

**GUIA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LA PARALISIS FLACIDA  
AGUDA EN MENORES DE 15 AÑOS DENTRO DEL PROGRAMA MUNDIAL DE  
ERRADICACION DEL POLIOVIRUS SALVAJE**



WHO/ Sephi Bergerson

**DIRECCION DE REDES EN SALUD PÚBLICA**

**GRUPO DE VIROLOGIA**

**19 DE DICIEMBRE DE 2014**

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400

### **Dirección**

Fernando Pio de la Hoz  
Director General Instituto Nacional de Salud

### **Coordinación**

Mauricio Beltrán Durán  
Director Técnico Redes en Salud Pública

Cesar Augusto Ramirez Segura  
Subdirector Laboratorio Nacional de Referencia  
Dirección de Redes en Salud Pública

Andres Paez Martinez  
Coordinador Grupo de Virologia  
Laboratorio Nacional de Referencia  
Dirección de Redes en Salud Pública

Esther Cristina Barros- Marysol Gonzalez Hormiga  
Equipo Técnico Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia  
Dirección de Redes en Salud Pública

### **Elaborado por**

Dioselina Pelaez Carvajal  
Equipo de Laboratorio de Polio/Enterovirus  
Grupo de Virología  
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia (SLNR)  
Dirección Redes en Salud Pública

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 – 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400



## OBJETIVOS DE LA GUÍA

Trazar lineamientos técnicos y operativos de la vigilancia por laboratorio del evento parálisis flácida aguda en menores de 15 años con diagnóstico probable de poliomielitis por poliovirus salvaje, derivado de vacuna o asociado a vacuna oral de polio.

Precisar la organización de la red nacional de laboratorios para la vigilancia de la parálisis flácida aguda, así como describir las funciones en cada uno de los niveles.

Describir los procesos de obtención, transporte y conservación de las muestras para la vigilancia del evento.

Detallar los fundamentos técnico-científicos de los ensayos de laboratorio útiles en la vigilancia de la parálisis flácida aguda.

## DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

**IPS:** Institución prestadora de servicios de salud

**LNR:** Laboratorio Nacional de Referencia

**Parálisis flácida Aguda:** Pérdida de movimientos voluntarios con debilidad muscular que se instala en un tiempo menor a 10 días.

**PFA:** *Parálisis Flácida Aguda*

**Poliomielitis:** Es una enfermedad viral febril aguda, cuyo patógeno afecta preferentemente las regiones de la médula espinal que controlan los movimientos. Esto puede producir, en algunos casos desfavorables, parálisis y muerte.

**Poliovirus:** Virus humano del género *enterovirus* del grupo C, de la familia Picornaviridae y agente causante de la poliomyelitis. Es un pequeño virus ARN de cadena lineal simple en sentido positivo, con un tamaño cercano a 30 nm de diámetro y aproximadamente 7500 nucleótidos.

**SDS:** Secretaria Departamental de Salud

**VDPV:** Virus derivado de vacuna de polio virus.

**VIP:** Vacuna inactivado (virus muerto) de poliovirus.

**VOP:** Vacuna oral (virus vivo atenuado) de poliovirus.



INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



## GENERALIDADES

La **parálisis flácida** es un tipo de parálisis en la cual el músculo se torna laxo y blando, no resistiendo a un estiramiento pasivo, lo que da lugar a una debilidad extrema y a la pérdida completa de los reflejos tendinosos y cutáneos.

Su origen tiene lugar cuando se producen alteraciones del nervio periférico dando como resultado una lesión de los grupos de neuronas motoras inferiores (NMI), localizadas en el asta ventral de la médula espinal o bien desde las fibras que van hacia la periferia desde las neuronas motoras inferiores hacia los músculos que inervan (1).

### Características Clínicas de la parálisis Flácida Aguda- PFA

La parálisis se define como la pérdida parcial o total de la capacidad para realizar movimientos voluntarios. La definición incluye no solamente los movimientos de los cuatro miembros, sino también aquellos con un componente automático tales como la respiración, la deglución, y los movimientos oculares. En términos clínicos, la parálisis puede resultar de la lesión en uno de los cuatro sitios anatómicos: neurona motora superior, neurona motora inferior, unión neuromuscular y músculo estriado. Las lesiones en la neurona motora superior se caracterizan por la presencia de parálisis espástica, hiperreflexia, clonus y signo de Babinski. Por el contrario, las lesiones en la neurona motora inferior (incluyendo raíces, plexos, nervios periféricos, unión neuromuscular y músculo) se presentan con parálisis flácida y pérdida de reflejos. La denominación parálisis aguda indica la instalación abrupta de la debilidad muscular, pero implica también que la parálisis progresa hasta su acmé en 1 a 10 días, usualmente en 3 a 4 días (1, 2, 3).

### Etiología de la enfermedad

Las causas más frecuentes de PFA en niños son:

**Neuropatía Periférica:** Este es un amplio grupo causado por lesiones del sistema nervioso periférico las cuales pueden variar desde la lesión única de un nervio periférico (mononeuropatía) hasta el compromiso de múltiples raíces y nervios (polirradiculoneuritis). Las más frecuentes incluyen el síndrome de Guillain-Barré (SGB), neuropatías traumáticas, tóxicas, infecciosas y las secundarias de otras enfermedades (3, 4, 5).

El SGB incluye tanto la polirradiculoneuritis desmielinizante aguda como la neuropatía aguda motora axonal (NAMA) descrita en niños en China, posiblemente asociada a la infección con *Campylobacter jejuni*. Se incluyen también los casos de SGB secundarios a la vacunación antirrábica humana con vacuna producida en cerebro de ratón lactante. Entre las causas infecciosas de SGB figuran la infección por algunos enterovirus (EV 71) el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la enfermedad de Lyme (Borreliaburgdorferi), la leptospirosis, la difteria, la mononucleosis infecciosa (virus de Epstein-Barr) y la rabia. Las causas tóxicas de polineuropatía periférica incluyen neurotóxicos

Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400





INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



naturales tales como la ciguatoxina, así como una larga serie de neurotóxicos ambientales e industriales tales como metales pesados (plomo, talio), solventes orgánicos (n-hexano), plastificantes (acrilamida), plaguicidas, lo mismo que drogas y productos farmacéuticos tales como la isoniazida y las nitrofurantoínas (2).

**Mielitis aguda:** Las lesiones agudas de la médula espinal incluyen procesos de tipo compresivo tales como absceso epidural, hematoma y tumores. Una forma relativamente frecuente en niños es la mielitis transversa aguda (MTA) la cual se considera una variante de la encefalomielitis aguda diseminada. A semejanza del SGB, la MTA puede ocurrir en respuesta a procesos de tipo infeccioso o post-vacunal (1, 2, 3).

**Lesiones de la unión neuromuscular (UNM):** Entre los procesos que afectan la transmisión a nivel de la UNM se cuentan la miastenia gravis, el botulismo y varias neurotoxinas de origen vegetal como el curare, o animal como venenos de serpientes, ranas y la picadura de garrapata. Así mismo, los insecticidas organofosforados afectan la UNM (1, 2, 3).

**Lesiones Musculares:** Con alguna frecuencia las lesiones musculares pueden presentarse como una PFA en niños. Entre las más frecuentes figuran la polimiositis o miopatía inflamatoria idiopática. Recientemente se ha asociado la miopatía inflamatoria con la infección por el retrovirus humano linfotrópico tipo I (HTLV-I). Este virus es endémico en las islas del Caribe, así como en algunas regiones de Colombia, Panamá, Chile y Brasil donde se ha asociado principalmente a la paraparesia espástica tropical y a la leucemia de células T del adulto. Otros procesos musculares incluyen la parálisis periódica familiar hipocaliémica o hipercaliémica y la triquinosis (1, 2).

**Poliomielitis por poliovirus:** El poliovirus es un enterovirus que se divide en tres tipos antigénicos: 1, 2 y 3; los tres pueden provocar parálisis, pero el tipo 1 lo hace con mayor frecuencia, el tipo 3 en menor medida, y el tipo 2 (erradicado del mundo desde 2012) lo producía rara vez. La mayoría de las epidemias se deben al poliovirus de tipo 1. Los casos relacionados con la vacuna, que contiene los tres tipos de virus, generalmente son producidos por los tipos 2 ó 3 y los casos por virus derivado de vacuna oral de polio (VDVP) han sido causados principalmente por poliovirus 1 y 2 aunque 3 también puede derivar en este tipo de virus (2, 3, 4).

## Epidemiología de la enfermedad

La poliomielitis (del griego *πολιός*, *poliós*: gris; y de *μυελός*, *myelós*: refiriéndose a la médula espinal), es una enfermedad infecciosa, también llamada polio (de manera abreviada), que afecta principalmente al sistema nervioso. La enfermedad la produce el virus poliovirus. Se llama infantil porque las personas que contraen la enfermedad son principalmente niños. Se transmite de persona a persona a través de secreciones respiratorias o por la ruta fecal oral. La mayoría de las infecciones de polio son asintomáticas. Solo en el 1 % de casos, el virus entra al sistema nervioso central (SNC) vía la corriente sanguínea. Dentro del SNC, el poliovirus preferencialmente

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400



infecta y destruye las neuronas motoras. Esa destrucción de neuronas causa debilidad muscular y *parálisis aguda flácida*.

La poliomielitis es más probable que ocurra en niños de 4 a 15 años en climas templados, en verano cálido e invierno un poco frío. Es una enfermedad muy infecciosa, pero se combate con la vacunación. La enfermedad afecta al sistema nervioso central. En su forma aguda causa inflamación en las neuronas motoras de la médula espinal y del cerebro y lleva a la parálisis, atrofia muscular y muy a menudo deformidad. En el peor de los casos puede causar parálisis permanente o la muerte al paralizarse el diafragma (4, 5, 7, 8, 9).

### Transmisión

La transmisión de la enfermedad por la vía fecal-oral es muy común en los países en desarrollo, donde el saneamiento es deficiente, mientras que la transmisión orofaríngea es frecuente en las naciones industrializadas y también durante los brotes. Una semana después del inicio de la enfermedad quedan pocos virus en la garganta; sin embargo, continúan excretándose en las heces durante seis a ocho semanas. Los casos probablemente son más infecciosos en los primeros días antes y después del inicio de los síntomas. (3, 4, 5, 7, 8, 9).

### Reservorio

El ser humano es el único reservorio y la infección se transmite de persona a persona. Debido al gran número de infecciones subclínicas, a veces resulta difícil encontrar la fuente de un caso. No se ha demostrado que existan portadores a largo plazo, excepto en las raras circunstancias en que el virus ha sido aislado en forma repetida y por largos períodos en personas inmunodeficientes. Esos casos no han estado asociados con brotes de poliomielitis. . (3, 4, 5, 7, 8, 9).

### Incubación

En promedio, el período de incubación desde el momento de la exposición al virus hasta la aparición de parálisis, es de siete a 21 días (con un mínimo de cuatro días y un máximo de 40). El poliovirus es demostrable en las secreciones faríngeas después de 36 horas de la exposición a la infección y en las heces después de 72 horas, tanto en los casos clínicos como en los asintomáticos. A la enfermedad inicial le siguen algunos días relativamente asintomáticos, que son previos a la parálisis. . (3, 4, 5, 7, 8, 9).

### Inmunidad

Toda persona no inmunizada es susceptible de contraer la poliomielitis. Las pruebas epidemiológicas demuestran que los recién nacidos de madres con anticuerpos están protegidos en forma natural contra la enfermedad paralítica durante algunas semanas. La inmunidad se adquiere después de una infección por el virus salvaje o por vacunación. La inmunidad adquirida por la infección natural (que incluye infecciones subclínicas y leves) o por la serie completa de la vacuna de poliovirus vivo de administración oral provoca



INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



respuestas tanto humorales como localizadas en las células intestinales. Se estima que esta inmunidad es vitalicia y que puede bloquear la infección por subsiguientes virus salvajes, interrumpiendo la cadena de transmisión. La aplicación de la vacuna de poliovirus inactivado (VPI) confiere inmunidad humoral, pero la inmunidad intestinal es relativamente menor. Se cree que la inmunidad cruzada entre distintos tipos de poliovirus es escasa o nula. . (3, 4, 5, 7, 8, 9).

## Patogénesis

La boca es el punto de entrada común. El virus se multiplica primero en los ganglios linfáticos de la faringe y del sistema gastrointestinal, y por lo general está presente en la faringe y en las heces antes del inicio de la enfermedad paralítica. Una vez en el interior del organismo, el virus penetra en el tejido linfóide local, ingresa al torrente sanguíneo y puede invadir ciertos tipos de células nerviosas, en cuyo interior se multiplica, dañándolas o destruyéndolas por completo. Muchos individuos infectados por el poliovirus salvaje presentan enfermedades leves que no pueden distinguirse clínicamente de padecimientos asociados a otras causas. Los síntomas relacionados con estas enfermedades son fiebre leve, dolores musculares, cefalea, náuseas, vómitos, rigidez del cuello y de la espalda y, con menor frecuencia, signos de meningitis aséptica (no bacteriana). Las infecciones subclínicas son comunes.

Cuando se produce parálisis por poliomielitis se pueden presentar las siguientes características: Flacidez (los músculos no presentan rigidez ni espasmos), dificultad para permanecer de pie y caminar, preceden comúnmente síntomas de una enfermedad leve, como dolor de garganta, cefalea, dolor de espalda, fiebre, vómitos, etc.; se presenta muy pronto, por lo general en menos de cuatro días, su inicio regularmente va acompañado de fiebre, la mayoría de los pacientes experimenta escasa o nula pérdida sensorial por ejemplo, sí siente un pinchazo (este signo puede ser difícil de determinar en los niños), por lo común, las piernas se ven más afectadas que los brazos y los grupos de músculos grandes corren más riesgo que los pequeños; los músculos proximales de las extremidades tienden a sufrir más daño que los distales; es generalmente asimétrica (aunque puede producirse parálisis de cualquier combinación de extremidades) lo más común es que se vea afectada solo una pierna y, con menor frecuencia, un brazo únicamente, la cuadriplejía es rara en los lactantes, las secuelas suelen persistir más de 60 días después del inicio. (3, 4, 5, 7, 8, 9).

## Patogénesis y evolución clínica de la poliomielitis aguda

**La patogénesis se describe en la figura 2.**

Figura 2. Patogénesis y evolución clínica de la Poliomielitis aguda

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

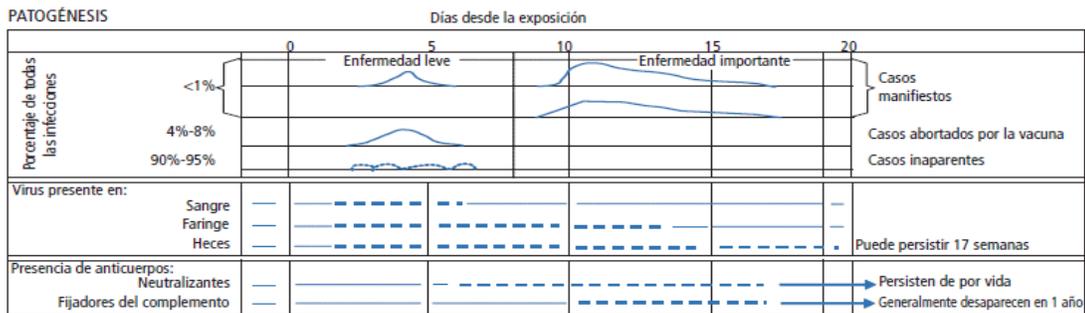
fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

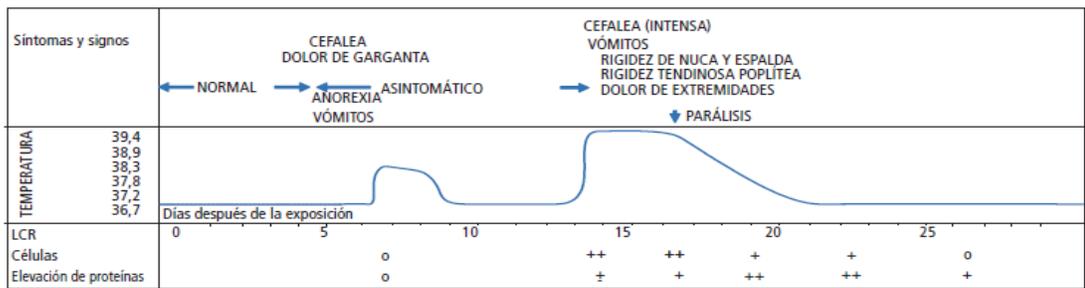
línea gratuita nacional: 018000 113 400



**Patogénesis y evolución clínica de la poliomielitis aguda**



**EVOLUCIÓN CLÍNICA**



Tomado de la Guía práctica para la erradicación de la polio, OPS/OMS 3º edición, 2005

**Diagnóstico diferencial**

Es necesario investigar todos los casos de PFA en menores de 15 años que no se deban evidentemente a traumatismos graves. Si hay una firme presunción de poliomielitis en personas mayores de 15 años, estos casos también deberán investigarse en forma exhaustiva. Es difícil confirmar la poliomielitis paralítica en la fase aguda sobre la base de los signos y síntomas clínicos solamente, ya que muchas otras enfermedades y trastornos pueden causar síntomas similares. Por lo tanto, la confirmación del laboratorio es indispensable para el diagnóstico definitivo. Las dos enfermedades que se confunden más a menudo con poliomielitis son el síndrome de Guillain-Barré (SGB) y la mielitis transversa (3, 9, 15). Ver Tabla 1.

Otras afecciones que podrían presentar síntomas similares a los de la poliomielitis paralítica son la neuritis traumática, ciertos tumores y, con menos frecuencia, la meningitis/encefalitis y las enfermedades producidas por diversas toxinas. La diferencia más importante entre la poliomielitis y las demás causas de PFA es que en la primera las

Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400



secuelas paralíticas suelen ser graves y permanentes, mientras que en las demás causas la PFA tiende a resolverse o mejorar 60 días después de iniciada.

La única neuropatía periférica que es pertinente para los diagnósticos diferenciales de la poliomielitis es la que se produce como efecto secundario de la ingestión de *Karwinskia calderonii* o *Humboldtiana*, baya venenosa que se encuentra en algunas zonas de México y América Central en ciertas estaciones del año. La mortalidad puede llegar al 20% de los casos si no se brinda adecuado respaldo respiratorio.

Otras neuropatías periféricas de la niñez, como la metabólica (diabética), la tóxica (solventes de plomo y lípidos) o hereditarias (Charcot-Marie-Tooth) carecen de importancia a los efectos del diagnóstico diferencial de la poliomielitis, pues todas ellas siguen una trayectoria crónica (3, 4, 9).

**Tabla 1 . Criterios de diagnóstico diferencial de la poliomielitis, el Síndrome de Guillan-Barré, la mielitis transversa y la neuritis traumática.**

Características	Polio	S.G.B.	Neuritis traumática	Mielitis transversa
<b>Instalación de la parálisis</b>	24 a 48 horas	Desde horas hasta diez días	Desde horas hasta cuatro días	Desde horas hasta cuatro días
<b>Fiebre al inicio</b>	Alta, siempre presente al comienzo de la parálisis Flácida, desaparece al día siguiente	No es frecuente	Por proceso infeccioso frecuentemente presente antes de, durante y después de la PFA	Rara vez presente
<b>Parálisis flácida</b>	aguda, asimétrica, principalmente proximal	Generalmente aguda, simétrica y distal	Asimétrica, aguda,	Aguda, miembros inferiores simétrica
<b>Tono muscular</b>	reducido o ausente en el miembro afectado	Hipotonía global	Reducido o ausente en el miembro afectado	Hipotonía de los miembros inferiores
<b>Reflejos osteotendinosos profundos</b>	Entre reducidos y ausentes	Globalmente ausentes	Entre reducidos y ausentes	Ausentes en miembros inferiores
<b>Sensación</b>	Grave mialgia, dolor de espalda	Calambres, hormigueo, hipoanestesia de palmas de manos y pies.	Dolor en los glúteos, hipotermia	Anestesia de los miembros inferiores con nivel sensorial
<b>Compromiso de nervios craneanos</b>	Solo en formas bulbares	Suele estar presente, superiores e inferiores: síndrome de Miller-Fisher	Ausente	Ausente
<b>Insuficiencia respiratoria</b>	Solo en formas bulbares	En casos graves, exacerbada por neumonía bacteriana	Ausente	A menudo torácica, con nivel sensorial
<b>Autonomía y disautonomía</b>	Rara	Frecuentes cambios en la presión arterial, sudoración, enrojecimiento	Hipotermia en el miembro afectado	Presente

Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400

		del rostro y temperatura alterada		
<b>Líquido cefalorraquídeo</b>	- inflamatorio - células más de 200/ml - proteínas elevadas superior a 50mg/ml.	Disociación albúmino-citológica. Glóbulos blancos < 5, proteínas elevadas sup. a 50 mg/ml	Normal	normal o moderado en células
<b>Disfunción vesical</b>	Ausente	A veces transitoria	Nunca	Presente
<b>Velocidad de conducción nerviosa: tercera semana</b>	Anormal: enfermedad de las células del asta anterior (normal en las primeras dos semanas)	Anormal: desmielinización bloqueo de conducción	Anormal: daño axonal	Normal o anormal, sin valor diagnóstico
<b>Electromiografía a las tres semanas</b>	denervación anormal	Normal	Normal	Normal
<b>Secuela a los tres meses y hasta un año</b>	Grave, asimétrica, atrofia, y después, deformaciones esqueléticas	Atrofia simétrica moderada de músculos perineales	Atrofia moderada, solo en el miembro inferior afectado	Atrofia, diplejía Flácida después de años

Fuente: "Síndrome de Guillan-Barré: "El diagnóstico de la polio y otras parálisis Flácidas agudas: enfoque neurológico" Alcalá, H.; Olivé, J-M; de Quadros, C.; No. EPI/TAG/91-10 Documento presentado en la IX Reunión del Grupo Técnico Asesor sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación, 1991.

### Antecedentes e importancia de la vigilancia del evento

Campaña de Erradicación mundial del poliovirus salvaje: En mayo de 1988, la 41ª Asamblea Mundial de la Salud comprometió los Estados miembros de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para que tomaran la iniciativa de la erradicación mundial de la poliomielitis para el año 2000 (resolución WHA41.28). La resolución especificaba que ésta iniciativa debería perseguir el fortalecimiento del Programa Ampliado de Inmunización (PAI). En 1989, la 42ª asamblea de la OMS aprobó un plan general de acción para la Erradicación Mundial de la Poliomielitis, teniendo como estrategias la vacunación con vacuna oral de polio (VOP3) de todos los menores de cinco años, la detección de virus en muestras de materia fecal de todos los casos con Parálisis Flácida Aguda (PFA) en menores de 15 años y la búsqueda activa e investigación de casos de PFA tanto en instituciones hospitalarias como en comunidad (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

La campaña mundial para erradicar la poliomielitis es la iniciativa de salud pública más grande en la historia con un extraordinario progreso alcanzando en 1998 la reducción del 99% de los casos en solo 10 años. En 1988, esta enfermedad existía en más de 125 países de los cinco continentes y más de 350000 niños quedaron paralizados en ese año. En 1994 se certificó la desaparición del poliovirus salvaje de la región de las Américas pero en 2000-2001, se presentó un brote en Haití y República Dominicana, causado por

Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400





INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



poliovirus tipo 2 derivado de vacuna, controlado por aumento en las coberturas de VOP3 en los dos países (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

A finales de 2002, más de 180 países y territorios estaban libres de poliomiélitis, el número de países afectados por la poliomiélitis se había reducido a siete, eliminándose de tres continentes: americano, pacífico occidental y europeo y confirmándose 1900 casos. Actualmente solo hay circulación endémica del virus salvaje en tres países: Afganistán, Pakistán y Nigeria con 160 casos a finales de 2013. Además de estos países, en mayo de 2013 se notificó un brote en Somalia que a diciembre había causado parálisis de 194 niños y 62 casos importados en tres países del Cuerno de África (Somalia, Kenia y Etiopía). Todos los casos han sido causados por Poliovirus salvaje tipo1. En lo que va corrido de 2014 (enero 1 a agosto 24) se han registrado 171 casos, 152 en países endémicos y 21 casos en seis países por brotes: Somalia, Guinea Ecuatorial, Iraq, Camerún, Siria (8, 9, 10, 11).

Además del poliovirus salvaje como agente causante de enfermedad paralítica, se ha registrado un importante número de casos asociados a vacuna Sabin (VOP3) – casos de origen postvacunal, causados generalmente por los tipos 2 ó 3 asociados a las dos primeras dosis de VOP pero también a la tercera e inclusive a individuos contactos de vacunados (3, 4, 9, 12). Un tercer tipo de poliovirus son los *poliovirus derivado de la vacuna* tipo Sabin o VDPV, que ha causado brotes en Egipto, Filipinas, Haití, Madagascar, República Dominicana, India, China, Nigeria, Pakistán, entre otros, es un virus que ha mutado en más de 1% respecto de la cepa original Sabin y que ha revertido a la neurovirulencia. Se conocen tres tipos de poliovirus derivados de la vacuna: el iVDPV (i de inmunodeficiente), aislado en personas con deficiencia inmunitaria, el cVDPV (c de comunidad), que ha sido aislado en brotes y ha mostrado tener las mismas características epidemiológicas y biológicas de los virus salvajes y al aVDPV (ambiente) encontrado en muestras ambientales sin casos de PFA en la comunidad. El poliovirus derivado de la vacuna Sabin, que ha causado brotes en Egipto, Filipinas, Haití, Madagascar y la República Dominicana, es un virus que ha mutado en más de 1% respecto de la cepa original Sabin (VDPV) y que ha revertido a la neurovirulencia. Se conocen tres tipos de poliovirus derivados de la vacuna: el iVDPV (i de inmunodeficiente), aislado en personas con deficiencia inmunitaria, el cVDPV (c de circulante), aislado en brotes y ha mostrado tener las mismas características epidemiológicas y biológicas de los virus salvajes y aVDPV (c de ambiguo) pues no se ha definido dentro de ningún grupo anterior y ha sido aislado de muestras ambientales sin detección de casos de PFA asociados (3, 4, 10, 13).  
Figura 1.

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

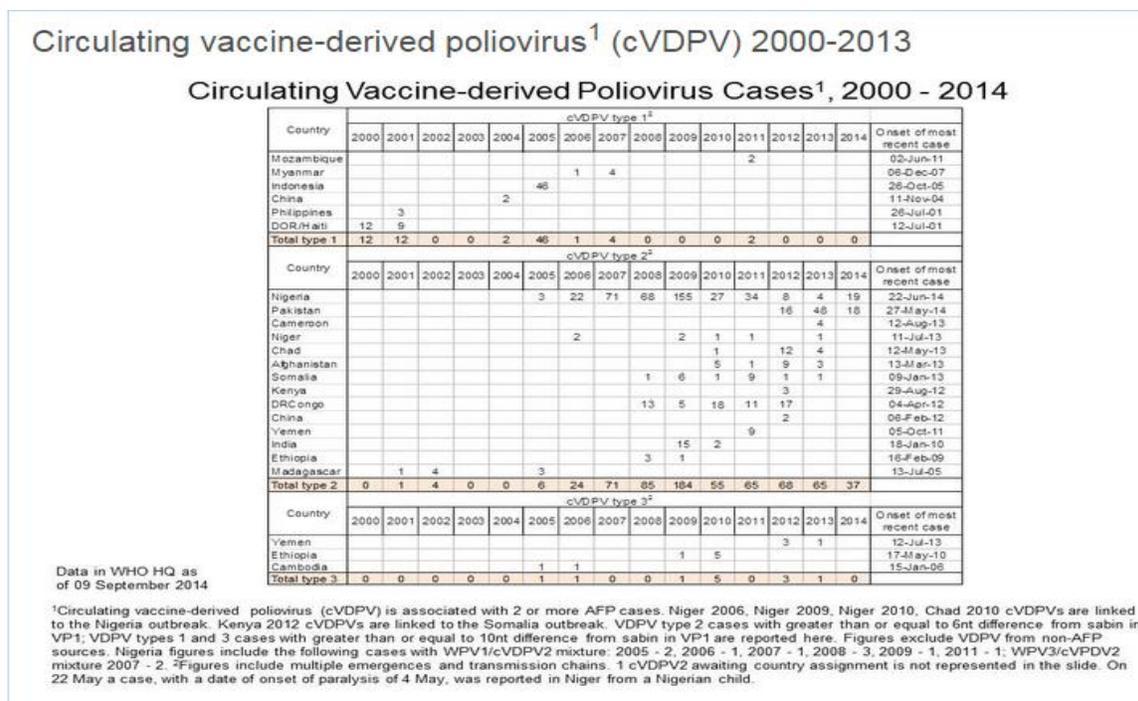
fax 220 7700 Ext. 1283 – 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400



Figura 1. Circulación de Polio virus derivado de vacuna



El 26 de mayo de 2012, la Asamblea Mundial de la Salud declaró que la erradicación de la poliomielitis “constituye una emergencia programática de alcance mundial para la salud pública”. Desde 2012 la India fue declarada libre de poliovirus salvaje pero la comunidad internacional aún se enfrenta a la transmisión del poliovirus salvaje, debido a que aún persiste de manera endémica en tres países, seis países más han importado virus en los últimos 12 meses y muchos más tienen alto riesgo asociado por poliovirus circulantes de origen vacunal. Por tal razón, la Asamblea Mundial de Salud solicitó a la Organización Mundial de la Salud, que elaborase y ultimase un plan estratégico integral para la erradicación de la poliomielitis y la fase final 2013-2018. El Plan prevé lograr simultáneamente la erradicación del poliovirus salvaje y la eliminación del poliovirus de origen vacunal (VDPVs) y planificar, al mismo tiempo, la utilización de la infraestructura de la lucha antipoliomielítica para prestar otros servicios de salud a los niños más vulnerables del mundo (7, 8, 11,14).

En Colombia, desde el último caso de poliomielitis presentado en mayo de 1991 en el municipio de Arjona, departamento de Bolívar, hasta la fecha, no se han aislado poliovirus salvajes. En los 26 años de vigilancia epidemiológica de las PFA en Colombia se han identificado 13 casos de poliomielitis asociada a la vacuna VOP y un caso de iVDPV en un paciente con agamaglobulinemia (datos de laboratorio del INS, sin publicar). Actualmente nos encontramos en la recta final de este programa y a puertas de la certificación de la erradicación mundial es necesario demostrar una vigilancia



INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



epidemiológica y de laboratorio estrictas, con indicadores de cumplimiento por encima de 80% y tasa de PFA superior a 1 X 100.000 en menores de 15 años (3).

## DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO

### Papel del Laboratorio en la eliminación y erradicación del poliovirus.

Dado que agentes diferentes a poliovirus pueden causar parálisis flácida aguda, el laboratorio ha sido crucial para garantizar que la iniciativa cumpla con sus objetivos. La mayoría de las infecciones por poliovirus son asintomáticas, con síntomas clínicos que se observan en sólo 0,1 a 1% de las infecciones, por esta razón, es esencial el estudio virológico y sistemático de todos los casos de PFA notificados, un solo caso positivo de poliovirus perdido, puede significar que un millar de infecciones se han perdido también. En países como Colombia, donde la transmisión del poliovirus salvaje ha cesado, el papel del laboratorio es proporcionar información oportuna y precisa sobre los poliovirus salvajes importados de países donde la poliomiélitis sigue siendo endémica, la identificación inmediata de cepas neurovirulentas derivadas de vacuna oral (VDPV) y de casos de PFA asociados a vacuna y poner a disposición pruebas virológicas que permitan la certificación de la erradicación de la poliomiélitis. En todo caso, el laboratorio debe trabajar en estrecha colaboración con el equipo nacional de vigilancia, respondiendo a sus necesidades de información precisa y de rápido diagnóstico por laboratorio de los casos probables de polio (15).

### Tipos de muestras, Recolección y transporte

El aislamiento e identificación de cualquier serotipo de poliovirus salvaje o de una cepa neurovirulenta derivada de vacuna a partir de las heces del caso o de sus contactos (cuando haya sido necesario recolectarlos), es el criterio único para la confirmación de casos. Las muestras deben ser recolectadas dentro de los primeros 14 días luego del inicio de la parálisis utilizando envases plásticos con tapa ancha de rosca y cierre hermético. La cantidad mínima son 5 gramos (medidos como tamaño del dedo gordo) y ser remitidas al nivel central, INS, dentro de los 4 días siguientes a la recolección. Si no es posible enviarlas el mismo día, deberán ser refrigeradas por un tiempo no mayor a 48 horas (2 - 8° C), de lo contrario deben ser congeladas a -20° C.

Para el **diagnostico por laboratorio solo se procesaran muestras fecales**; las muestras de escobillado rectal y LCR no son aptas para este ensayo. Sin embargo todos los casos deberán tener un estudio citoquímico completo de LCR. La detección de anticuerpos antipolio no tiene ningún valor diagnóstico, por tanto, no se recomienda la toma de suero de manera rutinaria (3, 9,15).

Si el paciente ha fallecido, se deben hacer cortes de cerebro, cerebelo, cuerpo caloso, medula e intestino, ponerlas en solución salina estéril identificando el tipo de tejido y remitirlas al INS para el estudio viral. Adicionalmente, se deben también remitir cortes en solución tamponada de formol al 10% para el estudio histopatológico, estos últimos no deben ser congelados en ningún momento (3, 9).

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext.1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400





INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



Toda muestra biológica debe ser embalada y transportada según normas IATA. Debe estar identificada de manera inequívoca, escrita en forma clara y en tinta indeleble, con nombre del paciente tipo de muestra, tipo de análisis y fecha de la recolección de la muestra (16, 17).

Documentos para el envío de muestras: las muestras deben ser remitidas al INS acompañada de un oficio de remisión, resumen de historia clínica del paciente y ficha de notificación del evento con TODOS los campos diligenciados

## **Ensayos de Laboratorio asociados a la vigilancia del evento**

### **Aislamiento viral en líneas celulares RD y L20B**

Este método de ensayo consiste en la inoculación de las muestras de materia fecal en células RD y L20B las cuales son sensibles a la infección por enterovirus. La detección de crecimiento de virus se evalúa por presencia de Efecto Citopático – ECP. El 80-90% de las muestras procesadas no exhiben ECP luego de 10 días cultivo en células. Aquellas muestras que exhiben ECP deben ser procesadas para identificación viral de Polio y tamizaje de virus vacuna derivado por RT-PCR en tiempo real.

La clasificación original de los enterovirus (EVs) se basó en la capacidad de crecimiento de los diferentes serotipos en una gran variedad de líneas de células continuas de origen humano y animal.

Existen aproximadamente 110 serotipos de EVs diferentes, (<http://www.picornaviridae.com/enterovirus/enterovirus.htm>), la mayoría de los cuales han sido asociados a patologías que incluyen: poliomielitis, meningitis aséptica, encefalitis, enfermedad perinatal por enterovirus, miocarditis, pericarditis, pleurodinia, enfermedad respiratoria, enfermedad febril por enterovirus, exantema viral, enantema, conjuntivitis no específica, conjuntivitis hemorrágica aguda, uveitis, gastroenteritis, hepatitis, artritis, pancreatitis, infección crónica en pacientes inmuno-comprometidos, infección urinaria, orquitis, Síndrome de Reye, Síndrome de muerte súbita infantil, rhabdomiolisis, fiebre glandular y síndrome de fatiga postviral.

### **Identificación de Enterovirus**

La clasificación intratípica de cepas de poliovirus y tamizaje de cepas VDPVs se realiza por la metodología RT-PCR en tiempo real. Las muestras con ECP positivos deberán ser congeladas y sometidas a un proceso de extracción de ácido nucleico viral por alguno de los métodos utilizados en nuestro laboratorio. En la reacción de rRT-PCR, el RNA viral es convertido a DNA complementario (cDNA) mediante una reacción de transcripción reversa y el cDNA es amplificado en una reacción de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) por la enzima Taq polimerasa. Los productos de PCR son detectados e identificados por hibridación con una sonda tipo Taqman® específica. Tanto la síntesis de cDNA como las reacciones de PCR utilizan sets de primers de oligonucleótidos (algunos de ellos son primers degenerados) los cuales al igual que las sondas Taqman® tienen diferentes especificidades. Esta combinación de primers permitirá en la identificación, diferenciación

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 – 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400





INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



intratípica y tamizaje de VDPV. El flujograma para el diagnóstico del evento corresponde a la figura 3.

### **Limitaciones y/o interferencias del ensayo de aislamiento viral de polio/enterovirus.**

El éxito del aislamiento viral de polio/enterovirus en células depende de la cepa de virus, de la cantidad de virus excretado en heces y de su capacidad de multiplicación en las células.

Pérdida de partículas virales debidas a la proliferación bacteriana y de hongos por almacenamiento prolongado de las muestras durante la fase de envío para estudio (más 5 días a temperatura no adecuada > 8 °C).

Muestras recolectadas fuera del tiempo de excreción viral (más de 14 días luego de la presentación de los síntomas en PFA o más de 5 días en otras enfermedades entero virales como meningitis) disminuyen la probabilidad de recuperación viral.

### **Interpretación de resultados**

Una muestra inoculada dos veces en células susceptibles a infección por Enterovirus, no exhibe ECP LUEGO DE 10 DIAS DE CULTIVO, se informa así. *“El intento de aislamiento viral en células de la muestra analizadas es negativo”*.

Cuando muestra inoculada en células susceptibles a infección por Enterovirus, exhibe ECP típico de virus lítico solo en células RD, se informa así. *“SE AISLO ENTEROVIRUS NO POLIO”*. Dependiendo del caso, a veces requiere identificación viral por prueba de Neutralización o RT-PCR y uno de los posibles resultados puede ser: *“Se aisló echovirus 30”*

Cuando una muestra inoculada en células susceptibles a infección por enterovirus, exhibe ECP típico de virus lítico en células RD y en L20b, requiere identificación por rt-pcr o rtpcr y puede reportarse como: *“se aisló poliovirus vacunal tipo 1, 2 ó 3, pendiente clasificación intratípica” / “se aisló poliovirus tipo 1, 2 ó 3 sabin-like” o “se aisló poliovirus derivado de vacuna tipo 2 (vdpv- 1, 2 ó 3)” / “se aisló virus no enterovirus”*.

### **Causa de rechazo o no procesamiento de las muestras.**

Toda muestra biológica debe ser embalada y transportada según normas IATA. Debe estar identificada de manera inequívoca, escrita en forma clara y en tinta indeleble, con nombre del paciente, tipo de muestra, tipo de análisis y fecha de la recolección de la muestra. Debe venir acompañada de un oficio de remisión, resumen de historia clínica del paciente y ficha de notificación del evento con TODOS los campos diligenciados. Las muestras diferentes a materia fecal recolectada oportunamente (dentro de los primeros 14 días luego de la parálisis), en cantidad menor a 1 gr, mal embaladas o en estado de

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 - 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400

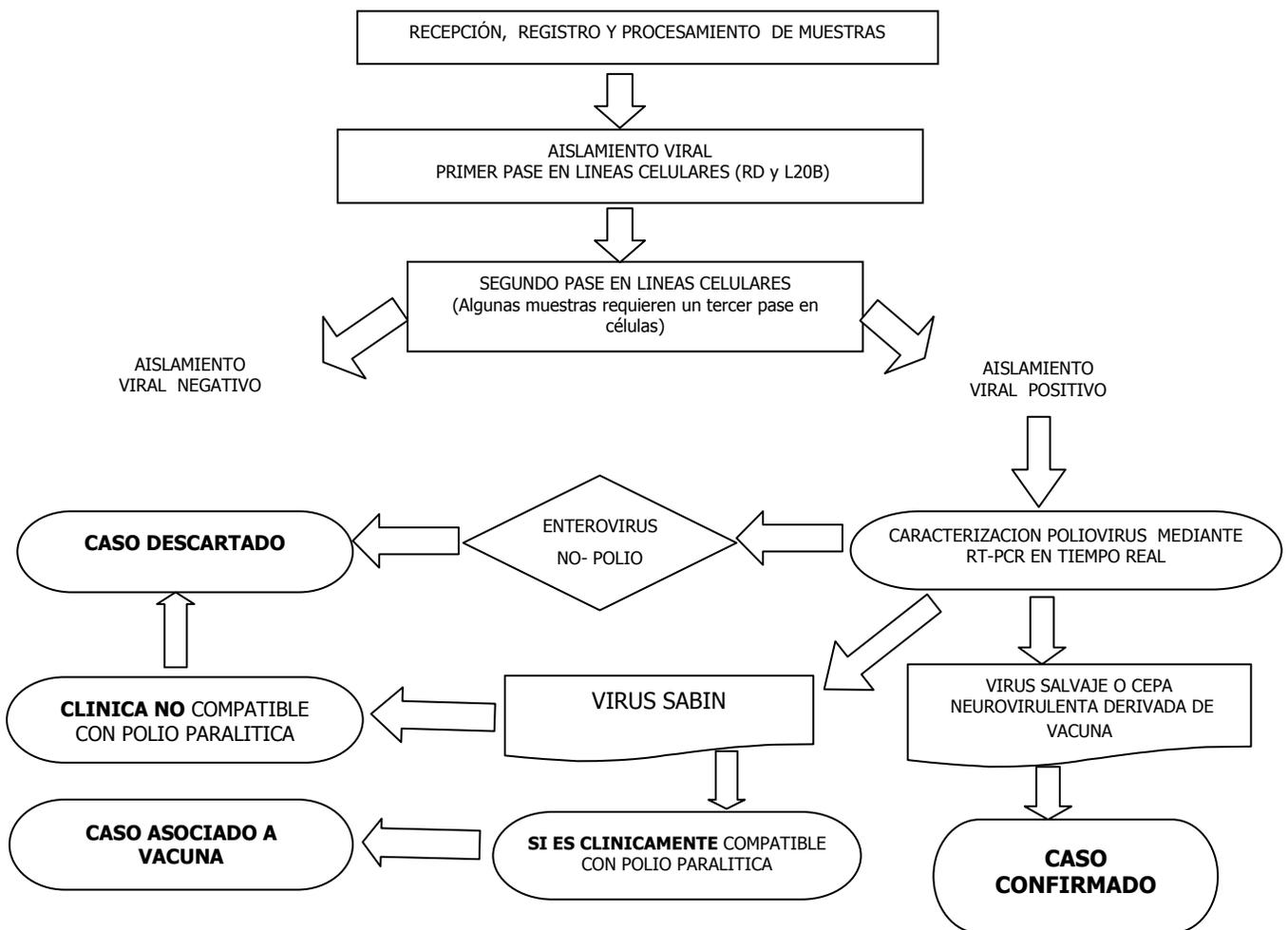


descomposición (con hongos, secas), no identificadas según recomendaciones, no serán procesadas en el laboratorio de polio/EV del INS.

### Informe de resultados

Según los lineamientos internacionales para el programa de vigilancia de parálisis flácida aguda (PFA), la emisión de los resultados se da dentro de los 14 días posteriores a la llegada de la muestra al INS.

Figura 3. Flujograma de diagnóstico por laboratorio de la parálisis flácida aguda



## CONTROL DE CALIDAD

Control de calidad interlaboratorial internacional

El Laboratorio de Polio/EV participa en dos programas de control de calidad internacional: el primero con el National Institute for biological Standard and Control (NIBSC) para la prueba de Asilamiento viral de Polio/EV en líneas celulares RD y L20B y el segundo con el Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA para las pruebas moleculares de rRT-PCR para ITD de polio y rRT-PCR para screening de VDPV.

Programa de Evaluación Externa del Desempeño Indirecta (PEEDDI)

No aplica, el laboratorio de Polio/EV del Grupo de Virología del INS, es el único laboratorio que realiza este diagnóstico en el país.

Programa de Evaluación Externa del Desempeño Directa o Prueba de Idoneidad en Virología (PIVI).

No aplica, el laboratorio de Polio/EV del Grupo de Virología del INS, es el único laboratorio que realiza este diagnóstico en el país.

## ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DEL EVENTO

### Estructura de la Red de Laboratorios para el Evento

La búsqueda de poliovirus en muestras fecales de los casos notificados al sistema de vigilancia epidemiológica –SIVIGILA- se realiza exclusivamente en el laboratorio de Polio/EV del grupo de Virología del INS. Las IPS públicas o privadas de II o III nivel captan los pacientes que se ajustan a la definición de caso de PFA según el protocolo de vigilancia de Parálisis Flácida Aguda del país, recolectan las muestras fecales, diligencian las fichas de notificación de evento, notifican al SIGVILA y remiten la documentación y las muestras biológicas a su respectivo Laboratorio de Salud Pública Departamental. En la ciudad de Bogotá, no se requiere enviar estas muestras a la Secretaria de Salud Distrital (SSD), las IPS pueden enviar directamente las muestras al Laboratorio de Polio/EV del grupo de Virología del INS. Los resultados son enviados por correo electrónico o vía fax a los LSPD o SSD, al referente de vigilancia del evento de la oficina de inmunoprevenibles de la Subdirección de Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública del INS, al coordinador de vigilancia municipal y al hospital remitente, cuando se dispone de dirección de correo electrónico.

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 – 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400



## **Funciones del laboratorio nacional de referencia (LNR) en el Instituto Nacional de Salud**

El Laboratorio de Polio/EV del Grupo de Virología del INS, es uno de los 46 laboratorios acreditados por OPS/OMS para la detección, identificación y caracterización de virus polio dentro de las funciones y la estrategia de vigilancia enmarcada dentro de la vigilancia por laboratorio del evento se encuentran:

Realizar el diagnóstico de las muestras fecales de todos los casos probables de polio reportados en el sistema de vigilancia (SIVIGILA).

Implementar las metodologías estandarizadas por los laboratorios internacionales de referencia según lineamientos de la Organización Panamericana de la Salud -OPS y la Organización Mundial de la Salud -OMS, en apoyo a la campaña de erradicación de la poliomielitis por poliovirus salvaje en el mundo.

Apoyar en el procesamiento de muestras a otros países de la región como El INS desde Venezuela, Perú, Ecuador y Costa Rica.

Realizar el análisis genómico de todos los aislamientos de poliovirus salvaje y VDPV con el fin de hacer el rastreo epidemiológico molecular.

## **Funciones de los Laboratorios de Salud Pública departamental –LSPD**

Los LSPD deben de recibir las muestras biológicas provenientes de las IPS y remitirlas lo antes posible al nivel central con la información y documentación requerida en el protocolo de vigilancia de las PFA siguiendo las instrucciones de embalaje de muestras infecciosas Clase 6.2 tipo B UN 3373. Ver *Manual para obtención y envío de muestras para análisis de eventos de interés en salud pública. ISBN 978-958-13-0145-4*

## **Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local según corresponda.**

Todo caso probable de polio debe ser investigado y notificado al SIVIGILA dentro de las 48 horas siguientes a su captación. Es el laboratorio de la institución municipal de salud público o privado (IPS) quien debe recolectar la muestra de materia fecal. Además, de acuerdo a su complejidad, es responsable de los exámenes paraclínicos requeridos para el diagnóstico del evento. Deberá remitir al paciente a una IPS de mayor complejidad, si así lo requiere y proceder a la autorización de exámenes de laboratorio (CH, fisicoquímico de LCR, estudio viral de polio/EV) y neurológicos (EMG, velocidad de conducción, RMN, valoración neurológica) para su diagnóstico.

**Av. Calle 26 No. 51-20, Bogotá, D.C., Colombia**

Conmutador: (1) 220 7700 Ext. 1703 - 1704

fax 220 7700 Ext. 1283 – 1269

e-mail: [contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co) Página web: [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

línea gratuita nacional: 018000 113 400



## Indicadores de evaluación

Desde 1992 se definieron indicadores para la vigilancia de las parálisis flácidas agudas que evalúan la gestión epidemiológica y de laboratorio dentro del Plan de Erradicación de Poliomiélitis por poliovirus salvaje en el mundo.

### Indicadores Epidemiológicos

Deben cumplirse por lo menos en un 80% para poder asegurar la certificación de erradicación de poliovirus salvaje y la no circulación de cepas neurovirulentas derivadas de vacuna VDPVs. Estos son:

Porcentaje (%) de muestras recolectadas dentro de los 14 días luego del inicio de los síntomas de PFA.

Porcentaje (%) de Unidades Notificadoras: Es de competencia de todos los actores de SGSSS la realización de las actividades en salud Pública. Mediante la ley 100 de 1993 se convierte a cada Institución Prestadora de Salud IPS sean públicas o privadas en unidades notificadoras que tienen la obligación de informar el registro positivo o negativo de enfermedades de notificación obligatoria como las PFA.

Porcentaje (%) casos investigados dentro de las 48 horas siguientes a su detección.

Tasa de Parálisis Flácida Aguda: este indicador no debe estar por debajo de 1/100.000 menores de 15 años.

### Indicadores de laboratorio.

Deben cumplirse por lo menos en un 80% para asegurar la no circulación de cepas de poliovirus salvaje y/o cepas neurovirulentas derivadas de vacuna.

Porcentaje (%) muestras de buena calidad: cantidad >5 g, temperatura de llegada al INS: 4-12°C, envase plástico, boca ancha y cierre hermético.

Porcentaje (%) de muestras que llegan oportunamente al INS: (< 4 días luego de la recolección).

Porcentaje (%) de resultados oportunos: <14 días.

Control de calidad externo > 90%

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parálisis Flácida Aguda. En línea:  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Par%C3%A1lisis\\_fl%C3%A1cida](http://es.wikipedia.org/wiki/Par%C3%A1lisis_fl%C3%A1cida)
2. [Acute Flaccid Paralysis](#). Alberta Government Health and Wellness. 2005. Public Health Notifiable Disease Management Guidelines.
3. Instituto Nacional de Salud, Colombia. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública. PRO-R02.028 Versión 01 2014 – Abr – 10 Página 1 de 33. En línea:  
<http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Paralisis%20Flacida%20aguda.pdf>
4. Enteroviruses, In Fields Virology. 5<sup>nd</sup> Edition. 2007. Chapter 25, Section 2, Vol. 1, Pg. 839- 894.
5. Poliomieltis. En línea: <http://es.wikipedia.org/wiki/Poliomieltis>.
6. Director announces campaign to eradicate poliomyelitis from the Americas by 1990. Bulletin Pan American Health Organization. 1985; 19:213-215.
7. Polio eradication initiative. Global Polio Eradication Initiative. En línea:  
<http://www.polioeradication.org/Polioandprevention/Thevirus.aspx>
8. Vaccine-derived polioviruses (VDPV). En línea:  
<http://www.polioeradication.org/Polioandprevention/Thevirus/Vaccinederivedpoliovirus.aspx>
9. Erradicación de la poliomieltis. Guía práctica. Tercera edición. Publicación Científica y Técnica No. 607. Organización Panamericana de la Salud. 2005  
Librería en línea: <http://publications.paho.org/product.php?productid=833>
10. Historia de la campaña de erradicación de poliovirus salvaje. En línea:  
<http://www.polioeradication.org/Polioandprevention/Historyofpolio.aspx>
11. Monitoreo de casos de Polio mielitis. En línea:  
<http://www.polioeradication.org/Dataandmonitoring/Poliothisweek.aspx>
12. Andrus J, Strebel P, de Quadros C, Olivé J. Risk of vaccine-associated paralytic poliomyelitis in Latin America, 1989-91. Bull World Health Organ. 1995; 73(1):33-40.
13. Vaccine-derived poliovirus (VDPV). En línea:  
<http://www.polioeradication.org/Polioandprevention/Thevirus/Vaccinederivedpoliovirus.aspx>
14. Polio News. En polio global eradication initiative. En línea:  
<http://www.polioeradication.org/Mediaroom/NewsletterPolioNews.aspx>.
15. Polio Laboratory Manual. Immunization, Vaccines and Biologicals. World Health Organization. 4<sup>th</sup> Edition. 2004.
16. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013–2014. WHO/HSE/GCR/2012.12. En línea:  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO\\_HSE\\_GCR\\_2012.12\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO_HSE_GCR_2012.12_eng.pdf)
17. Manual para obtención y envío de muestras para análisis de eventos de interés en salud Pública. Instituto Nacional de Salud. ISBN 978-958-13-0145-4. 2011.