

ALCANCES Y RESULTADOS DEL PLAN DE ERRADICACION DE LA POLIOMIELITIS EN ESPAÑA

(especial para SIIC © Derechos reservados)

La era posterior a la erradicación planteará nuevos desafíos, incluido un esfuerzo masivo para garantizar el confinamiento seguro de las reservas de laboratorio de poliovirus salvajes y, quizá lo más difícil de todo, la aplicación de una estrategia coordinada a escala mundial para suspender definitivamente la vacuna oral atenuada trivalente.

Autor:

Gloria Trallero Masó

Columnista Experta de SIIC

Institución:

Instituto De Salud Carlos III **Artículos publicados** por Gloria Trallero Masó

Coautores

Maria Cabrerizo Sanz* Ana Avellón Calvo*

Instituto De Salud Carlos III, Madrid, España*

Recepción del artículo

3 de junio, 2008

Aprobación

16 de julio, 2008

Primera edición

17 de diciembre, 2008

Resumen

El Laboratorio Nacional de Poliovirus coordina la Red Española de Vigilancia de Parálisis Flácida Aguda desde 1998 y se encarga de la caracterización de los poliovirus y otros enterovirus detectados, utilizando métodos de cultivo celular y moleculares. Durante el periodo 2004-2007 fueron evaluadas por la Red 31 871 muestras clínicas, de las que el 7% resultó positivo para enterovirus. De éstas, 655 (2%) correspondieron a 166 casos de parálisis flácida y sus contactos. Se detectaron 31 poliovirus, 12 de ellos vacunales, mientras que los otros 19 procedían de un caso importado de poliomiélitis posvacunal y sus contactos, y fueron caracterizados como poliovirus derivado de vacuna tipo 2. Respecto de los enterovirus no polio, igual que en años anteriores, el serotipo dominante fue Echovirus 30. España debe mantener la infraestructura creada con el Plan de Erradicación de la Poliomiélitis y continuar con la vigilancia e inmunización. También el Programa de Contención de los Poliovirus Salvajes en los Laboratorios debe seguir en activo para evitar reintroducciones accidentales. Las actividades que se realizan dentro de dicho plan han permitido detectar y caracterizar un poliovirus derivado de vacuna en un caso importado pero, además, contribuyen al estudio sistemático de las infecciones por enterovirus, mejorando los datos sobre su circulación y distribución.

Palabras clave

vigilancia de parálisis flácida aguda, enterovirus, caracterización de poliovirus

Abstract

The Spanish acute flaccid paralysis surveillance network is coordinated by the National Poliovirus Laboratory, which, since 1998, carries out polioviruses and other enteroviruses characterization by cell culture and molecular techniques. A total of 31 871 samples were studied between 2004-2007 and enteroviruses were detected in 7% of these. Of these samples, 2% (655) corresponded to 166 acute flaccid paralysis cases or their contacts. Polioviruses (31) were detected and 12 of these were Sabin-like, while the other 19 belong to an imported poliomyelitis case, all of which were characterised as vaccine derived poliovirus type 2. In relation to the non-polio enteroviruses, Echovirus 30 was, as in previous years, the dominant serotype. The laboratory network in Spain should actively continue to participate in maintaining the poliomyelitis eradication infrastructure, and should continue monitoring and vaccinating. In addition, the Laboratory Containment of Wild Poliovirus Plan should remain active to avoid the dissemination of wild poliovirus. A vaccine derived poliovirus type 2 from an imported case was completely characterised and the circulation of enteroviruses are now better known thanks to the all the activities that have been carried out.

Key words

acute flaccid paralysis surveillance, enteroviruses, polioviruses characterisation

ALCANCES Y RESULTADOS DEL PLAN DE ERRADICACION DE LA POLIOMIELITIS EN ESPAÑA

(especial para SIIC © Derechos reservados)

Introducción

La poliomiélitis es una infección causada por los poliovirus (PV) tipos 1, 2 o 3 (*Picornaviridae*, enterovirus (EV) humanos) que puede afectar de forma grave al sistema nervioso central, con destrucción de las neuronas motoras de la médula espinal y parálisis flácida aguda (PFA). Los tres serotipos pueden provocar parálisis, pero el PV1 lo hace con mayor frecuencia (es la causa de la mayoría de las epidemias) y el PV3 en menor medida. El tipo 2 está considerado actualmente como erradicado en todo el mundo. Además de los casos salvajes, la vacuna oral atenuada trivalente (VPO) puede, en ocasiones, ser origen de poliomiélitis. Los casos relacionados con la vacuna por lo general son producidos por los tipos

En mayo de 1988, en la reunión anual de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en Ginebra, se elaboró un plan de actuaciones para conseguir la erradicación de la poliomielitis en el mundo. Esas actuaciones fueron las siguientes: a) implantar un sistema de vigilancia eficaz de la PFA en menores de 15 años, para demostrar la interrupción de la circulación de PV salvaje; b) alcanzar y mantener altas coberturas de vacunación; c) organizar un sistema de vigilancia ambiental de EV; d) realizar estudios seroepidemiológicos que valorasen el estado inmunitario de la población frente al virus de la poliomielitis, y por último, e) la búsqueda y control de PV salvajes almacenados en los laboratorios. Estas cinco actuaciones se están llevando a cabo en España desde 1997.³⁻⁸

Entre 1988 y 2003, los esfuerzos realizados para conseguir la erradicación mundial lograron reducir el número de casos, de 350 000 a 1 189. Sin embargo, la epidemia iniciada en Nigeria en 2003 dio origen durante 2003-2005 a casos y brotes en países que previamente estaban libres de polio. Después de la diseminación internacional ocurrida durante 2003-2007, la polio endémica se mantiene en 2007 confinada en cuatro focos de cuatro países: Afganistán, India, Nigeria y Pakistán, habiéndose producido brotes de importados en ocho países (Angola, Chad, Myanmar, Nepal, Níger, República Democrática del Congo, Somalia y Sudán), lo cual da muestra de que cualquier país está en riesgo.⁹

En 1994, la región de la OMS de las Américas consiguió la certificación de circulación libre de PV,¹⁰ seguida en 2000 por la región de Pacífico¹¹ y, finalmente, la región Europea en 2002.¹²

Durante 2007 se han reducido los casos de polio en un 63% respecto de 2006, y los casos asociados a PV1, el serotipo más virulento, de los que quedan circulantes han disminuido un 84%. El PV2 salvaje se detectó por última vez en 1999, en India.¹³ En enero de 2008, la Asamblea Mundial de la Salud, tras valorar los importantes avances alcanzados durante 2007, enfatizó la necesidad de una acción internacional coordinada para minimizar el riesgo de reaparición de PV en la era poserradicación. Es por ello que la erradicación completa de la poliomielitis es un tema de importancia para los gobiernos de todos los países del mundo.

Este trabajo presenta los datos de vigilancia de PFA de los últimos cuatro años en comparación a los años anteriores, presentados en un trabajo previo,¹⁴ para comprobar si la obtención del certificado como libre de polio y el cambio de vacuna oral por inactivada en junio de 2004 han influido en los datos de vigilancia de parálisis flácida en España.

Métodos

a) Vigilancia del Plan de Erradicación de la Poliomielitis en España. En 1998 se constituyó en España la Red de Laboratorios para el Plan de Erradicación de la Poliomielitis en Vigilancia de PFA (RLPEP). Dicha red está constituida por nueve laboratorios distribuidos por todo el territorio nacional y es coordinada por el Laboratorio Nacional de PV (LNP).^{14,15} Desde 1999 hasta la actualidad, los sistemas de vigilancia se han visto reforzados por los datos de aislamientos y detección de EV en otros síndromes respiratorios o neurológicos, principalmente los aislamientos procedentes de brotes de meningitis aséptica aportados por la red al LNP.

b) La RLPEP realiza el estudio virológico en pacientes menores de 15 años que ingresan en el hospital con síndromes de PFA, según el protocolo establecido.⁷ Dicho protocolo recomienda el estudio virológico de dos muestras de heces separadas de 24 a 48 horas, dentro de los 14 días siguientes a la aparición del cuadro clínico. Además se deben estudiar los contactos de cada caso. Las muestras se inoculan en cultivos celulares (Hep2, RD y L20B) y se observa la aparición de efecto citopático durante un mínimo de 15 días. Todo efecto debe ser confirmado mediante técnicas de inmunofluorescencia que permitan además identificar los aislamientos como PV o EV no polio.

Adicionalmente, los laboratorios recogen y envían al LNP los datos de todos los EV aislados tanto de los casos de PFA como de otros síndromes.

c) Entre las responsabilidades del LNP se encuentran las de analizar todos los datos enviados y caracterizar los aislamientos; de acuerdo con las recomendaciones de la OMS (apartado 5.2 del Documento EUR/ICP/CMDS 030113) utiliza tanto los métodos tradicionales como nuevos métodos moleculares que permiten la confirmación de resultados y la detección y caracterización de PV y otros EV, incluso en muestras con cantidades que no son detectables por los cultivos celulares tradicionales, mediante las siguientes técnicas: 1) Identificación del serotipo de los EV no polio mediante técnicas de microneutralización usando las mezclas de antiseros de Melnick y/o tipificación molecular mediante la amplificación, secuenciación y estudio del extremo 3 del gen VP1.^{16,17}

2) Identificación del serotipo de los PV mediante dos metodologías diferentes: a) Inmunofluorescencia con un panel de cinco anticuerpos anti-PV1, anti-PV2, anti-PV3, anti-EV71 y EV genérico) (Chemicon, EE.UU.; Dako, Glostrup, Dinamarca); b) neutralización con antiseros policlonales combinados en cuatro grupos para identificar las mezclas de PV (*RIVM pools, National Institute of Public Health and the Environment, Países Bajos*).

3) Caracterización intratípica de PV para diferenciar las cepas vacunales de las salvajes mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) específica para PV vacunal.¹⁸

4) Técnicas complementarias en caso de PV vacunales asociados a casos de parálisis: a) identificación de PV derivados de vacuna, con una homología en el gen VP1 menor del 99% mediante la amplificación de dicho gen, secuenciación y estudio de la secuencia; b) identificación de mutaciones en la región 5 no codificante asociadas a neurovirulencia;¹⁹ c) determinación de la carga mediante un método comercial (*MutaReal EV real time RT-PCR Kit, Immunodiagnostik AG, Bensheim, Alemania*), y d) secuenciación completa del genoma mediante 10 PCR solapantes para búsquedas de recombinantes.

Resultados Actividad de los sistemas de vigilancia

El total de muestras estudiadas por la RLPEP durante los cuatro años es 31 871 (8.6%, heces, y 91.4%, líquido cefalorraquídeo y exudados faríngeos). Los síndromes estudiados se dividen en PFA (2%) y otros (98%). Entre estos últimos el síndrome dominante fue la meningitis aséptica. El 7% del total de muestras estudiadas presentaron aislamiento de EV. Los datos detallados por año se presentan en la Tabla 1.

Casos de PFA

En el estudio de los 166 casos de PFA declarados, el total muestras de casos y contactos estudiados fue 655 (el 87.3%, heces). La distribución de los casos de PFA a lo largo de los 4 años fue: 43 (2004), 44 (2005), 42 (2006), 37 (2007). En la Figura 1A se indica la distribución del número de muestras estudiadas, el número de positivos obtenido cada año y el rendimiento anual obtenido. El año 2005 fue el de mayor rendimiento (12%) en coincidencia con el mayor número de muestras estudiadas. El rendimiento medio de EV aislados de las muestras de PFA durante los 4 años fue del 7.7%.

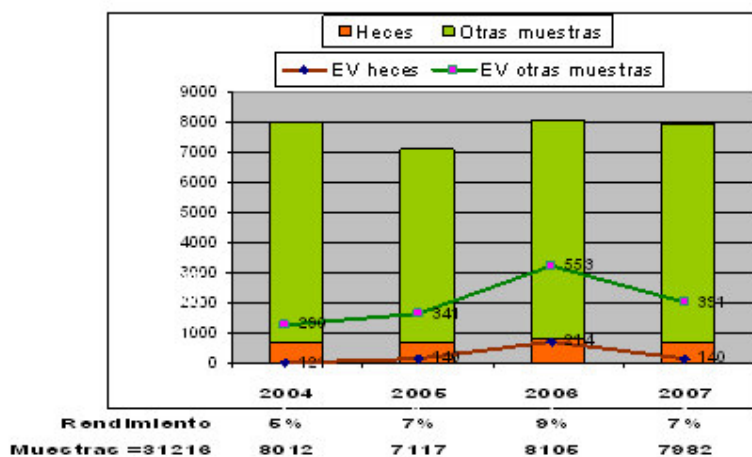
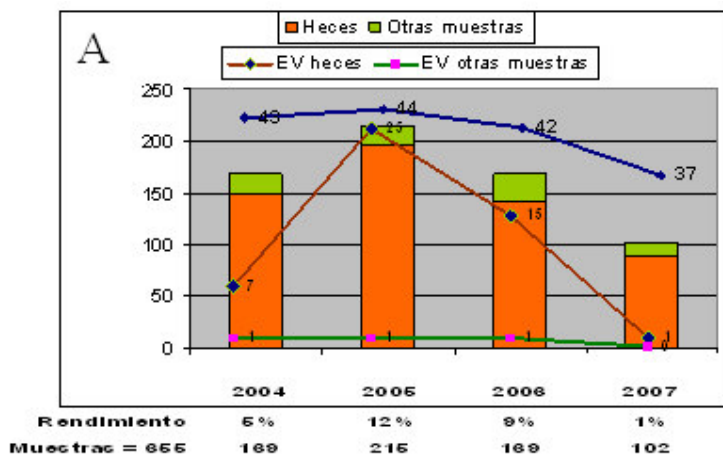


Figura.1

Figura 1. Resumen de la actividad de la Red de Laboratorios para el plan de Erradicación de la Poliomielit en la Vigilancia de Parálisis Flácida Aguda (A) y otros síndromes (B). Las líneas azules indican el número de casos de PFA por año. El gráfico de barras representa el número y tipo de muestras estudiadas. Las líneas anaranjadas indican los enterovirus obtenidos en heces, y las verdes, en otras muestras. En la parte inferior se detalla el número total de muestras estudiadas y el rendimiento anual en el aislamiento de enterovirus.

Otros síndromes

Se estudiaron 31 216 muestras, mayoritariamente de líquido cefalorraquídeo, procedentes de otros síndromes, principalmente meningitis aséptica (Figura 1B). En este tipo de síndromes también se obtuvo un 7% de EV.

Tipificación de EV no polio

El resumen de esta actividad se presenta en la Tabla 1. El año 2006 es el de mayor número de aislamientos caracterizados en el LNP con 474 EV no polio, coincidiendo con el mayor número de aislamientos obtenidos (9.4%). Echovirus 30, con el 29% de los aislamientos caracterizados, fue el más frecuente, al igual que en 2007. Destaca en 2004 Coxsackievirus B5 (18%) como serotipo dominante y en 2005 Echovirus 6, que fue también dominante en 2001.¹⁴

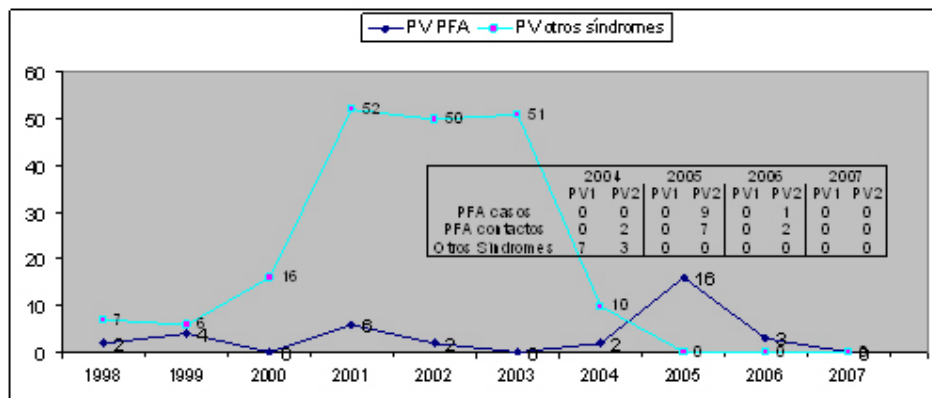


Figura.2

Figura 2. Se indican todos los poliovirus aislados desde 1998 a 2007. Las líneas azul oscuro indican el número de polios obtenidos por año en muestras de PFA (casos y contactos); las líneas azul claro representan los obtenidos en otros síndromes. En el cuadro se muestran en detalle los serotipos caracterizados por año en los cuatros años de este estudio, así como el número obtenido en muestras de PFA u otros síndromes.

Tipificación y caracterización intratípica de PV

En la Figura 2 se representan todos los PV aislados en los 10 años de vigilancia, tanto de casos de PFA como de otros síndromes,¹⁴ y se especifican los correspondientes a los cuatro años de este trabajo. El total de PV aislados durante los cuatro años es 31. En los primeros meses de 2004 se aislaron de otros síndromes distintos de PFA los últimos PV caracterizados como tipo Sabin (7 PV1 y 3 PV2).

En 2005 y 2006, todos los PV aislados correspondían a un caso de PFA en un niño marroquí de 14 meses de edad con inmunodeficiencia HLA II, que presentaba un cuadro de tetraparesia. El niño residió en Marruecos hasta los 6 meses de vida y allí recibió dos dosis de vacuna antiptiomielítica oral atenuada a los 2 y 4 meses. Los aislamientos se obtuvieron de 10 muestras de heces consecutivas del niño y de tres de sus contactos. El estudio virológico del caso por técnicas moleculares y de cultivos celulares demostró un PV2 que fue caracterizado como derivado de vacuna (iVDPV) al tener una homología en VP1 menor del 99% respecto de la cepa vacunal. La determinación de la carga viral fluctuó desde 10^9 a 10^6 copias ARN/ml en todas las muestras del caso y estuvo por debajo de 10^5 en los contactos. También se encontraron en todas las muestras positivas (caso y contactos) dos sitios no contiguos de recombinación con PV1 tipo Sabin en la zona no estructural del genoma. En la Figura 3 se representan todas las muestras analizadas procedentes del caso importado de poliomielitis posvacunal detectado en España en 2005, y de los contactos familiares positivos. Se presentan los resultados de tipificación molecular obtenidos en ellas, la variación del porcentaje de homología en la secuencia de nucleótidos con respecto a la cepa vacunal original en el gen que codifica la proteína de la cápside VP1 y los valores de carga viral en las muestras de heces del caso.²⁰

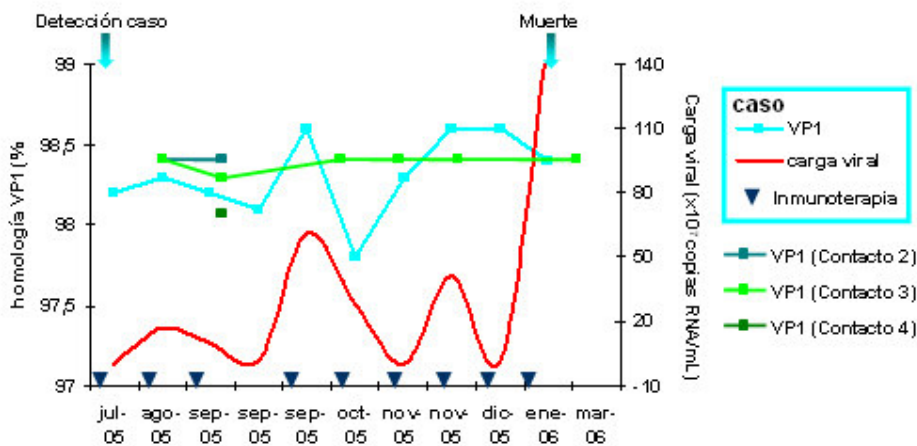
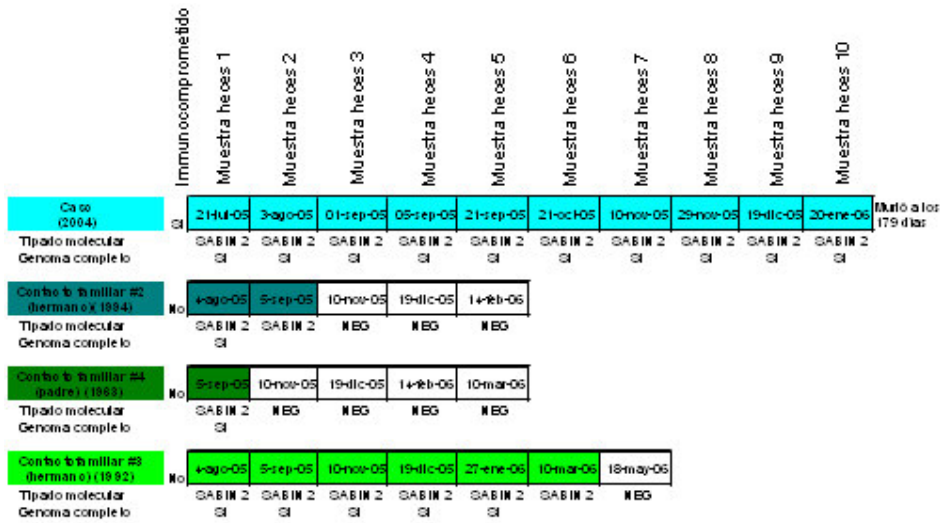


Figura.3

Figura 3. Esquema con todas las muestras analizadas procedentes del caso importado de poliomielitis posvacunal detectado en España en 2005, y de sus contactos familiares positivos, y los resultados de tipificación molecular obtenidos en ellas. La gráfica muestra la variación con el tiempo del porcentaje de homología en la secuencia de nucleótidos con respecto a la cepa vacunal original en el gen que codifica la proteína de la cápside VP1, tanto en el caso (línea azul) como en los contactos (líneas verdes). También se indican los valores de carga viral en las muestras de heces del caso (línea roja) y el momento en que recibió cada uno de los tratamientos con inmunoglobulina (flecha azul).

Desde 2007 no se ha obtenido ningún PV, dato que está en concordancia con el uso de vacuna inactivada.

Discusión

La actividad de la RLPEP en estos cuatro años ha sido muy similar a los seis años previos, aunque los EV se han obtenido en menor proporción: 7% frente a 9% de los años anteriores.¹⁴ El año 2006 destaca como el de mayor circulación y el de mayor actividad.

Las actividades del Plan de Erradicación de la Poliomielitis han permitido estudiar sistemáticamente las infecciones por EV, lo que permitió mejorar los datos sobre su circulación.^{14,21} En este período se mantiene Echovirus 30 como el más frecuentemente caracterizado, seguido de Echovirus 6, también presente en años anteriores, y Coxsackievirus B5, que aparece como más frecuente por primera vez en 2004.

Por otra parte, respecto del aislamiento de PV, se ha producido una drástica disminución, al pasar de 196 en 1998-2003 a 31 en 2004-2007; esto se explica por el cambio de VPO a VPI, ya que la mayoría de los PV obtenidos en la etapa anterior habían sido aislamientos casuales en niños recientemente vacunados que presentaban síntomas respiratorios o febriles.¹⁴ En el período de este trabajo destaca el estudio del caso importado de poliomielitis posvacunal detectado en España en 2005 en un niño marroquí. Se caracterizó en 19 muestras (10 del caso y 9 de tres contactos) el mismo virus PV2 derivado de vacuna con dos sitios de recombinación con PV1 en la zona no estructural del genoma.²⁰

Se conocen dos tipos de PV derivados de la vacuna: el iVDPV (i de inmunodeficiente), aislado en personas con deficiencia inmunitaria, y el cVDPV (c de circulante), que ha sido aislado en brotes y ha mostrado tener las mismas características epidemiológicas y biológicas de los virus salvajes.

mutado en más de 1% respecto de la cepa original Sabin (VDPV) y que ha revertido a la neurovirulencia. Estos brotes han demostrado que la reversión del virus vacunal hacia la neurovirulencia es una amenaza constante si los países no garantizan coberturas de vacunación adecuadas; que la vigilancia de las parálisis flácidas se debe mantener en un nivel óptimo durante la erradicación y después de lograda ésta, y que las estrategias de vacunación que se usaron durante la erradicación siguen siendo válidas.²

En España, desde la certificación por la OMS de la Región Europea "libre de polio" (junio de 2002), es difícil mantener la sensibilidad del sistema de vigilancia de parálisis flácida, dada la ausencia de casos de polio salvaje desde 1988, lo que puede hacer creer que ya no hay riesgo de dicha enfermedad. Sin embargo, hasta que la poliomielitis no sea erradicada en todo el mundo, existe un riesgo de importación de PV que no se puede menospreciar. España es un país que puede ser considerado de riesgo para la importación por el flujo constante de personas a través de sus fronteras, el aumento creciente de población inmigrante procedente de países con diferentes niveles de cobertura vacunal, así como el aumento de situaciones que favorecen la aparición de la enfermedad (inmunodeficiencias). Por eso es muy importante que el sistema de vigilancia se mantenga activo y alerta manteniendo el elevado nivel de calidad requerido ante la posibilidad de importación de PV salvajes o derivados de vacuna procedentes de países endémicos o de países en los que aún se vacuna con la VPO. Puesto que en junio de 2004 en nuestro país se cambió la política de vacunación, pasando de VPO a VPI, cualquier aislamiento de PV debe ser considerado como sospechoso de ser un PV salvaje o derivado de vacuna y ser caracterizado en profundidad, así como ha ocurrido con el caso de 2005. En esa oportunidad, gracias a las altas coberturas de vacunación y al correcto funcionamiento de la red de vigilancia se pudo controlar el caso y no se propagó a la comunidad.

Todos los procedimientos establecidos dentro del Programa de Erradicación de la Poliomielitis deben continuar en todas las regiones hasta que se consiga la interrupción a nivel mundial de todos los PV salvajes y así evitar su introducción en regiones libres de polio. Entre los desafíos pendientes con respecto a la conquista de un mundo libre de poliomielitis figuran los siguientes: 1) la superación a corto plazo de los obstáculos que aún impiden la inmunización de todos los niños y niñas de las regiones de Afganistán, India, Nigeria y Pakistán, donde la enfermedad es endémica; 2) lograr la disponibilidad a corto plazo de todos los recursos financieros necesarios para ejecutar plenamente las estrategias de eliminación de la poliomielitis; 3) responder rápidamente ante los brotes de la enfermedad que puedan producirse en los países reinfectados y reducir al mínimo posible los riesgos y las consecuencias de una potencial propagación internacional; 4) aumentar la cobertura de vacunación contra la poliomielitis mediante la prestación de servicios sistemáticos de vacunación.

La era posterior a la erradicación planteará nuevos desafíos, incluido un esfuerzo masivo para garantizar el confinamiento seguro de las reservas de laboratorio de PV salvajes y, quizá lo más difícil de todo, la aplicación de una estrategia coordinada a escala mundial para suspender definitivamente la vacunación con la VPO. Dado el riesgo poco frecuente, pero real, de poliomielitis paralítica asociada a la vacuna, puede que sea necesario dejar de utilizar las cepas actuales de VPO poco después de certificar la erradicación. Las investigaciones en curso determinarán si se necesitará alguna vacuna en la era posterior a la erradicación.²²⁻²⁷

Conclusión

España debe mantener la infraestructura creada en el Plan de la Erradicación de la Poliomielitis y continuar con la vigilancia y la inmunización. Además, es muy importante que siga en activo el programa de la contención de los PV salvajes en los laboratorios para prevenir la reintroducción accidental de PV salvajes desde el laboratorio.^{8,28,29} Las actividades del Plan de Erradicación de la Poliomielitis han permitido estudiar sistemáticamente las infecciones por EV, así como mejorar los datos sobre su circulación y también detectar y caracterizar en su totalidad un PV derivado de vacuna en un caso importado de poliomielitis posvacunal.^{14,20,21}

Las autoras no manifiestan conflictos de intereses.

Clasificación en siicsalud

[Artículos originales](#) > [Expertos de Iberoamérica](#) >

página www.siicsalud.com/des/expertocompleto.php/97336

Especialidades

▶ *Principal:* [Infectología](#), [Neurología](#)

▶ *Relacionadas:* [Bioquímica](#), [Diagnóstico por Laboratorio](#), [Epidemiología](#), [Inmunología](#), [Pediatría](#), [Salud Pública](#)

▶Enviar correspondencia a:

Gloria Trallero Masó, Instituto De Salud Carlos III Centro Nacional de Microbiología, 28220, Madrid, España

- ▶ **Bibliografía del artículo**
1. Strebel PM, Sutter RW, Cochi SL y col. Epidemiology of poliomyelitis in the United States one decade after the last reported case of indigenous wild virus associated disease. Clin Infect Dis 14:568-79.
 2. Kew OM, Sutter RW, De Gourville EM, Dowdle WR, Pallansch MA. Vaccine-derived PVes and the endgame strategy for global polio eradication. Annu Rev Microbiol 59:587-635, 2005.
 3. Henderson RH. The World Health Organization's plan of action for global eradication of poliomyelitis by the year 2000. Ann NY Acad Sci 569:69-85, 1989.
 4. Laboratory support for poliomyelitis eradication: Memorandum from a WHO meeting. Bull World Health Organ 67:365-7, 1989.

6. Erradicación de la poliomielitis: Informe de la 1ª reunión de la Comisión regional Europea de certificación de la erradicación de la poliomielitis, París, 7-8 de marzo 1996.
 7. Ministerio de Sanidad y Consumo. Plan de actuaciones necesarias para la consecución del certificado de erradicación de la poliomielitis. Junio 1997.
 8. Avellón A, Trallero G, Merino B, Pachón I, Sanz C, Pérez-Breña P, Coordinadores Autonómicos responsables del Plan de Contención de PV salvaje en los laboratorios españoles. Erradicación de la poliomielitis. Búsqueda y control de PV salvajes almacenados en los laboratorios españoles. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 22(2):77-82, 2004.
 9. WHO. Poliomielitis outbreak escalates in the Sudan. *Wkly Epidemiol Rec* 80:2-3, 2005.
 10. Cent. Dis. Control Prevent Certification of poliomielitis eradication- the Americas, 1994. *Morbid Mortal Wkly Rep* 43:720-22, 1994.
 11. Cent. Dis. Control Prevent. Certification of poliomielitis eradication- Western Pacific Region, October 2000. *Morbid Mortal Wkly Rep* 50.1-3, 2001.
 12. Cent. Dis. Control Prevent. Certification of poliomielitis eradication- European Region, June 2002. *Morbid Mortal Wkly Rep* 51:572-574, 2002.
 13. WHO. Transmisión de wild PV type 2: apparent global interruption. *Wkly Epidemiol Rec* 76:95-97, 2001.
 14. Trallero G, Avellón A, Otero A y col. Laboratory Network within the Polio Eradication Initiative (1998-2003): six years of surveillance for acute flaccid paralysis in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24(3):167-72, 2006.
 15. Ministerio de Sanidad y Consumo. Plan de actuaciones necesarias para la consecución del certificado de erradicación de la poliomielitis. Versión noviembre 1998.
 16. Melnick JL, Wimberly IL. Lyophilised combination pools of EV equine antiserum New LBM pools prepared from reserves of antiserum stored frozen for two decades. *Bull WHO* 63:543-550, 1985.
 17. Casas I, Palacios GF, Trallero G, Cisterna D, Freire MC, Tenorio A. Molecular characterization of human EVs in clinical samples: comparison between VP2, VP1, and RNA polymerase regions using RT nested PCR assays and direct sequencing of products. *J Med Virol* 65(1):138-48, 2001.
 18. Yang CF, De L, Holloway BP, Pallansch MA, Kew OM. Detection and identification of vaccine-related PVes by the polymerase chain reaction. *Virus Res* 20(2):159-79, 1991.
 19. Kew O, Morris-Glasgow V, Landaverde M y col. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived PV. *Science* 296(5566):356-9, 2002.
 20. Avellón A, Cabrerizo M, De Miguel T y col. Paralysis case and contact spreading of an imported recombinant vaccine-derived PV in Spain. *Emerging Infectious Diseases*, submitted.
 21. Trallero G, Casas I, Tenorio A, Echevarría JE, Castellanos A, Lozano A, Brena PP. EVs in Spain: virological and epidemiological studies over 10 years (1988-97). *Epidemiol Infect* 124(3):497-506, 2000.
 22. Aylward RB, Hull HF, Cochi SL, Sutter RW, Olive JM, Melgaard B. Disease eradication as a public health strategy: a case study of poliomyelitis eradication. *Bull World Health Organ* 78(3):285-97, 2000.
 23. Agol VI, Chumakov K, Ehrenfeld E and Wimmer E. Don't drop current vaccine until we have new ones. *Nature* 435:881, 2005.
 24. Dowdle WR, De Gourville E, Kew OM, Pallansch MA, Wood DJ. Polio eradication: the VPO paradox. *Rev Med Virol* 13:277-91, 2003.
 25. Mueller S, Papamichail D, Coleman JR, Skiena S, Wimmer E. Reduction of the rate of PV protein synthesis through large-scale codon deoptimization causes attenuation of viral virulence by lowering specific infectivity. *J Virol* 80:9687-96, 2006.
 26. Macadam AJ, Ferguson G, Stone DM, et al. Rational design of genetically stable, live-attenuated PV vaccines of all three serotypes: relevance to poliomyelitis eradication. *J Virol* 80:8653-63, 2006.
 27. Vignuzzi M, Wendt E, Andino R. Engineering attenuated virus vaccines by controlling replication fidelity. *Nat Med* 14:154-61, 2008.
 28. World Health Organization proposed global action plan and timetable for safe handling and maximum laboratory containment of wild PVes and potentially infectious materials, 1998.
 29. Dowdle WR, Wolff C, Sanders R, Lambert S, Best M. Will containment of wild PV in laboratories and inactivated PV vaccine production sites be effective for global certification? *Bull World Health Organ* 82(1):59-62, 2004.
- Artículos publicados por el autor (selección):**
- Cabrerizo M, Echevarría JE, González I, De Miguel T, Trallero G. Molecular epidemiological study of HEV-B enteroviruses involved in the increase in meningitis cases occurred in Spain during 2006. *J. Med. Virol.* 80(80):1018-24, 2008
- Reina-González G, Pérez-Ruiz M, Avellón A, Trallero G, Otero A, De la Rosa-Fraile M, Jiménez-Valera M, Navarro-Marí JM. Enterovirus 75, a new pathogenic virus in Granada province. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 25(25):566-9, 2007
- Avellón A, Rubio G, Palacios G, Casas I, Rabella N, Reina G, Pérez C, Lipkin WI, Trallero G. Enterovirus 75 and aseptic meningitis, Spain, 2005. *Emerg Infect Dis* 12(12):1609-1611, 2006
- Trallero G, Avellón A, Otero A, De Miguel T, Alonso M, Pérez-Breña P. Red de laboratorios de vigilancia de parálisis flácida aguda. Laboratory Network within the Polio Eradication Initiative (1998-2003): six years of surveillance for acute flaccid paralysis in Spain. *Enferm Infecc Micr Cl.* 24(24):167-72, 2006
- Avellón A, Trallero G, Merino B, Pachón I, Sanz C, Pérez-Breña P. Erradicación de la poliomielitis. Búsqueda y control de poliovirus salvajes almacenados en los laboratorios españoles. *Enferm Infecc Micr Cl* 22(22):77-82, 2004
- Trallero G, Casas I, Avellón A, Pérez C, Tenorio A, De la Loma A. First epidemic of aseptic meningitis due to echovirus type 13 among Spanish children. *Epidemiol Infect* 130:251-256, 2003
- Avellón A, Casas I, Trallero G, Pérez C, Tenorio A, Palacios G. Molecular analysis of echovirus 13 isolates and aseptic meningitis, Spain. *Emerg Infect Dis* 9(9):934-941, 2003
- Pérez C, Pena MJ, Molina L, Trallero G, García A, Alamo F, Lafarga B. Epidemic outbreak of meningitis due to Echovirus type 13 on the island of Gran Canaria (Spain). *Enferm Infecc Micr Cl* 21(21):21-27, 2003
- La Loma A, Trallero G, Ory F, Tenorio A, Sanz M, Echevarría JM. Lymphocytic meningitis in Spain: a possible epidemic situation in 2000. *Med Clin (Barc).* 118(118):694-695, 2002