

Erradicación de la poliomielitis. Búsqueda y control de poliovirus salvajes almacenados en los laboratorios españoles

Ana Avellón^a, Gloria Trallero^a, Begoña Merino^b, Isabel Pachón^b, Carmen Sanz^c, Pilar Pérez-Breña^a y Coordinadores Autonómicos responsables del Plan de Contención de Poliovirus salvaje en los laboratorios españoles*

^aLaboratorio Nacional de Poliovirus. Servicio de Virología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

^bMinisterio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública y Consumo. Subdirección General de Promoción de la Salud y Epidemiología. ^cCentro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

*Andalucía: Virtudes Gallardo; Aragón: Oliva Ladrero; Asturias: Mario Margolles; Baleares: Antonia Galmes; Canarias: Araceli Alemán; Cantabria: Francisco Martínez; Castilla y León: Henar Marcos; Castilla-La Mancha: Gonzalo Gutiérrez; Cataluña: Ángela Domínguez; Valencia: Silvia Guiral; Extremadura: Julián Mauro Ramos; Galicia: Alberto Malvar; Madrid: Juan García; Murcia: Eva Martín; Navarra: Aurelio Barricarte; País Vasco: José María Arteagoitia; La Rioja: Caridad Garjito; Ceuta: Francisco Javier Carrillo; Melilla: Gloria Duque.

INTRODUCCIÓN. La erradicación mundial de la poliomielitis se planteó como objetivo en 1988. Desde ese momento los esfuerzos por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) fueron encaminados a alcanzar y mantener una alta cobertura de inmunización e implantar sistemas eficaces de vigilancia. Por otra parte, a partir de 1998 la OMS instó a los países a localizar y controlar todos los poliovirus salvajes almacenados en los laboratorios, así como los materiales que pudieran contenerlos o ser origen de los mismos, en condiciones determinadas.

MÉTODOS. En España se inició el Plan de Contención de Poliovirus Salvajes en los laboratorios en 1999 con el diseño de un modelo de encuesta y el envío de la misma a todos los laboratorios del país, previamente inventariados. Se analizaron las encuestas recibidas.

RESULTADOS. Se encuestaron un total de 3.209 laboratorios localizándose 10 con materiales infecciosos o potencialmente infecciosos con poliovirus salvaje. Sus responsables fueron informados del Plan de Contención, solicitándoles inicialmente la destrucción de los materiales bajo condiciones adecuadas. En los casos en que los poliovirus salvajes no fueron destruidos, los laboratorios adoptaron medidas de bioseguridad BSL2/polio.

CONCLUSIÓN. El proceso de búsqueda, a pesar de su complejidad, se desarrolló dentro de los plazos sugeridos por la OMS gracias a la implicación de las autoridades sanitarias de las Comunidades Autónomas. España presentó sus resultados a la Comisión Regional de Certificación de la OMS en Mayo del 2002.

Palabras clave: Poliovirus. Poliomielitis. Contención en Laboratorios. Erradicación.

Poliomyelitis eradication initiative. Search and control of wild poliovirus stored at Spanish laboratories

INTRODUCTION. An initiative to achieve global eradication of poliomyelitis was proposed in 1988. Since then, World Health Organization (WHO) efforts have been focused on reaching and maintaining high vaccination coverage and on implementing effective surveillance systems. Additionally, since 1998 the WHO has urged health authorities from countries over the world to locate and control the wild polioviruses stored in laboratories as well as potentially infectious materials that could contain these viruses or originate them under particular circumstances.

METHODS. In Spain the Wild Poliovirus Containment Plan was initiated in 1999. All Spanish laboratories were inventoried and a specially designed questionnaire was distributed to them. The responses were analyzed.

RESULTS. A total of 3209 laboratories were surveyed and 10 of them were found to contain infectious or potentially infectious material with wild poliovirus. The heads of these laboratories were informed about the Containment Plan and were requested to destroy this material under proper conditions. The laboratories that did not destroy the viruses adopted the BSL2/polio bio-safety measures.

CONCLUSION. Despite its complexity, the search process was completed within the schedule established by the WHO, thanks to the efforts of health authorities from the Autonomous Communities. Spain reported its results to the WHO Regional Commission for the Certification of Poliomyelitis Eradication in May 2002.

Key words: Poliovirus. Poliomyelitis. Containment Plan. Eradication.

Introducción

Los poliovirus son virus pertenecientes al grupo de los enterovirus humanos (género Enterovirus, familia Picornaviridae). Las infecciones por los Poliovirus tipos 1,

Correspondencia: Dra. A. Avellón/Dra. P. Pérez-Breña. Laboratorio Nacional de Poliovirus. Servicio de Virología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ctra. de Majadahonda a Pozuelo, km 2. 28220 Majadahonda. Madrid. España. Correo electrónico: aavellon@isciii.es; pperez@isciii.es

Manuscrito recibido el 29-4-2003; aceptado el 4-6-2003.

TABLA 1. Definiciones y ejemplos de materiales infecciosos por poliovirus salvajes

Materiales clínicos infecciosos

Todos los materiales clínicos y de investigación provenientes de casos confirmados o supuestos de poliomiélitis por poliovirus salvaje* o PVDV**

Materiales infecciosos de investigación

Todos los derivados de poliovirus (ARN o ADNc completo) producidos en el laboratorio que contengan secuencias de cápside derivadas de poliovirus salvajes o PVDV
Células infectadas de manera persistente con cepas de poliovirus cuyas secuencias de cápside se deriven de poliovirus salvajes o PVDV

Animales infecciosos

Cualquier animal de experimentación infectado con una cepa que contenga secuencias de cápside derivadas de un poliovirus salvaje o PVDV, especialmente los ratones transgénicos CD155 infectados con poliovirus salvajes
Muestras de animales de laboratorio infectados con poliovirus salvajes o PVDV (primates no humanos, ratones transgénicos, etc.)

Materiales ambientales infecciosos

Aguas residuales o muestras de aguas que se sepa o se sospeche contengan poliovirus salvajes o PVDV

*Cepas prototipo usadas como controles, aislados, paneles de muestras de control de calidad, semillas para vacunas inactivadas.

**Poliovirus de origen vacunal que difieren de las cepas vacunales de referencia en más de un 1%, considerando el gen de la proteína mayoritaria de la cápside VP1.

TABLA 2. Definiciones y ejemplos de materiales potencialmente infecciosos por poliovirus salvajes

Materiales clínicos y muestras ambientales

Recogidas con cualquier fin en un momento y en un área geográfica donde se sepa o se sospeche la presencia de poliovirus salvaje o PVDV, concretamente:
Heces, frotis faríngeos
Biopsias y necropsias (no fijadas): nódulos linfáticos, tejido cerebral o de médula espinal
Aguas residuales ambientales y muestras de aguas no tratadas

Productos de laboratorio

Análogos a enterovirus no tipificados, aislados de cultivo celular, aislados de poliovirus no diferenciados

Condiciones que excluyen a los materiales como potencialmente infecciosos

Materiales clínicos almacenados sin refrigeración durante 3 meses o más o refrigerados a 4 °C durante un año o más (los materiales congelados SON potencialmente infecciosos)
Materiales termoinactivados a 50 °C
Materiales tratados con un desinfectante conocido que inactive los poliovirus
Sí inactivan poliovirus: formaldehído al 3%, 1N HCL, cloro residual a 0,3-0,5 ppm
No inactivan poliovirus: alcohol al 70%, lysol al 5%, compuestos de amonio cuaternario, éter, desoxicolato
Materiales comprobados y encontrados negativos para la presencia de enterovirus mediante: cultivo celular o amplificación genética (PCR)

(OMS) en Ginebra²⁻³. Desde ese momento, los esfuerzos por parte de la OMS se encaminaron a alcanzar y mantener una alta cobertura de inmunización e implantar sistemas eficaces de vigilancia. Fundamentalmente, la demostración de la interrupción de la circulación de poliovirus salvaje se evidencia mediante la correcta investigación virológica de los casos de parálisis flácida aguda (PFA) en menores de 15 años. Por otra parte, la caracterización de todos los enterovirus aislados de cualquier otro síndrome, constituye otra modalidad de vigilancia adicional de gran importancia.

En el año 2002 sólo 7 países declararon casos de poliomiélitis⁴, constituyendo el 90% de los mismos los casos declarados por India, Pakistán y Nigeria. Además, tres regiones de las establecidas por la OMS (América, Europa y la Región del Pacífico oeste) se han certificado ya como libres de poliovirus salvaje. La Región Europea, en la que está incluida España, ha sido la más recientemente certificada por la OMS como libre de poliovirus salvaje en junio de 2002.

Otro de los aspectos cruciales en el proceso de erradicación lo constituye la búsqueda de poliovirus salvajes almacenados en los laboratorios que pudieran ser reintroducidos accidental o intencionadamente en la población. Por eso, a partir de 1998, la OMS instó a los países a localizar y controlar todos estos materiales, así como aquellas muestras de origen ambiental o humano que pudieran contener poliovirus salvaje y dar lugar a virus infeccioso en condiciones determinadas⁵. Además, recientemente se ha considerado la necesidad de ampliar el proceso de contención a los poliovirus derivados de vacuna (PVDV), que son aquellos poliovirus de origen vacunal que difieren de las cepas vacunales de referencia en más del 1%, considerando el gen de la proteína mayoritaria de la cápside VP1^{6,7}. Las definiciones detalladas de los materiales anteriormente citados se recogen en las tablas 1 y 2. Si bien la probabilidad de que se produzca una infección por poliovirus asociada a un laboratorio es reducida, la gravedad de las consecuencias de la reintroducción de virus en la población irá en aumento a medida que transcurra el tiempo desde que la transmisión de poliovirus se haya interrumpido y se prescinda de la vacunación. Por eso, las medidas de bioseguridad en los laboratorios que decidan almacenar estos materiales, deben adecuarse al proceso de erradicación, exigiéndose en el momento actual nivel BSL2/polio y posteriormente BSL3/polio (tabla 3).

En España, el Plan de Contención comenzó a desarrollarse en 1999, mediante la elaboración y envío de una encuesta a todos los laboratorios del país, previamente inventariados. En ella, se tuvieron en cuenta no sólo los laboratorios de virología, sino también otros laboratorios ajenos o no al sector sanitario que pudieran tener poliovirus salvaje y/o materiales potencialmente infecciosos. Entre estos laboratorios estarían los dedicados a diagnóstico, estudios medioambientales, industria, investigación o enseñanza. Todo el proceso se ha ido desarrollando hasta la actualidad satisfactoriamente y dentro de los plazos sugeridos por la OMS, gracias a la colaboración de los coordinadores autonómicos y de los responsables de todos los laboratorios encuestados. España es uno de los 76 países que ya ha completado el proceso de búsqueda⁸, y ha presentado sus resultados a la Comisión Regional de Certificación de la OMS en mayo del 2002.

El presente trabajo detalla la metodología seguida en la realización de la encuesta de laboratorios, los resultados de

2 o 3 pueden ser asintomáticas o provocar distintos síndromes clínicos, siendo el más característico la poliomiélitis paralítica¹. La erradicación mundial de la poliomiélitis se planteó como objetivo en mayo de 1988 en la reunión anual de la Organización Mundial de la Salud

TABLA 3. Normas de seguridad biológica correspondientes a los niveles BSL2/polio y BSL3/polio

	BSL2/polio	BSL3/polio
1. Práctica de técnicas microbiológicas adecuadas	X	X
2. La instalación cumple las normas de un laboratorio básico BSL-2:	X	X
– Se dispone de autoclaves preferentemente en el mismo edificio del laboratorio		
– El acceso a los laboratorios está restringido		
– El espacio dedicado al almacenamiento es adecuado para los suministros de uso inmediato		
– Cada sala del laboratorio tiene lavabos para lavarse las manos, de preferencia cerca de la puerta		
– Fuera de las áreas de trabajo existen instalaciones para almacenar las prendas de vestir externas y los efectos personales que el personal utiliza para comer y beber		
– Se dispone de suministro de agua fiable de buena calidad. No hay conexiones cruzadas entre las fuentes de suministro del agua del laboratorio y el agua potable		
– Se dispone de cabinas de seguridad biológica para procedimientos con un potencial elevado de producción de aerosoles, incluidos la centrifugación, triturado, combinación, agitado o mezcla energéticos, la separación sónica y la apertura de contenedores de materiales infecciosos cuya presión interna pueda ser diferente de la presión ambiente, y la manipulación de altas concentraciones o grandes volúmenes de materiales infecciosos		
– Se dispone de máquinas centrífugas con anillos exteriores o abrazaderas de seguridad para centrifugar altas concentraciones o grandes volúmenes de materiales infecciosos en el laboratorio abierto. Estos anillos exteriores o abrazaderas se cargan y descargan en una cabina de seguridad biológica		
– Se dispone de tubos y botellas con tapones roscados para contener las muestras y cultivos positivos. Es deseable disponer de un generador autónomo como apoyo del equipo esencial, por ejemplo, incubadoras, cabinas de seguridad biológica, congeladores y similares		
3. Personal completamente inmunizado frente a la poliomielitis, con control de anticuerpos	X	X
4. Se interrumpe el empleo de poliovirus salvajes cuando los poliovirus de vacuna atenuados, los antígenos inactivados o los enterovirus no poliomielíticos puedan servir para las mismas finalidades, por ejemplo, como virus de prueba en los ensayos de anticuerpos neutralizantes	X	X
5. Todos los poliovirus y materiales potencialmente infecciosos se eliminan cuando no se precise su retención para necesidades de programa o investigación	X	X
6. Se aplica un sistema de control interno para todos los poliovirus salvajes contenidos en el laboratorio (inventario actualizado y mantenimiento de registros adecuados)	X	X
7. Los poliovirus salvajes se almacenan en áreas seguras separadas cuyo acceso está limitado	X	X
8. Solamente los virus que sean fácilmente identificables por métodos moleculares se utilizan si se necesitan cepas de referencia de virus salvajes	X	X
9. Se realizan una esterilización e incineración adecuadas cuando se eliminan los poliovirus salvajes, los materiales infecciosos y los materiales potencialmente infecciosos	X	X
10. Dentro del laboratorio la zona de manejo de poliovirus está separada del resto		X
11. Las puertas de acceso son de cierre y cerrojo automáticos		X
12. El laboratorio está cerrado herméticamente para proceder a su descontaminación gaseosa mediante el sistema de conducción del aire		X
13. Las ventanas están cerradas y poseen cierre hermético		X
14. El sistema de abastecimiento de agua está equipado de dispositivos antirreflujo de retroceso		X
15. Se mantiene presión negativa mediante un suministro filtrado HEPA dirigido hacia el interior, individual y mecánico, y con un sistema HEPA de salida filtrada de aire		X
16. Se dispone de autoclave dentro del mismo laboratorio		X

ésta y las estrategias futuras planteadas en relación al Plan de Contención de Poliovirus salvaje en los laboratorios españoles. Su objetivo principal es complementar el Plan de Contención con información directa a los profesionales de los laboratorios de microbiología.

Métodos

En mayo de 1999, el Ministerio de Sanidad y Consumo recibió el documento "Proposed Global Action Plan and Timetable for Safe Handling and Maximum Laboratory Containment of Wild Poliovirus and Potentially Infectious Materials Version for public comment, June 1998". Tras su traducción al castellano se presentó a los responsables autonómicos del Plan para la Erradicación de la Poliomielitis y se formó una comisión al efecto dentro del Grupo de Trabajo para el Plan de Erradicación de la Poliomielitis.

Encuesta de laboratorios

El primer cometido de la Comisión consistió en preparar una propuesta de cuestionario para iniciar la localización de laboratorios que contuvieran materiales infecciosos o potencialmente infecciosos con poliovirus salvajes. En este cuestionario se incluyeron las definiciones de los materiales requeridos, incidiéndose respecto a los potencialmente infecciosos en materiales clínicos anteriores a 1990, pues el último caso de poliomielitis por poliovirus salvaje se dio en España en el año 1989. El formato final de los formularios de esta encuesta fue aprobado en Comisión de Salud Pública después de ser presentado a los responsables autonómicos para su discusión. El envío de los cuestionarios se realizó a través de los responsables autonómicos, a partir de listados de laboratorios de cada Comunidad Autónoma, listines telefónicos o cualquier otro tipo de registro disponible. Cada Comunidad Autónoma fue comunicando sus resultados a lo largo del año 2000.

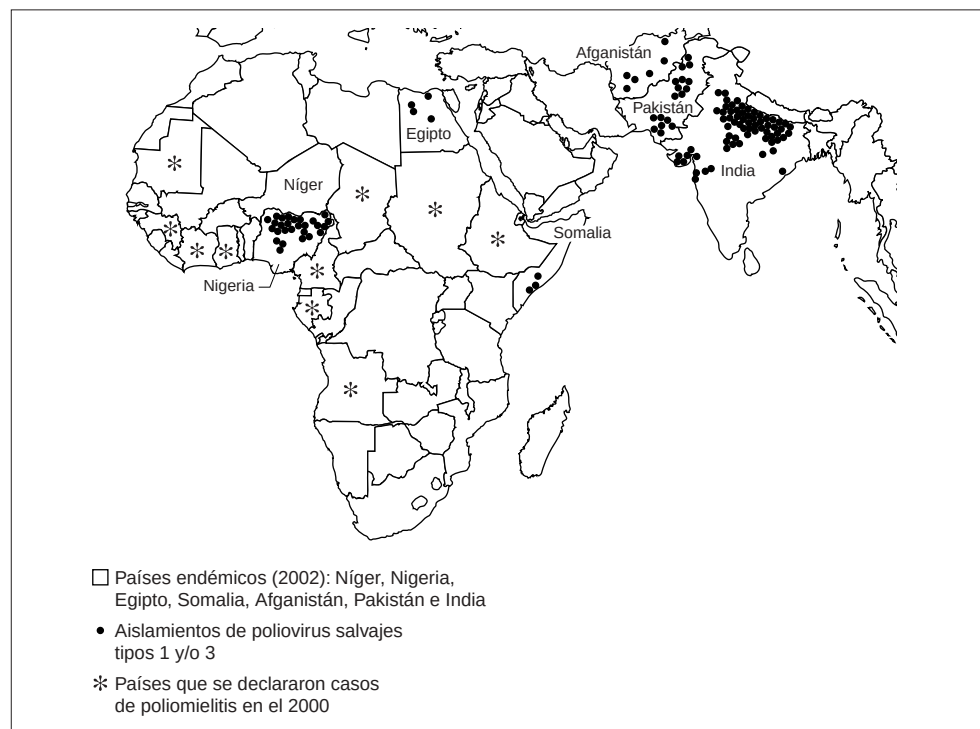


Figura 1. Países de las regiones africana y sudeste asiática que declararon aislamientos de poliovirus salvaje entre los años 2000 y 2002. Las regiones americana, Pacífico oeste y europea han sido declaradas libres de poliovirus salvaje en el 1999, 2000 y 2002, respectivamente. En la región europea fueron declarados casos importados en Bulgaria (2001) y Georgia (2001). Datos suministrados por la OMS.

Control de calidad de las encuestas

Encuestas no respondidas

Los laboratorios a los que les fue enviada la encuesta y no la cumplieron fueron contactados telefónicamente por cada responsable autonómico para verificar el motivo de la ausencia de respuesta.

Verificación de las respuestas positivas

Con el fin ampliar la información de los laboratorios que declararon poseer estos materiales, se elaboró un cuestionario más exhaustivo que incluía: a) datos de filiación del laboratorio; b) nivel de bioseguridad disponible en el mismo, y c) datos relativos a las muestras declaradas, como cantidad, tipo de almacenamiento y uso dado en el pasado y en la actualidad. En mayo del 2001 se enviaron desde el Centro Nacional de Microbiología estos cuestionarios, cuyas respuestas fueron recibidas hasta mayo del 2002.

Acciones complementarias

El último poliovirus salvaje detectado en España fue en 1989; por este motivo, en la encuesta de laboratorios se preguntaba específicamente por muestras clínicas anteriores a 1990. Sin embargo, debido a la situación geográfica de España y a la frecuencia de población inmigrante, así como de viajes al extranjero, se decidió enviar cartas durante el 2001 a los laboratorios de Microbiología, alertando del problema que supondría almacenar muestras clínicas de pacientes procedentes de áreas endémicas de poliomielitis (fig. 1). Las cartas se enviaron desde las Comunidades Autónomas e incluían una lista de países que habían declarado recientemente casos de poliomielitis por poliovirus salvaje.

Resultados

Se encuestaron 3.611 laboratorios, recibiendo 3.159 de dichas encuestas (fig. 2). El 53% de éstas procedían de laboratorios clínicos extrahospitalarios, mientras el 22%

correspondían a laboratorios de hospitales y el resto a laboratorios universitarios, de salud pública y otros. Por otra parte, 52 laboratorios correspondientes en su mayoría a organismos gubernamentales fueron encuestados directamente por el Grupo de Trabajo del Plan de Contención, y se recibieron 50 encuestas. Entre estos últimos estaban los laboratorios dependientes del Ministerio de Defensa, Policía, Guarda Civil, Sanidad Penitenciaria, Instituto Nacional de Toxicología y empresas productoras de vacunas. El porcentaje de respuesta global fue del 87,6, y el 100% se alcanzaron después del análisis de los 454 laboratorios sin respuesta al cuestionario. En ellos se evidenció bien que su actividad no era sanitaria o se constató la inexistencia de éstos en la actualidad, con lo que se consideraron cuestionarios nulos. De los 3.209 laboratorios que contestaron, 78 declararon poseer materiales infecciosos o potencialmente infecciosos por poliovirus, por lo que fueron incluidos en una segunda encuesta de verificación, de la que se evidenciaron los siguientes resultados. De los 78 laboratorios, 67 habían declarado poseer exclusivamente tejidos o fluidos humanos anteriores a 1990. En sucesivas publicaciones, la OMS informó de restringir la búsqueda a heces, frotis faríngeos o biopsias/necropsias sin fijar. Por ello, en la segunda encuesta se descartaron 63 laboratorios que almacenaban otro tipo de materiales como biopsias de tejidos humanos parafinadas y/o fijadas, serotecas o heces formoladas. Además, dos laboratorios declararon haber destruido los materiales bajo condiciones de bioseguridad adecuadas. Por lo tanto, sólo dos laboratorios se consideraron finalmente como poseedores de material potencialmente infeccioso, por tener uno de ellos enterovirus no tipificados y heces recogidas entre 1986 y 1989 y el otro muestras de agua procedentes de un país recientemente endémico.

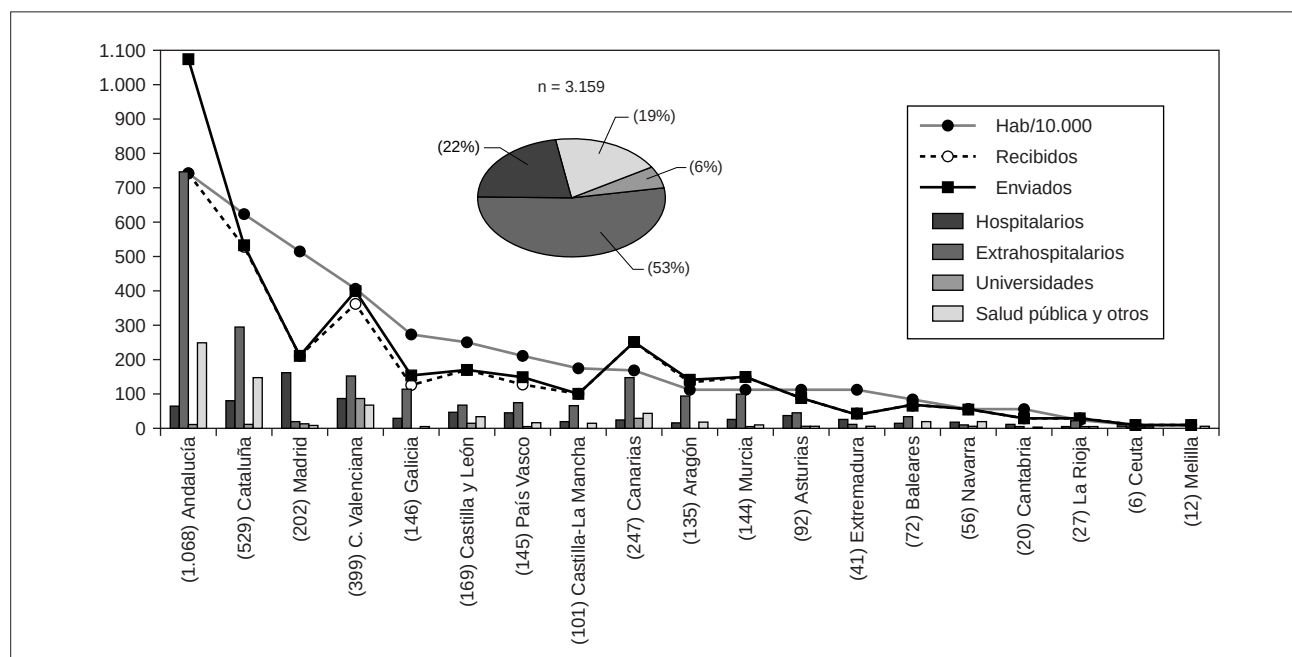


Figura 2. Distribución de las encuestas enviadas y recibidas por Comunidad Autónoma respecto a la población en número de habitantes/10.000 (gráfico de líneas). Entre paréntesis está expresado el número total de encuestas recibidas en cada Comunidad Autónoma. Distribución global de los laboratorios encuestados por tipo de laboratorio (gráfico de sectores) y datos por Comunidad Autónoma y tipo de laboratorio (gráfico de barras).

Un laboratorio declaró en la primera encuesta que poseía ARN/ADNc de poliovirus salvaje almacenado; sin embargo, en la segunda encuesta declaró que había sido un error en la cumplimentación.

Por otra parte, diez laboratorios declararon contener poliovirus salvajes, cinco los destruyeron inmediatamente y los otros cinco decidieron conservarlos en el momento de ser encuestados. De los cinco que destruyeron los poliovirus salvajes, tres conservaron otros materiales que finalmente se clasificaron como potencialmente infecciosos, por tratarse de heces, enterovirus o poliovirus no tipificados.

Por lo tanto, de los 78 laboratorios inicialmente considerados, sólo diez fueron declarados como poseedores de materiales infecciosos o potencialmente infecciosos por poliovirus, en el documento enviado a la OMS el 22 de mayo de 2002. Además, en este documento se hacía constar que cuatro de esos laboratorios estaban ya en proceso de destruir dichos materiales.

Conclusión

Las actividades relacionadas con el Plan de Contención de Poliovirus Salvaje en los laboratorios han sido o están siendo desarrolladas por todos los países, como requisito imprescindible para conseguir la certificación mundial de la erradicación, que se estima que sea en el 2006⁸. El proceso es complejo, por el gran desarrollo tecnológico y sanitario de algunos países, en los que existen gran número de laboratorios clínicos o de investigación. Por eso, la localización de todos y cada uno de los materiales peligrosos en los laboratorios está considerada una tarea casi imposible⁹. Por otra parte, los peligros de la reintroducción involuntaria o voluntaria de un patógeno declarado erradicado están a la orden del día, como en el caso de la

viruela, en que el último caso comunicado en 1978 se originó en un laboratorio por fallos en el sistema de contención¹⁰.

Las estrategias definidas empiezan por una encuesta exhaustiva implementada por los servicios de salud de cada país, pero deben además ser complementadas por una difusión de la información a los profesionales implicados. Las autoridades sanitarias españolas a nivel central y autonómico, han alentado el desarrollo de estas actividades consiguiendo en 3 años llevar a cabo la encuesta de 3.209 laboratorios en todo el país. En ellos están representados los distintos sectores tanto públicos como privados, no sólo del ámbito sanitario, sino también laboratorios de investigación o industriales. Además, se ha supervisado el proceso de búsqueda mediante las medidas de control necesarias. Después de este gran esfuerzo por parte de todos, se han detectado diez laboratorios que contienen materiales infecciosos o potencialmente infecciosos con poliovirus salvaje. Estos laboratorios tendrán que elegir entre las siguientes alternativas:

1. Destruir los materiales en condiciones adecuadas mediante autoclavado y posterior incineración.
2. Descartar la infectividad de los materiales potencialmente infecciosos de manera adecuada y siempre supervisados por el Laboratorio Nacional de Poliovirus.
3. No utilizar estas muestras para actividades en las que puedan ser sustituidas por otras, y en cualquier caso, se utilicen o no adoptar medidas de bioseguridad de nivel BSL2/polio, y en un futuro BSL3/polio.
4. Enviar las muestras a un laboratorio designado por la OMS con el suficiente nivel de bioseguridad.

Por otra parte, se considera de crucial importancia mantener activo el sistema de búsqueda de materiales

peligrosos durante los próximos años, hasta que se consiga la erradicación mundial de la enfermedad.

Por todo lo anteriormente expuesto, si pertenece a algún laboratorio que contenga algún material de los detallados en las tablas 1 y 2, y no ha contestado ninguna encuesta al respecto, por favor contacte lo más rápidamente posible con la coordinadora del Plan de Contención: Pilar Pérez-Breña (tel. 915 097 971 pperez@isciii.es) o bien con el responsable autonómico de su comunidad (v. listado de autores).

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer expresamente por su trabajo en este estudio a M.^a Paz Sánchez-Seco, que participó en el diseño del modelo de encuesta. Asimismo, los autores agradecen a la OMS los datos suministrados respecto a los casos declarados de poliovirus salvajes en 2002.

Bibliografía

1. Melnick JL. Enteroviruses: Polioviruses, coxsackievirus, echoviruses and newer enteroviruses. En: Fields BN, Knipe DM, Chanock RN, Melnick JL, Roizman B, Shope RE, editors. *Virology*. New York: Raven Press, 1985; p. 739-94.
2. Henderson RH. The World Health Organization's plan of action for global eradication of poliomyelitis by the year 2000. *Ann N Y Acad Sci* 1989;569: 69-85.
3. Laboratory support for poliomyelitis eradication: Memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1989;67:365-7.
4. The Global Poliomyelitis Eradication Initiative: Number of endemic countries at lowest ever. *Wkly Epidemiol Rec* 2002;77:414-5.
5. Proposed Global Action Plan and Timetable for Safe Handling and Maximum Laboratory Containment of Wild Polioviruses and Potentially Infectious Materials; 1998.
6. Network strategy for detecting cVDPV is defined. *Polio Lab Network*, Quarterly Update in <http://www.who.int/vaccines/en/poliolab/2001/Vol7Issue4Dec2001.pdf>. 2001;VII (December)(4):1-2.
7. Kew O, Morris-Glasgow V, Landaverde M, Burns C, Shaw J, Garib Z, et al. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus. *Science* 2002;296:356-9.
8. From the Centers for Disease Control and Prevention. Global progress toward laboratory containment of wild polioviruses—July 2001–August 2002. *JAMA* 2003;289:415-7.
9. Dowdle W. GH, Sanders R. Can post-eradication laboratory containment of wild polioviruses be achieved? *Bull World Health Organ* 2002;80:311-6.
10. Griffiths PD. Destruction of smallpox stocks. *Rev Med Virol* 1999;9:217-8.