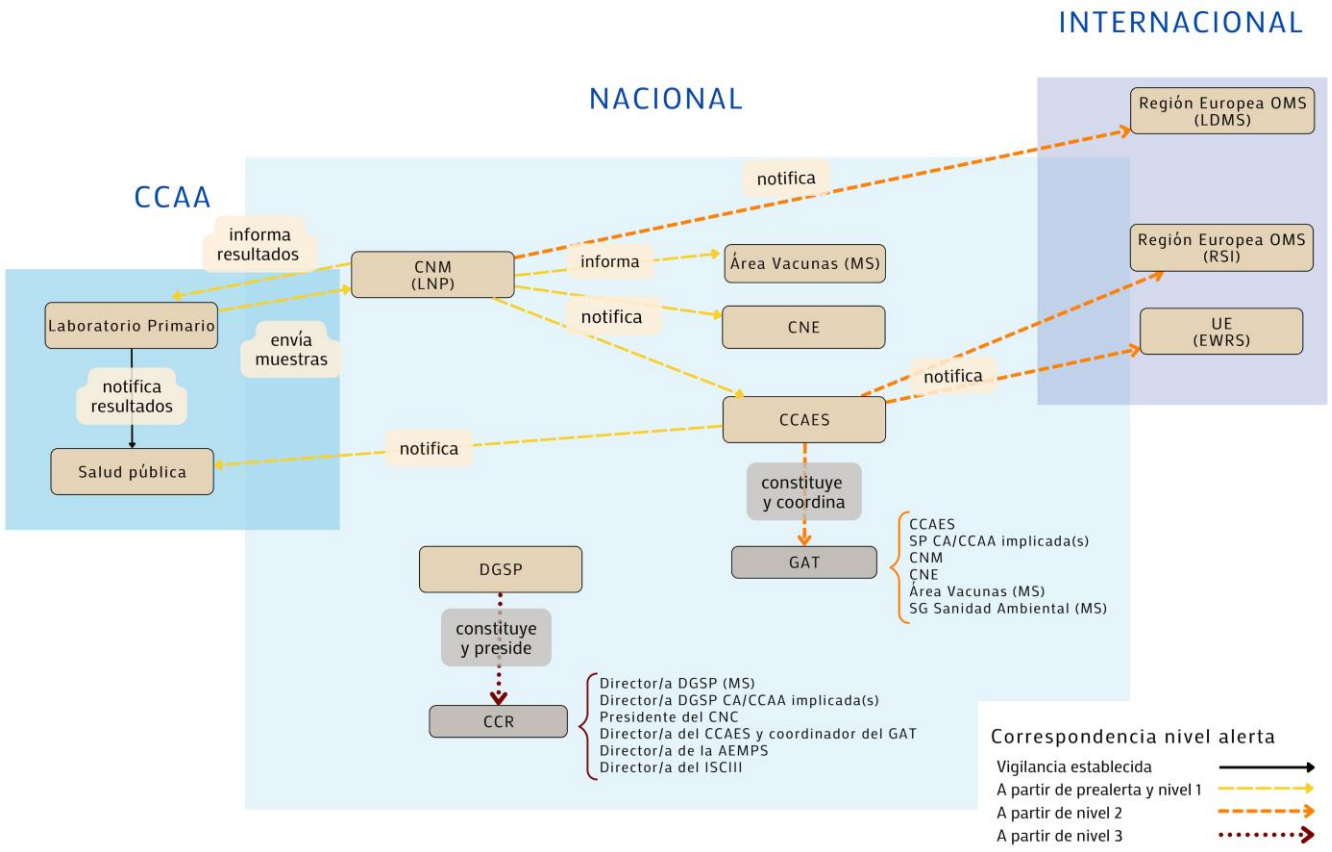
Comunidad Autónoma	Provincia	Poblaciones	EDAR
Andalucía	Cádiz	Jerez De La Frontera	Guadalete
Andalucía	Huelva	Huelva	Huelva
Aragón	Zaragoza	Zaragoza	La Cartuja
Canarias	Gran Canaria	Las Palmas de GC	Barranco Seco
Canarias	Tenerife	Tenerife Sur	Adeje-Arona
Cataluña	Barcelona	Barcelona	Besos
Cataluña	Lérida	Lleida	Lleida
La Rioja	La Rioja	Logroño	Logroño
Madrid	Madrid	Madrid	Rejas
Madrid	Madrid	Madrid	Viveros
Melilla	Melilla	Melilla	Melilla
País Vasco	Álava	Vitoria	Crispijana
País Vasco	Vizcaya	Bilbao	Galindo

Protocolo

Ámbito	Doce localidades (13 EDAR), muestreándose al menos 1 EDAR en cada localidad
Periodo	Al menos cuatro semanas consecutivas en el cuarto trimestre del año 2022.

Puntos de muestreo	Se designará un punto de muestreo en la entrada de la EDAR. Las EDAR muestreadas serán las que reciban las aguas residuales de las poblaciones elegidas.
Frecuencia de muestreo	La frecuencia de muestreo será de una vez por semana y en la hora de máxima carga fecal.
Toma de muestras	El muestreo será de tipo simple de forma puntual a la entrada de la EDAR. Los protocolos del muestreo simple se facilitarán a los operadores.
Parámetros a determinar	En el momento de la toma de la muestra, el operador podrá medir: el amonio (mg/L), Demanda Química de Oxigeno (DQO), pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto como parámetros indicadores de la carga fecal y el caudal instantáneo. En el laboratorio elegido se analizará la presencia de poliovirus.
Método de Análisis	La detección de PV se realizará mediante métodos moleculares de amplificación genómica (PCR u otro método factible) incluyendo, PCR en la región VP1 específica para EV-C (in-house), seguida de secuenciación masiva con MinION (Oxford Nanopore). En caso de positividad se realizará la secuenciación para determinar el tipo de PV.
Flujo de Información	En este estudio piloto el flujo de información se reducirá a la transmisión de los resultados semanales desde los laboratorios al Ministerio de Sanidad.

Anexo 2: Flujo de comunicación y acciones ante una sospecha de PV en aguas residuales



Anexo 3: Metodología para la confirmación y caracterización de PV detectados en aguas residuales

En el caso de que alguna muestra analizada por los laboratorios primarios resulte positiva para la detección de poliovirus (PV), se deberá enviar dicha muestra al LNP del CNM para su confirmación y caracterización, según la metodología siguiente:

a) Aislamiento del PV mediante cultivo en las líneas celulares RD y L20B siguiendo el algoritmo de 14 días según las recomendaciones de la OMS[29,30].

b) Confirmación de la detección del PV directamente en la muestra recibida y en el aislado obtenido mediante técnicas de amplificación genómica: PCR de detección genérica de EV[31] y PCR genotipado en VP1 específica para EV-C[32]. Confirmación mediante secuenciación de los productos de PCR y análisis BLAST.

c) Si se obtiene aislamiento de PV (células L20B positivas), se enviará al Laboratorio Regional de Polio, en el *Robert Koch Institute* (RKI), para su confirmación y caracterización (ver apartado d).

d) Caracterización de los PV detectados (PV salvaje, VPO-Sabin, nVPO2 o PVDV) mediante ensayos de diferenciación intratípica (ITD)[33]. En el caso de que la ITD indique que se trata de un PV2 o cualquier PVDV se realizará la amplificación y secuenciación de la región VP1 completa del genoma vírico, que permitirá confirmar el tipo de PV, determinar la divergencia de secuencia con respecto a la cepa vacunal correspondiente, conocer la procedencia y estimar el periodo de circulación

La caracterización de los PV detectados se realizará simultáneamente en el RKI y en el CNM.

Bibliografía

[1] World Health Organization (WHO). Global Polio Eradication Initiative. Standard Operating Procedures Responding to a Poliovirus Event or Outbreak. Version 4. March 2022. Disponible en: https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2022/09/Standard-Operating-Procedures-For-Responding-to-a-Poliovirus-Event-Or-Outbreak-20220905-V4-EN.pdf

[2] World Health Organization (WHO). World Health Assembly 41. Global eradication of poliomyelitis by the year 2000. Report Nº: WHA41.28. 1988. Disponible en: https://apps.who.int/iris/handle/10665/164531

[3] World Health Organization (WHO). WHO statement on the meeting of the International Health Regulations Emergency Committee concerning the international spread of wild poliovirus. 5 May 2014. Disponible en: https://www.who.int/news/item/05-05-2014-who-statement-on-the-meeting-of-the-international-health-regulations-emergency-committee-concerning-the-international-spread-of-wild-poliovirus

[4] World Health Organization (WHO). World Health Organization Guidelines for Containment of Poliovirus Following Type-Specific Polio Eradication Worldwide, 2015. Morb Mortal Wkly Rep MMWR. 28 de agosto de 2015;64(33):913-7.

[5] Global Polio Eradication initiative (GPEI). Global eradication of wild poliovirus type 3 declared on World Polio Day. News Release. 14 October 2019. Disponible en: http://polioeradication.org/news-post/two-out-of-three-wild-poliovirus-strains-eradicated/

[6] World Health Organization (WHO). Disease Outbreak News; Detection of circulating vaccine derived polio virus 2 (cVDPV2) in environmental samples– the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland and the United States of America. 14 September 2022. Disponible en: https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON408

[7] World Health Organization (WHO). 15 April 2022. Circulating vaccine-derived poliovirus type 3 – Israel. Disponible en: https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON366

[8] World Health Organization (WHO). Global Polio Eradication Initiative, Polio Eradication & Endgame Strategic Plan 2013- 2018. Disponible en: https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/PEESP_EN_A4.pdf

[9] World Health Organization Guidelines for Containment of Poliovirus Following Type-Specific Polio Eradication Worldwide, 2015. Weekly. August 28, 2015 / 64(33);913-917. Disponible en: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6433a5.htm .

[10] World Health Organization (WHO). Polio vaccines: WHO position paper – June 2022. Weekly Epidemiological Record, 2022, 97, 277–300. Disponible en: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WER9725-277-300

[11] World Health Organization (WHO). Global Polio Eradication Initiative. Estrategia de Erradicación de la Poliomielitis 2022-2026. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/350970/9789240035362-spa.pdf

[12] Ministerio de Sanidad y Consumo. Instituto de Salud Carlos III Plan de actuaciones necesarias para la consecución del certificado de erradicación de la poliomielitis. 1998. Disponible en: https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/POLIO/Planes_erradicaci%C3%B3n_Polio/Plan_Erradicaci%C3%B3n_Poliomielitis_Espa%C3%B1a_1998.pdf

[13] Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Plan de Acción para mantener un estado libre de polio en España, tras obtener el certificado de la Interrupción de la transmisión de poliovirus salvaje en la Región Europea de la OMS. Actualización, marzo 2007. Disponible en: https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/POLIO/Planes_erradicaci%C3%B3n_Polio/Plan_Erradicaci%C3%B3n_Poliomielitis_%20Espa%C3%B1a.%20Actualizaci%C3%B3n_2007.pdf

[14] Plan de acción en España para la erradicación de la poliomielitis. Febrero 2016. Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad. 2016. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/polio/docs/Plan_erradicacion_poliomielitis.pdf

[15] Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Protocolos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Protocolo de Vigilancia de Poliomielitis. Disponible en: https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/POLIO/Planes_erradicaci%C3%B3n_Polio/Protocolo%20de%20Vigilancia%20de%20Poliomielitis.pdf

[16] Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Ministerio de Sanidad. Evaluación rápida de riesgo. Riesgo asociado a la importación de poliovirus en España tras la reciente identificación de casos de poliomielitis y la detección de poliovirus en aguas residuales en países de nuestro entorno. 25 octubre 2022. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/ERR_poliovirus_24102022.pdf

[17] Ministerio de Sanidad. Coberturas de vacunación. Datos estadísticos. Porcentaje de coberturas de primovacunación (series básicas). Total Nacional. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/calendario-y-coberturas/coberturas/home.htm

[18] Limia Sánchez A, Olmedo Lucerón C et al. 2º Estudio de Seroprevalencia en España, 2017-2018. Rev Esp Salud Pública. 2021; 95: 18 de marzo e202103059es. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/VOL95/C_ESPECIALES/RS95C_202103059es.pdf

[19] 2º estudio de seroprevalencia en España. Septiembre 2020. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/en/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/comoTrabajamos/docs/EstudioSeroprevalencia_EnfermedadesInmunoprevenibles.pdf

[20] Comisión Europea. Recomendación (UE) 2021/472 de la Comisión de 17 de marzo de 2021 sobre un enfoque común para establecer una vigilancia sistemática del SARS-CoV-2 y sus variantes en las aguas residuales de la UE. DOUE. Nº 98- 19.03.2021. DOUE-L-2021-80346. Disponible en: https://www.boe.es/doue/2021/098/L00003-00008.pdf

[21] Public Health England. PHE national polio guidelines. Local and regional services. 2019. Disponible en: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/833211/National_polio_guidelines_2019.pdf

[22] World Health Organization Regional Office for Europe. Regional Polio Lab Network. Online Laboratory Data Management System. Disponible en: https://ldms.euro.who.int/Account/LogOn?ReturnUrl=%2f

[23] World Health Organization (WHO). Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. 2003. WHO/V&B/03.03 .Disponible en: https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/WHO_V-B_03.03_eng.pdf

[24] Avellón A, Cabrerizo M, de Miguel T, et al. Paralysis case and contact spread of recombinant vaccine-derived poliovirus, Spain. Emerg Infect Dis. 2008 Nov;14(11):1807-9. doi: 10.3201/eid1411.080517.

[25] Chirlaque López MD, Cabrerizo M, Guzmán Herrador BR et al. An imported case of vaccine-derived poliovirus type 2, Spain in the context of the ongoing polio Public Health Emergency of International Concern, September 2021. Euro Surveill. 2021 Dec;26(50):2101068.

[26] Ministerio para Transición Ecológica y el Reto Demográfico. Vigilancia microbiológica en aguas residuales y aguas de baño como indicador epidemiológico para un sistema de alerta temprana para la detección precoz de SARS-CoV-2 en España. Disponible: https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/vertidos-de-aguas-residuales/alerta-temprana-covid19/

[27] Comisión Europea. Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las Regiones COVID-19: Respaldar la preparación y la respuesta de la UE con vistas al future. COM(2022)190 final. 27.04.2022. Disponible en: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:52022DC0190&from=EN

[28] Ministerio de Sanidad. Estrategia Nacional HEBAR. 2. Virus de la polio. Estudio piloto.2022. (pendiente de publicación).

[29] World Health Organization (WHO). Polio Laboratory Manual, 4th edition. Geneva: WHO; 2004. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68762/1/WHO_IVB_04.10.pdf

[30] World Health Organization (WHO). An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization. Polio Laboratory Manual 4th edition. Geneva: WHO; 2004. Disponible en: http://polioeradication.org/wp-content/uploads/2017/05/NewAlgorithmForPoliovirusIsolationSupplement1.pdf

[31] Casas, I., Tenorio, A., Echevarria, et al. Detection of enteroviral RNA and specific DNA of herpes viruses by multiplex genome amplification. J. Virol. Methods 1997; 66, 39–50

[32] Cabrerizo M, Echevarria JE, Gonzalez I, et al. Molecular Epidemiological Study of HEV-B Enteroviruses Involved in the Increase in Meningitis Cases Occurred in Spain During 2006. Journal of Medical Virology 2008; 80:1018–1024

[33] N Gerloff, H Sun, M Mandelbaum, et al. Diagnostic Assay Development for Poliovirus Eradication. J Clin Microbiol. 2018; 56: e01624-17