



El papel del Laboratorio Nacional de Polio y de la red de laboratorios subnacionales en la erradicación de la poliomielitis en España

The role of the National Polio Laboratory and the network of Sub-National Laboratories in the eradication of poliomyelitis in Spain

AUTORAS

(1,2) María Cabrerizo
[ORCID: 0000-0001-7054-5696]

(1,2) M^a Dolores Fernández-García
[ORCID: 0000-0003-0336-6596]

CONTRIBUCIONES DE AUTORÍA

Ambas autoras han contribuido en el diseño y redacción del manuscrito.

FILIACIONES

- (1)** Laboratorio Nacional de Polio / Laboratorio de Enterovirus y Virus productores de Gastroenteritis; Centro Nacional de Microbiología; Instituto de Salud Carlos III. MADRID. ESPAÑA.
- (2)** CIBER de epidemiología y salud pública. MADRID. ESPAÑA.

FINANCIACIÓN

No hubo.

CORRESPONDENCIA

María Cabrerizo
Ctra. de Majadahonda a Pozuelo, km 2. CP 28220. Madrid. España.

mcabrerizo@isciii.es

CITA SUGERIDA

Cabrerizo M, Fernández-García MD. El papel del Laboratorio Nacional de Polio y de la red de laboratorios subnacionales en la erradicación de la poliomielitis en España. Rev Esp Salud Pública. 2025; 99: 21 de marzo e202503016.

Las autoras declaran que no existe ningún conflicto de intereses

RESUMEN

El objetivo de este artículo fue describir las actividades realizadas por el Laboratorio Nacional de Poliovirus (LNP) y la Red Española de Vigilancia de Parálisis Fláccida Aguda (PFA). El LNP coordina la red desde 1998 y se encarga de la caracterización de los poliovirus (PV) y otros enterovirus (EV) detectados, utilizando métodos de cultivo celular y moleculares. Es acreditado por la Organización Mundial de la Salud anualmente y representa a España en la Red Europea de Laboratorios de Polio para dicha organización. Además de los casos de PFA declarados, desde su creación la red ha analizado para EV una media de 9.000 muestras clínicas anuales, con un 7% de resultados positivos. Se pueden distinguir dos periodos de vigilancia en España: de 1998 a 2004, donde se pudieron detectar PV vacunales, ya que se vacunaba con la vacuna de polio oral, y desde 2005 en adelante, en el cual y ya con la vacuna inactivada, solo se han identificado tres casos de PV derivado de la vacuna, todos ellos importados. Además, entre el 70% y el 85% de los EV recibidos en el LNP son genotipados con éxito. La labor realizada ha contribuido tanto a la vigilancia e investigación epidemiológica y clínica de dichas infecciones, como a la rápida detección y caracterización de casos importados de poliomielitis. Ello ha facilitado la toma de medidas adecuadas para prevenir la transmisión y circulación de PV en nuestro país, todo ello en el marco del Plan Global de Erradicación de la Poliomielitis.

PALABRAS CLAVE // Poliovirus; Enterovirus; Parálisis fláccida aguda; Cultivo celular; Genotipado.

ABSTRACT

The aim of this paper was to describe the activities carried out by the National Poliovirus Laboratory (LNP) and the Spanish Acute Flaccid Paralysis (AFP) Surveillance Network. The LNP coordinates the network since 1998 and is responsible for the characterization of polioviruses (PV) and other enteroviruses (EV) detected, using cell culture and molecular methods. It is annually accredited by WHO and represents Spain in the World Health Organization European Polio Laboratory Network. In addition to the reported AFP cases, the network has analyzed since its creation an average of 9,000 clinical samples annually for EV, with a 7% of positive results. Two surveillance periods can be distinguished in Spain: from 1998 to 2004, when vaccine PV could be detected due to the use of the oral polio vaccine, and from 2005 onwards, when only three cases of imported vaccine-derived PV have been identified following the introduction of the inactivated polio vaccine. In addition, between 70% and 85% of the EV samples received at the LNP are successfully genotyped. The work carried out by the lab network has contributed to the epidemiological and clinical surveillance and research of these infections, as well as to the rapid detection and characterization of imported poliomyelitis cases. This has facilitated the timely implementation of appropriate measures to prevent PV transmission and circulation in our country, in alignment with the Global Polio Eradication Initiative.

KEYWORDS // Poliovirus; Enterovirus; Acute flaccid paralysis; Cell culture; Genotyping.

AGRADECIMIENTOS

Además de a los investigadores de los laboratorios de microbiología pertenecientes a la red, queremos agradecer el trabajo realizado desde las consejerías de Sanidad (Vigilancia y Salud pública) de todas las CC. AA., así como en el Centro Nacional de Epidemiología del ISCIII (Josefa Masa y Noemí López-Perea). También un muy especial reconocimiento a Aurora Limia, Gloria Trallero y Níria Rabella, que contribuyeron durante muchos años a la implementación y desarrollo del *Plan Nacional de Polio*, especialmente en el Sistema de Vigilancia de la Parálisis Fláccida Aguda y Enterovirus en España.

NOTAS

INTRODUCCIÓN

La poliomielitis es una infección causada por los poliovirus (PV) tipos 1, 2 o 3, virus que pertenecen al género *Enterovirus* dentro de la familia *Picornaviridae* y que pueden afectar de forma grave al sistema nervioso central, destruyendo las neuronas motoras de la médula espinal y causando parálisis flácida aguda (PFA). Aproximadamente una de cada 200 infecciones por PV en menores no inmunizados produce parálisis irreversible (1,2). Además, entre un 5% y 10% de los casos graves de parálisis acaban muriendo por afectación de los músculos respiratorios (2). Aunque la poliomielitis no tiene tratamiento, desde mediados del siglo XX se dispone de dos vacunas altamente efectivas, una inactivada (VPI) y otra oral (VPO) que contiene cepas atenuadas de los tres tipos de PV (1-3). Así, en mayo de 1988, en su 41ª Asamblea, la Organización Mundial de la Salud (OMS) lanzó la *Iniciativa para la Erradicación Mundial de la Poliomielitis* (4). En aquel momento había 125 países endémicos con más de 350.000 casos de parálisis notificados al año. Desde entonces, los casos de poliomielitis en el mundo se han reducido en más de un 99% (3). Cinco de las seis regiones de la OMS ya han alcanzado el objetivo de interrumpir la transmisión de PV: las Américas (1994), Pacífico Occidental (2000), Europa (2002), Sudeste Asiático (2014) y África (2020). Actualmente Afganistán y Pakistán son los dos únicos países considerados endémicos para PV salvaje (PVS), y específicamente PVS1,

ya que tanto el tipo 2 como el 3 se han declarado erradicados mundialmente (en 2015 y en 2019, respectivamente) (2). Los casos anuales causados por PVS1 desde 2016 no han superado la centena, exceptuando 2019 y 2020, cuando se notificaron 176 y 140, respectivamente, llegando a ser solo cinco en 2021. En 2024, sin embargo, se han declarado 98 casos de PFA por PV1 en Afganistán y Pakistán (5).

Además de PVS1, en el mundo circulan los denominados PV derivados de la vacuna (PVDV) que se originan a partir de las cepas atenuadas de la VPO. Estas pueden sufrir mutaciones durante su replicación en la persona vacunada, revirtiendo en ocasiones a la forma neurovirulenta con capacidad de causar PFA. Clínicamente, no hay diferencias entre las PFA por PVS y por PVDV (1). En zonas donde hay fallos en la inmunidad de la población, estos PVDV se pueden mantener circulando (PVDV circulante) y causar brotes (6). En los últimos seis años, en 46 países (de África y del Pacífico) se han detectado brotes de PVDVc (principalmente PVDV2), causando entre 367 y 1.113 casos anuales de PFA, lo que supone un grave problema de Salud Pública, además de poner en riesgo la consecución de la erradicación (4). Para impedir la aparición y circulación de estos PVDV2, el plan estratégico de la OMS 2019-2023 incluyó el cambio sincronizado a nivel global de la VPO trivalente por la bivalente (para PV1 y 3), introduciendo al menos una dosis de VPI en todos los programas de vacunación sis-

Este artículo tiene una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional. Usted es libre de Compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) bajo los siguientes términos: Atribución (debe darse el crédito apropiado, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se realizaron cambios. Puede hacerlo en cualquier manera razonable, pero no de alguna manera que sugiera que el licenciante lo respalda a usted o su uso); No comercial (no podrá utilizar el material con fines comerciales); Sin derivados (si remezcla, transforma o construye sobre el material, no puede distribuir el material modificado); Sin restricciones adicionales (no puede aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros hacer cualquier cosa que la licencia permita).
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

temática, así como el uso, desde 2021, de una nueva VPO monovalente tipo 2 (nVPO2), que contiene cepas modificadas genéticamente más estables (7) para evitar que se produzcan los PVDV. Aunque la situación ha ido mejorando, en 2024 todavía se han detectado casi 300 casos de PFA por PVDVc (5).

Junto con los objetivos de lograr la vacunación de todos los menores antes de cumplir el año de vida y de alcanzar y mantener altas coberturas de vacunación, la OMS elaboró un plan de actuaciones complementarias para demostrar la interrupción de la circulación de PV que consistían en:

- a) Implantar un sistema de vigilancia eficaz de la PFA en menores de quince años.
- b) Realizar la vigilancia de enterovirus (EV) en síndromes clínicos diferentes a la PFA (neurológicos y respiratorios, fundamentalmente).
- c) Organizar un sistema de vigilancia ambiental de PV/EV.
- d) Realizar estudios seroepidemiológicos que valorasen el estado inmunitario de la población frente a PV.
- e) La búsqueda, control y contención de PV almacenados en los laboratorios (8).

Estas cinco actuaciones se están llevando a cabo en España desde 1997 y en ellas tiene un papel fundamental tanto el Laboratorio Nacional de Polio (LNP) como los laboratorios subnacionales para la vigilancia de PFA y de EV (9).

El propósito de este artículo fue describir las actividades realizadas y los resultados obtenidos por el LNP y

la red de laboratorios subnacionales desde su creación y, especialmente, en los últimos años, que demuestran la necesidad de mantener y fortalecer la vigilancia virológica para lograr definitivamente la erradicación de la poliomielitis en todo el mundo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Vigilancia PFA en menores de quince años. La red de laboratorios para la vigilancia de PFA coordinada por el LNP se estableció en 1998 e inicialmente estaba formada por nueve laboratorios de microbiología en hospitales del Sistema Nacional de Salud (SNS) pertenecientes a nueve comunidades autónomas (CC. AA.) junto con el LNP (Centro Nacional de Microbiología [CNM], Instituto de Salud Carlos III), que actuaba como coordinador y representante para España en la Red Europea de Laboratorios para Polio de la OMS (*Euro-WHO Polio Laboratory Network*). Actualmente, sólo dos laboratorios subnacionales realizan labores de vigilancia de PFA, uno estudiando los casos declarados en Cataluña (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona) y otro, los de Andalucía (Hospital Virgen de las Nieves, Granada).

La vigilancia de casos de PFA en menores de quince años para detectar o descartar la presencia de PV como agente causal es obligatoria en España, y el estudio virológico debe realizarse utilizando la metodología estándar establecida y recomendada por la OMS, igual para todos los LNP del mundo (10). Dicha metodología se basa en el aislamiento de los PV/EV no-polio en cultivo de diferentes líneas celulares susceptibles, utilizando muestras de heces procedentes de todos los casos declarados de PFA. El cultivo debe realizarse ▶

al menos en dos líneas celulares, RD (rabdomiosarcoma) y L20B (células de ratón modificadas genéticamente para contener el receptor celular de PV), y, preferiblemente, con dos muestras separadas entre veinticuatro y cuarenta y ocho horas. El procesamiento y cultivo celular de las muestras clínicas, tanto de casos de PFA como de otros síndromes clínicos compatibles con la poliomielitis, son realizados por los laboratorios de la red y por el LNP. Éste último se encarga de las muestras de casos notificados en las CC. AA. que no poseen un laboratorio subnacional acreditado para cultivo celular de PV.

Vigilancia de EV. Está recomendada por la OMS como complementaria a la vigilancia de casos de PFA (11). En España, actualmente se realiza utilizando métodos moleculares, es decir, detección directa mediante técnicas de amplificación genómica (PCR). La mayoría de los laboratorios de microbiología de los diferentes hospitales del SNS ya tienen incorporados en la práctica asistencial métodos comerciales de detección directa de EV en muestra clínica, validados y acreditados. El LNP tiene también técnicas de PCR acreditadas por la Entidad Nacional de Acreditación para la detección de EV, disponibles a través de la Cartera de Servicios del CNM (12). Así, toda muestra que resulte EV-positiva puede ser enviada al LNP para su genotipado a través de un Programa de Vigilancia Microbiológica (PVM) implantado en el CNM desde 2004 (13,14). El PVM de EV está abierto a todos los laboratorios y hospitales del SNS y funciona de forma voluntaria. No obstante, desde 2013, además de los laboratorios de la red de PFA (que realizan la vigilancia de EV-no polio compaginando métodos celulares y moleculares), otros nueve hospitales situados

en diferentes CC. AA. (Cataluña, Navarra, Galicia, Murcia, Madrid, Canarias y País Vasco) colaboran de forma estrecha y exhaustiva con esta vigilancia de EV. Todos ellos contribuyen con un número de muestras elevado y proporcionan todos los datos clínicos y epidemiológicos asociados a los casos y solicitados por la OMS a cada país. Los datos anuales de vigilancia de casos de PFA y de EVNP se recopilan durante el primer trimestre del siguiente año y se incorporan tanto al documento *Annual Lab Accreditation Report* como al *Annual Progress Report on Polio Eradication Activities*.

Caracterización del tipo de PV o EV no-polio. Hasta 2000, la técnica utilizada por el LNP para el serotipado de los aislados obtenidos fue la micro-neutralización con mezclas de antisueños específicos, según el método descrito por Melnick y Wimberly (15), pero a partir de ese año se empieza a complementar con métodos moleculares, siendo hoy en día los únicos utilizados. Para el tipado de las muestras EV-positivas se utilizan diferentes técnicas de PCR específicas que amplifican parte de la región genómica de la proteína mayor de la cápside (VP1), seguidas de secuenciación Sanger (16,17). En el caso de una sospecha o detección de PV (bien por PCR o por aislamiento en células L20B), se debe realizar una *diferenciación intratípica* de los PV (ITD, por las siglas en inglés de *intra-typic differentiation*). Esta consiste en un sistema de RT-PCR multiplex en tiempo real, que permite confirmar los PV y discriminar entre PVS, PV vacuinales o PVDV (18,19). Los PVDV se definen como PV con una divergencia en la secuencia de la región VP1 (900 nucleótidos) mayor o igual al 1% (para PV1 y 3) o del 0,6% (para PV2) (6). Si la ITD

da como resultado un posible PVDV, se requiere obtener la secuencia de VP1 completa para confirmarlo y determinar el origen de dicho PVDV. Para ello, se compara la secuencia obtenida con otras disponibles en bases de datos y se realizan análisis filogenéticos que permiten identificar relaciones evolutivas y posibles conexiones epidemiológicas con otros PVDV previamente caracterizados.

Vigilancia ambiental. Las personas infectadas con PV o vacunadas recientemente con VPO pueden eliminar el virus por las heces durante semanas, e incluso años, como está descrito en algunos casos de inmunodeficiencia severa (20), de ahí que estos PV puedan detectarse en aguas residuales. La OMS considera que la vigilancia ambiental es un buen sistema de vigilancia complementario en países o áreas no-endémicas, pero con riesgo de importación de casos de poliomielitis. En España, la vigilancia de EV en aguas residuales no está implantada a nivel nacional pero el LNP realiza periódicamente y desde 1999, la vigilancia de PV/EV en muestras de aguas residuales procedentes de plantas depuradoras de Madrid ciudad y su área metropolitana, gracias a un acuerdo con el Canal de Isabel II. Los métodos utilizados se basan en los métodos recomendamos por la OMS (21), utilizando las técnicas de cultivo celular para la detección, y de PCR y secuenciación para la caracterización, similares a las usadas con muestras clínicas, aunque las aguas residuales requieren un procesamiento previo de concentración. En el LNP, actualmente, el método de concentración de virus que se usa está basado en la precipitación con polietilenglicol (PEG), seguido de tratamiento con cloroformo (22).

A modo de resumen, las principales responsabilidades del LNP son:

- a) Estudiar todos los casos de PFA en menores de quince años declarados y procedentes de las CC. AA. que no poseen laboratorio subnacional.
- b) Caracterizar los aislados procedentes tanto de casos de PFA como de otras muestras (clínicas y ambientales) que permiten tanto la confirmación de resultados como la detección y caracterización de PV y otros EV no-polio.
- c) Caracterizar el tipo de EV en todas las muestras clínicas EV-positivas enviadas a través del PVM del CNM.
- d) Analizar todos los datos obtenidos y recibidos para la elaboración anual de los documentos de información y acreditación para el Comité de Certificación de la Polio en España y la OMS.

El LNP está acreditado como tal desde 1997 y anualmente pasa un programa de evaluación por parte de la OMS que incluye controles de calidad (actualmente para el aislamiento viral en cultivo celular y para la ITD de los PV aislados), revisión de procedimientos y uso de indicadores estándares. Así mismo, el LNP debe acreditar cada año a los laboratorios subnacionales de PFA para aislamiento viral en cultivo celular, siguiendo los mismos procedimientos y criterios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Vigilancia microbiológica de PV y EV-no polio en muestras clínicas. Desde 1998, se pueden diferenciar dos periodos de vigilancia de poliomielitis en España. Un primer periodo, de 1998 a 2004,

donde todavía había circulación de PV vacunales, ya que el cambio de tipo de vacuna administrada de VPO a VPI se realizó en 2004, y un segundo periodo, de 2005 a la actualidad.

Periodo 1998-2004.

Durante estos siete años, la red de laboratorios para la vigilancia de PFA estudió mediante cultivo celular un total de 62.714 muestras clínicas (entre 8.113 y 11.383/año) procedentes de casos de PFA (304 casos totales, media de 43 casos/año) y de otros síndromes compatibles (neurológicos y respiratorios principalmente). En el 9% de las muestras se pudieron aislar EV (5.623 EV-positivos/62.714 muestras), dentro del rendimiento esperado (5-25%) (11).

De los EV aislados, 208 fueron caracterizados como PV *Sabin-like* (vacunal) 1, 2 o 3, procedentes en un 49% de muestras fecales y en un 51% de exudados faríngeos. Clínicamente, se detectaron PV solo en tres menores con PFA; el resto de aislamientos procedían de pacientes con síndromes respiratorios o fiebre inespecífica. El 80% correspondió a niños menores de un año. Los tres casos de poliomielitis asociados a la vacuna VPO se produjeron entre 1998 y 2001 en Barcelona, Murcia y Bilbao, y fueron los últimos detectados en España. Esta etapa de la vigilancia está descrita con más detalle en publicaciones anteriores (23,24).

Durante este periodo, de 1999 a 2002, también se inició el *Plan de Contención de PV en los laboratorios*, con el diseño y envío de una encuesta a todos los laboratorios del país, previamente inventariados, con el objetivo de localizar y destruir todos los PV almacenados en los laboratorios, así como

los materiales que pudieran contenerlos o ser origen de los mismos (25).

Periodo 2005-2023.

Este periodo se divide, a su vez, en dos: hasta 2015, donde las muestras estudiadas y datos eran aportados casi exclusivamente por los laboratorios de la red de vigilancia de PFA; y a partir de 2016, en el cual el número de muestras testadas para EV aumenta significativamente gracias a la incorporación de otros laboratorios del SNS que realizan la detección de EV directamente en muestras clínicas con métodos de amplificación genómica, sin pasar por cultivo celular. Así, en la TABLA 1 se puede observar como los datos aportados de muestras estudiadas hasta 2015 estaba entre 3.542 y 8.274, mientras que a partir de 2016 el número está por encima de 10.000, a excepción de 2019 y también 2020, como consecuencia de la pandemia de la COVID-19. Por un lado, y como se ha comentado anteriormente, los datos para elaborar los documentos anuales para la OMS se recopilan en el primer trimestre del año posterior, por lo que en 2020 no todos los laboratorios estuvieron en condiciones de aportar los datos de 2019. Por otro lado, debido a las restricciones de movilidad desde marzo de 2020 hasta mediados de 2021, la circulación de EV disminuyó significativamente, lo que queda reflejado también en el bajo rendimiento de detección en estos dos años (1,9% y 3,7%, respectivamente). Globalmente, el rendimiento de EV detectados en este periodo de estudio fue del 6,6% (con un rango entre el 1,9% en 2020 y el 11,7% en 2014), lo cual está dentro de los estándares de calidad establecidos por la OMS (11). Además, todos los años se estudian mediante cultivo celular más de 150 muestras de heces, lo que

Tabla 1

Muestras clínicas testadas, poliovirus (PV) y enterovirus (EV) no-polio aislados o detectados y porcentaje de detección en cada año por los laboratorios de la red durante el periodo de estudio 2005-2023.

Año	Muestras clínicas estudiadas	EV aislados/ detectados	PV aislados/ detectados	Porcentaje de detección (%)
2005	7.332	507	16	6,9
2006	8.274	783	3	9,5
2007	8.084	532	0	6,6
2008	6.063	425	0	7,0
2009	5.073	264	0	5,2
2010	4.611	275	0	6,0
2011	5.032	266	0	5,3
2012	3.542	337	0	9,5
2013	5.501	367	0	6,7
2014	5.743	670	0	11,7
2015	6.905	452	0	6,5
2016	10.721	983	0	9,2
2017	11.591	844	0	7,3
2018	11.523	668	0	5,8
2019	7.804	430	8	5,5
2020	8.918	171	0	1,9
2021	10.549	386	1	3,7
2022	15.764	1.258	0	8,0
2023	28.643	1.174	0	4,1

se considera suficiente para demostrar una adecuada vigilancia de poliomielitis (9). Por último, en 2023 se produjo un aumento significativo de muestras estudiadas debido, fundamentalmente, al aumento en la realización del diagnóstico virológico de rutina en cuadros respiratorios en el SNS, producido tras la pandemia de SARS-CoV2.

Reporte de casos. Con respecto a los PV detectados en este periodo de estudio, fueron todos PVDV y considerados importados. Dos de estos causaron PFA en menores de quince años (en 2005 y 2021) y uno fue en un paciente adulto con síntomas respiratorios, considerado excretor prolongado. A continuación, se describen los tres casos brevemente.



Caso 1. En 2005, el sistema de vigilancia de PFA notificó la detección de un PV2 en un paciente de catorce meses de edad con residencia en Mallorca, con una inmunodeficiencia primaria severa del tipo HLA II, que presentó un cuadro de tetraparesia. El menor cuatro meses. Los aislamientos de PV2 se obtuvieron de diez muestras de heces consecutivas del menor y de tres de sus contactos familiares, recogidas en 2005 y 2006. Los contactos positivos (sin evidencias de estar vacunados) no desarrollaron ningún tipo de patología. La investigación realizada en el LNP caracterizó el PV como un PVDV2 asociado a inmunosupresión (iPVDV2). Además, se confirmó la no circulación de dicho PV fuera del ámbito familiar. En abril de 2006, el evento (considerado un caso importado de PVDV2) fue cerrado, ya que el menor falleció y los contactos positivos dejaron de excretar PV (26).

Caso 2. En mayo de 2019, y gracias a la vigilancia de EV que se realiza en muestras respiratorias en el Hospital Vall D'Hebrón de Barcelona, se pudo identificar PV en el exudado faríngeo de un adulto de origen pakistaní, pero residente en nuestro país, y sin viajes recientes a zonas endémicas para PV (27). Estaba adecuadamente vacunado, con PVO en la infancia más una dosis de VPI recibida en España. El paciente había sido diagnosticado de una inmunodeficiencia primaria unos años antes. El estudio realizado en el LNP determinó que los PV detectados tanto en dos muestras respiratorias como en seis muestras fecales recogidas entre enero y septiembre de 2019, eran PVDV 1 y 3, con un grado de divergencia con la cepa Sabin vacunal coherente con un tiempo de replicación de dos años (2,7% para el tipo 1 y 1,5% para el tipo 3). Su pareja documentó haber

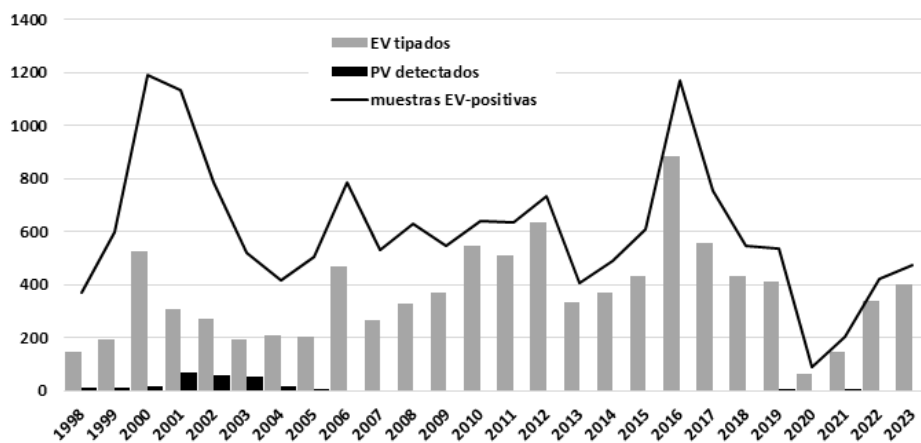
recibido VPO bivalente en febrero de 2017 antes de salir de Pakistán, lo cual correlacionaba con el posible momento de la infección. Todas las muestras analizadas de los contactos familiares fueron negativas para PV. El paciente recibió tratamiento frente a la inmunodeficiencia y también con un antiviral (pocapavir). Aun así, el seguimiento realizado mediante el análisis de muestras mensuales de heces indicó excreción de PVDV3 de forma intermitente hasta agosto de 2021. Tras seis muestras consecutivas con resultado negativo, en junio de 2022 se dio por finalizado el seguimiento del paciente.

Caso 3. El último caso importado de PVDV fue en un menor de cinco años procedente de Senegal, que realizó una estancia en Murcia durante el mes de agosto de 2021, con el objetivo de recuperarse de una parálisis que había sufrido. La búsqueda retrospectiva de casos de PFA, complementaria a la vigilancia que se realiza en España junto con la investigación virológica, reveló como agente causante de la parálisis un PVDV2 circulante en Senegal en 2021 y con origen también en Senegal en 2015. El menor evolucionó favorablemente y regresó a su país de residencia en septiembre. Ninguno de los 42 contactos que tuvo en España se infectaron. El estudio en aguas residuales de la población de residencia no mostró circulación activa de PV (28,29).

Además de la ITD que se debe llevar a cabo siempre que se afle o detecte un PV, el LNP realiza el tipado de todos los EV no-polio detectados en muestras clínicas y recibidos a través del PVM del CNM. En la **FIGURA 1** se observa el número de muestras EV-positivas analizadas y aquellas que han sido caracterizadas anualmente. Cuatro años fueron espe-

Figura 1

Muestras clínicas positivas para enterovirus recibidas en el LNP cada año durante el periodo de estudio 1998-2023, y los poliovirus y enterovirus no-polio caracterizados.



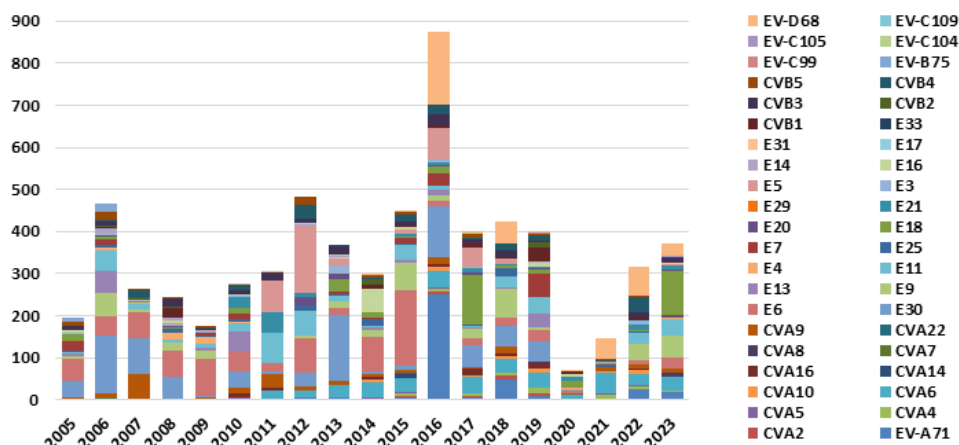
Abreviaturas: EV, enterovirus; PV, poliovirus.

cialmente epidémicos para EV no-polio (2000, 2006, 2012 y 2016), mientras que la circulación de EV fue casi inexistente entre marzo de 2020 y septiembre de 2021, por las razones que ya se ha comentado anteriormente. Con respecto al porcentaje de EV tipados, se puede observar como en los años en los que se utilizaban métodos serológicos, el porcentaje de éxito era entre el 27% y el 60% y que, desde 2009, con los métodos moleculares mejorados, se logra identificar el genotipo específico del 70%-85% de muestras recibidas. A pesar de no lograr caracterizar todos los EV analizados, los métodos de secuenciación permiten descartar la presencia de PV en todas las muestras.

Los resultados de la vigilancia de EV-no polio **[FIGURA 2]** indican que anualmente cocirculan en España una media de veinte tipos diferentes, causando

enfermedades neurológicas (principalmente meningitis o encefalitis y fiebres inespecíficas en neonatos y lactantes), mucocutáneas (exantemas o enfermedad mano-boca-pie [EMBP]) y respiratorias, tanto de vías altas como bajas **(30,31)**. Hay tipos de EV que circulan todos los años con mayor o menor frecuencia, como coxsackievirus (CV) A9 o CVB3; otros, en forma de ondas epidémicas cada dos-tres años, como echovirus (E)30 o E6 **(32-34)**. Por último, la vigilancia ha mostrado cómo hay tipos de EV que no circulaban prácticamente, emergiendo un determinado año como uno de los tipos circulantes más frecuentes o causando enfermedades nuevas o más graves. Algunos produjeron brotes, pero no han vuelto a ser detectados después, como EV-B75 o CVA24v **(35,36)**. Otros, sin embargo, acaban siendo EV endémicos. Este ha sido el caso de CVA6, principal cau-

Figura 2
 Tipos de enterovirus no-polio identificados en el LNP cada año durante el periodo de estudio 2005-2023.



Abreviaturas: EV, enterovirus; CV, coxsackievirus; E, echovirus.

sante de EMBP desde 2010, año que emergió (37), y de EV-D68, asociado a cuadros respiratorios, pero también a casos de PFA en España desde 2015, siendo actualmente uno de los EV más prevalentes cada año (16,38,39). Por último, el mayor brote de EV declarado en España y asociado a casos graves de encefalitis/rombencefalitis y PFA en niños entre uno y seis años de edad, se produjo en 2016 y fue causado por una cepa variante de EV-A71 que no había circulado antes, pero que desde entonces se detecta cada año con mayor o menor prevalencia (40).

Contención de PV en los laboratorios. Con respecto al Plan de Contención, entre 2016 y 2017 se solicitó a todos los laboratorios de España inventariados, incluidos los laboratorios subnacionales de vigilancia de PFA y EV-no polio, la destrucción de todos los aislados de PV que tuvieran conserva-

dos, tanto cepas vacunales como salvajes, y aquellas muestras clínicas potencialmente infecciosas. Desde entonces, solo el CNM conserva cepas vacunales Sabin 1 y 2 para los ensayos de sensibilidad de las células y de caracterización de los posibles PV detectados.

Estudios seroepidemiológicos. Entre 2017 y 2018 se realizó una encuesta serológica de ámbito nacional para estudiar el estado inmunológico de la población general frente a numerosos agentes infecciosos, que incluyó PV. Los resultados indicaron una seroprevalencia de anticuerpos neutralizantes frente a PV1 y 3 muy alta en todos los grupos de edad, asegurando el nivel de población susceptible inferior al 15% necesario para evitar la transmisión en caso de introducción de estos virus (41).

Vigilancia ambiental. Hasta 2009, el estudio en aguas residuales fue espo-

rádico, ya que el grueso de muestras de aguas recibidas en el LNP era procedente de ETAP (estaciones de tratamiento de aguas potables), no detectándose EV en ninguna de ellas. Desde 2005 se han analizado entre seis y sesenta muestras de aguas residuales procedentes de depuradoras de Madrid ciudad y su área metropolitana, con un porcentaje de detección para EV de

entre el 13% y el 100%. El cambio de método de concentración de las muestras (hasta 2019 era mediante filtración y actualmente con precipitación con PEG) ha aumentado significativamente el rendimiento de detección (por PCR, no por cultivo celular), como se puede observar en la **TABLA 2**. Los tipos de EV identificados en estas muestras se correlacionan en parte con los detecta-

Tabla 2
Muestras de aguas residuales (AR) testadas, enterovirus (EV) no-polio aislados o detectados y porcentaje de detección en cada año por los laboratorios de la red durante el periodo de estudio 2005-2023.

Año	Muestras AR analizadas	EV aislados/ detectados	Porcentaje de detección (%)
2005	6	3	50
2006	6	3	50
2007	6	2	33
2008	6	5	83
2009	6	4	67
2010	8	4	50
2011	6	1	17
2012	6	3	50
2013	16	2	13
2014	20	4	20
2015	20	10	50
2016	22	3	14
2017	11	2	18
2018	12	6	50
2019	10	6	60
2020	60	41	68
2021	6	6	100
2022	24	24	100
2023	16	16	100



dos en muestra clínica cada año, pero también se detectan otros EV poco frecuentes como son CVA1, CVA19, CVA22, EV-C99 o EV-C116 (pertenecientes a la especie *Enterovirus C*), lo que puede indicar una circulación asintomática de estos EV no-polio.

CONCLUSIONES

España obtuvo el certificado de territorio libre de polio en 2002, junto con el resto de la región europea. Desde entonces, las altas coberturas de vacunación mantenidas junto con adecuados sistemas de vigilancia, hacen que se clasifique como país con bajo riesgo de transmisión por parte de la Comisión de Certificación para la Erradicación de la Poliomielitis (42). Es cierto que, desde entonces, la calidad de la vigilancia de casos de PFA en menores de quince años ha disminuido (solo se declaran y estudian para PV la mitad de los casos esperados) (43), reflejo de la pérdida de concienciación sobre la poliomielitis especialmente tras el cambio de la VPO a la VPI en 2004, que hace que sea muy poco probable la detección de casos de PFA causados por PV. Sin embargo, los casos declarados son estudiados adecuadamente y la vigilancia complementaria de EV, tanto por el número de muestras de heces analizadas como por el de EV caracterizados anualmente, permiten que se siga considerando a España como un territorio de bajo riesgo de circulación de PV tras una importación, como se ha demos-

trado con los tres casos de PVDV detectados en los últimos años y descritos previamente. Además, esta vigilancia contribuye al estudio sistemático de las infecciones por EV, mejorando los datos sobre su circulación y distribución, las características clínicas asociadas y su epidemiología molecular.

España debe mantener la infraestructura creada con el *Plan de Erradicación de la Poliomielitis* y continuar con la inmunización y vigilancia, incluida la vigilancia ambiental. Las detecciones en 2022 de PVDV2 en aguas residuales en Nueva York y Londres (44,45), y las más recientes en 2024 en varios países europeos, incluida España (46), indican que también en países libres de polio y usuarios de la VPI la poliomielitis puede aparecer y propagarse en poblaciones o grupos de individuos que no estén adecuadamente inmunizados (47).

Globalmente, los principales desafíos siguen siendo la interrupción permanente de la transmisión de PVS en los países endémicos y el control de los brotes de PVDV2c en regiones no endémicas. Para ello, se necesitan vacunas más seguras que no causen poliomielitis, pero que produzcan una inmunidad intestinal suficiente para detener la transmisión de los PV. La poliomielitis deber seguir siendo motivo de preocupación en todo el mundo, y hay que continuar trabajando para evitar la circulación de PV y, finalmente, lograr la erradicación. 12

BIBLIOGRAFÍA

1. Kew OM, Sutter RW, DeGourville EM, Dowdle WR, Pallansch MA. Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annual Review of Microbiology*. 2005. 59:587-635.
2. WHO. Poliomyelitis: Key Facts. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/poliomyelitis>
3. Kew O, Pallansch M. Breaking the Last Chains of Poliovirus Transmission: Progress and Challenges in Global Polio Eradication. *Annu Rev Virol* [Internet]. 2018 Sep 29 [consultado 2 dic 2024];5(1):427-451.
4. Global Polio Eradication Initiative: <https://polioeradication.org/>
5. Polio Global Eradication Initiative. Polio Affected Countries. Último acceso enero 2025. Disponible en: <https://polioeradication.org/about-polio/where-we-work/>
6. Classification and reporting of vaccine-derived polioviruses. GPEI guidelines. Agosto 2016. Disponible en: https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/09/Reporting-and-Classification-of-VDP-Vs_Aug2016_EN.pdf
7. World Health Organization (WHO). Polio vaccines: WHO position paper-June 2022. *Weekly Epidemiol Report*, 2022, 97, 277-300. 2022. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-WER9725-277-300>
8. Laboratory support for poliomyelitis eradication: memorandum from a WHO meeting-PubMed [Internet]. [consultado 13 dic 2024]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2572355/>
9. Plan de acción en España para la erradicación de la poliomielitis 2024-2028 (julio 2024). Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/polio>
10. Polio Laboratory Manual. World Health Organization. 4th edition 2004. Disponible en: https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2017/05/Polio_Lab_Manual04.pdf
11. WHO/CDC Guidelines for enterovirus surveillance in support of the Polio Eradication Initiative. Disponible en: https://stacks.cdc.gov/pdfjs/web/viewer.html?file=https://stacks.cdc.gov/view/cdc/82809/cdc_82809_DSI.pdf
12. Cartera de servicios para el diagnóstico microbiológico y/o referencia del Centro Nacional de Microbiología. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/res/2023/11/14/5/dof/spa/pdf>
13. Cabrerizo M, Fernandez-García MD, Otero A, Higuera P. Programa de Enterovirus y Parálisis Flácida en menores de quince años. JE Echevarría; J Oteo (Editores). Centro Nacional de Microbiología. Programas de Vigilancia Microbiológica, ISCIII; 2021-2022. Disponible en: <https://repisalud.isciii.es/entities/publication/06825c9d-903f-48b8-ac7e-a2b1791d7b48>
14. Programa de vigilancia de Enterovirus y de Parálisis Flácida en menores de quince años. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Disponible en: <https://repisalud.isciii.es/entities/publication/cf9a0ee7-499f-4eaa-9fc9-20ffda7e0dd>
15. Melnick JL, Schmidt NJ, Hampil B, Ho HH. Lyophilized combination pools of enterovirus equine antisera: preparation and test procedures for the identification of field strains of 19 group A coxsackievirus serotypes. *Intervirology*. 1977;8(3):172-181.
16. González-Sanz R, Taravillo I, Reina J, Navascués A, Moreno-Docón A, Aranzamendi M et al. Enterovirus D68-associated respiratory and neurological illness in Spain, 2014-2018. *Emerg Microbes Infect*. 2019. 8(1):1438-1444.
17. Cabrerizo M, Echevarría JE, Gonzalez 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* [Internet]. 2008/04/23. 2008;80(6):1018-1024.
18. Global Polio Laboratory Network. Updates on ITD molecular assays and testing algorithm. August 9th 2016. Disponible en: <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2024/05/GP2-Updates-on-ITD-molecular-testing.pdf>
19. Gerloff N, Sun H, Mandelbaum M, Maher C, Nix WA, Zaidi S et al. Diagnostic assay development for poliovirus eradication. *J Clin Microbiol*. 2018. 56(2):e01624-01617.
20. Dunn G, Klapsa D, Wilton T, Stone L, Minor PD, Martin J. Twenty-Eight Years of Poliovirus Replication in an Immunodeficient Individual: Impact on the Global Polio Eradication Initiative. *PLOS Pathog* [Internet]. 2015 Aug 1 [consultado 7 feb 2025];11(8):e1005114.

- 21.** WHO Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. 2003. Disponible en: https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/WHO_V-B_03.03_eng.pdf
- 22.** Hjelmsø MH, Hellmér M, Fernandez-Cassi X, Timoneda N, Lukjancenko O, Seidel M et al. Evaluation of Methods for the Concentration and Extraction of Viruses from Sewage in the Context of Metagenomic Sequencing. PLoS One [Internet]. 2017 Jan 1 [consultado 3 dic 2024];12(1).
- 23.** Trallero G, Avellón A, Otero A, De Miguel T, Alonso M, Pérez-Breña P. Red de Laboratorios del Plan de Erradicación de la Poliomielitis (1998-2003): 6 años de vigilancia de parálisis flácida aguda en España. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2006 Mar 1 [consultado 3 dic 2024];24(3):167-172.
- 24.** Trallero G, Cabrerizo M, Avellón A. Papel del Laboratorio Nacional de Poliovirus en el Programa de erradicación y vigilancia de la poliomielitis. Rev Esp Salud Publica [Internet]. 2013 Sep [consultado 3 dic 2024];87(5):471-479.
- 25.** Avellón A, Trallero G, Merino B et al. y responsables del Plan de Contención de Poliovirus salvaje en los laboratorios españoles. Erradicación de la poliomielitis. Búsqueda y control de poliovirus salvajes almacenados en los laboratorios españoles. [Internet]. [Consultado 3 dic 2024]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X04730384>
- 26.** Avellón A, Cabrerizo M, De Miguel T, Pérez-Breña P, Tenorio A, Pérez JL et al. Paralysis case and contact spread of recombinant vaccine-derived poliovirus, Spain. Emerging Infectious Diseases. 2008. 14(11):1807-1809.
- 27.** Ministerio de Sanidad, Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES). Evaluación rápida de riesgo. Riesgo asociado a la importación de virus de la poliomielitis en España. 2019. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/poliol/docs/ERR_poliovirus.pdf
- 28.** Fernandez-Garcia MD, Faye M, Diez-Fuertes F, Moreno-Docón A, Chirlaque-López MD, Faye O et al. Metagenomic sequencing, molecular characterization, and Bayesian phylogenetics of imported type 2 vaccine-derived poliovirus, Spain, 2021. Front Cell Infect Microbiol. 2023. 2:13:1168355.
- 29.** López MDC, Cabrerizo M, Herrador BRG, Masa-Calles J, Alarcón-Linares ME, Allende A et al. An imported case of vaccine-derived poliovirus type 2, Spain in the context of the ongoing polio Public Health Emergency of International Concern, September 2021. Eurosurveillance. 2021. 26(50):2101068.
- 30.** Trallero G, Casas I, Tenorio A, Echevarria JE, Castellanos A, Lozano A et al. Enteroviruses in Spain: Virological and epidemiological studies over 10 years (1988-97). Epidemiol Infect. 2000. 124(3):497-506 124(3):497-506.
- 31.** Trallero G, Avellón A, Otero A, De Miguel T, Pérez C, Rabella N et al. Enteroviruses in Spain over the decade 1998-2007: Virological and epidemiological studies. J Clin Virol. 2010. 47(2):170-176.
- 32.** Calderón KI, Díaz-de Cerio M, Otero A, Muñoz-Almagro C, Rabella N, Martínez-Rienda I et al. Molecular epidemiology of coxsackievirus B3 infection in Spain, 2004-2014. Arch Virol. 2016. 161(5):1365-1370.
- 33.** Cabrerizo M, Díaz-Cerio M, Muñoz-Almagro C, Rabella N, Tarragó D, Romero MP et al. Molecular epidemiology of enterovirus and parechovirus infections according to patient age over a 4-year period in Spain. J Med Virol. 2017. 89(3):435-442.
- 34.** Cabrerizo M, Trallero G, Simmonds P. Recombination and evolutionary dynamics of human echovirus 6. J Med Virol. 2014. 86(5):857-864.
- 35.** Avellón A, Rubio G, Palacios G, Casas I, Rabella N, Reina G et al. Enterovirus 75 and aseptic meningitis, Spain, 2005. Emerg Infect Dis [Internet]. 2006 [consultado 3 dic 2024];12(10):1609-1611.
- 36.** Cabrerizo M, Echevarria JE, Otero A, Lucas P, Trallero G. Molecular characterization of a coxsackievirus A24 variant that caused an outbreak of acute haemorrhagic conjunctivitis in Spain, 2004. J Clin Virol. 2008. 43(3):323-327.
- 37.** Martínez-López N, Muñoz-Almagro C, Launes C, Navascués A, Imaz-Pérez M, Reina J et al. Surveillance for enteroviruses associated with hand, foot, and mouth disease, and other mucocutaneous symptoms in Spain, 2006-2020. Viruses. 2021. 28(13):781.
- 38.** Cabrerizo M, García-Iñiguez JP, Munell F, Amado A, Madurga-Revilla P, Rodrigo C et al. First Cases of Severe Flaccid Paraly-

sis Associated with Enterovirus D68 Infection in Spain, 2015-2016. *Pediatr Infect Dis J*. 2017. 36(12):1214-1216.

39. Benschop KSM, Albert J, Anton A, Andres C, Aranzamendi M, Armannsdottir B *et al*. Re-emergence of enterovirus d68 in europe after easing the covid-19 lockdown, september 2021. *Eurosurveillance*. 2021. 26(45):2100998.

40. González-Sanz R, Casas-Alba D, Launes C, Muñoz-Almagro C, Montserrat Ruiz-García M, Alonso M *et al*. Molecular epidemiology of an enterovirus A71 outbreak associated with severe neurological disease, Spain, 2016. *Eurosurveillance*. 2019. 24(7):1800089.

41. Ministerio de Sanidad. 2º Estudio de Seroprevalencia en España. *Rev Esp Salud Pública*. 2021; Vol. 95: 18 de marzo e1-5; 2021. Disponible en: <https://ojs.sanidad.gob.es/index.php/resp/article/view/471/714>

42. World health organization (WHO), Vaccine-preventable disease surveillance data. Disponible en: <https://www.who.int/europe/teams/vaccine-preventable-diseases-immunization/vaccine-preventable-disease-surveillance-data>

43. Masa-Calles J, Torner N, López-Perea N, De Mier M de VT, Fernández-Martínez B, Cabrerizo M *et al*. Acute flaccid paralysis (AFP) surveillance: challenges and opportunities from 18

years' experience, Spain, 1998 to 2015. *Eurosurveillance*. 2018. 23(47):1700423.

44. Link-Gelles R, Lutterloh E, Ruppert PS, Backenson PB, St. George K, Rosenberg ES *et al*. Public health response to a case of paralytic poliomyelitis in an unvaccinated person and detection of poliovirus in wastewater-New York, June-August 2022. *Am J Transplant [Internet]*. 2022 Oct 1 [consultado 13 dic 2024];22(10):2470-2474.

45. Klapsa D, Wilton T, Zealand A, Bujaki E, Saxentoff E, Troman C *et al*. Sustained detection of type 2 poliovirus in London sewage between February and July, 2022, by enhanced environmental surveillance. *Lancet (London, England) [Internet]*. 2022 Oct 29 [consultado 13 dic 2024];400(10362):1531-1538.

46. Böttcher S, Kreibich J, Wilton T, Saliba V, Blomqvist S, Al-Hello H *et al*. Detection of circulating vaccine-derived poliovirus type 2 (cVDPV2) in wastewater samples: a wake-up call, Finland, Germany, Poland, Spain, the United Kingdom, 2024. *Eurosurveillance [Internet]*. 2025 Jan 23 [consultado 7 feb 2025];30(3):2500037.

47. Rendi-Wagner P, Kluge H. Poliovirus detections in Europe-urgent action needed to keep Europe polio-free. *Eurosurveillance [Internet]*. 2025 Jan 30 [consultado 7 feb 2025];30(4):2500076.