

Vigilancia ambiental de la circulación de poliovirus en tres municipios considerados como punto transitorio de migrantes en Colombia 2017-2019

María Mercedes González-De Schroeder^{1,2,*}, Jose Fernando Gómez-Hincapie¹, Sara Celis-Castaño^{1,3}, Magile C. Fonseca⁴, Diana Patricia Londoño-Buriticá^{1,5}, José Joaquín Vila-Ortega^{1,6}, Alejandra María Giraldo-García^{1,7}, Leonardo Padilla-Sanabria^{1,8}, Luis Sarmiento-Perez⁹, Jhon Carlos Castaño-Osorio^{1,10}

Resumen

Objetivo: Determinar la circulación de poliovirus en tres municipios considerados como punto transitorio de migrantes en Colombia.

Material y método: Se colectaron muestras de aguas residuales (n=36) de municipios fronterizos, seleccionados por mayor tránsito de migrantes regulares como irregulares, en el periodo comprendido entre el 2017-2019. Las muestras fueron concentradas y cultivadas siguiendo el algoritmo de vigilancia ambiental para la circulación de poliovirus de la Organización Mundial de la Salud (OMS). La identificación molecular se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa empleando cebadores específicos de grupo, de serotipo y de cepa vacunal sabin.

Resultados y Discusión: Se detectó la presencia de Enterovirus no polio (EVNP) en las muestras ambientales obtenidas y no se halló circulación de poliovirus derivados de la vacuna ni de poliovirus salvaje en los tres municipios evaluados; sin embargo en dos estudios previos publicados por Gonzalez y col con una metodología similar en el año 2005 y 2015 evaluando las aguas residuales de la ciudad de Armenia-Quindío; se logró identificar la presencia de virus derivado de vacuna, con resultados negativos para la identificación de poliovirus salvaje.

Conclusiones: Los hallazgos indican que el sistema de monitoreo de aguas residuales con el fin de determinar la presencia de virus es una herramienta útil para realizar vigilancia ambiental.

Palabras clave: vigilancia ambiental, poliovirus, enterovirus.

Environmental surveillance of the circulation of poliovirus in municipalities considered as transitory point of migrants in Colombia 2017-2019

Abstract

Objective: To determine the circulation of poliovirus in three municipalities considered as transitory points for migrants in Colombia.

Material and Method: Wastewater samples (n = 36) were collected from border municipalities, selected for greater transit of regular and irregular migrants, in the period between 2017-2019. The samples were concentrated and cultured following the World Health Organization (WHO) environmental surveillance algorithm for poliovirus circulation. Molecular identification was performed by polymerase chain reaction using group-specific, serotype and sabin vaccine strain primers.

Results: The presence of non-polio Enterovirus (NPV) was detected in the environmental samples obtained and no circulation of poliovirus derived from the vaccine or wild poliovirus was found in the three evaluated municipalities; However, in two previous studies published by Gonzales et al with a similar methodology in 2005 and 2015 evaluating the wastewater of the city of Armenia-Quindío; it was possible to identify the presence of virus derived from vaccine, with negative results for the identification of wild poliovirus.

Conclusions: The findings indicate that the wastewater monitoring system in order to determine the presence of viruses is a useful tool to carry out environmental surveillance.

Key words: environmental monitoring, poliovirus, enterovirus

1 Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío, Armenia 630003, Colombia

2 <https://orcid.org/0000-0001-5630-5557>

3 0000-0003-3483-4938

4 Laboratorio de Enterovirus, Departamento de Virología, Instituto Pedro Kourí de Medicina Tropical, Habana 11400, Cuba. <https://orcid.org/0000-0002-5419-5136>

5 <https://orcid.org/0000-0002-7567-7150>

6 0000-0001-9358-4903

7 <https://orcid.org/0000-0002-2084-4505>

8 <https://orcid.org/0000-0001-5811-2791>

9 Immunovirology Unit, Department of Clinical Sciences, Skåne University Hospital, Lund University, Malmö 21428, Sweden. <https://orcid.org/0000-0002-3694-1211>

10 <https://orcid.org/0000-0002-7639-3053>

* Autor para correspondencia:

Correo electrónico: mmgonzalez@uniquindio.edu.co
(M.M.G.); Tel.: (576)-746-0129 (M.M.G.)

Recibido: 28/06/2021; Aceptado: 21/08/2021

Cómo citar este artículo: M.M. González-De Schroeder, *et al.* Vigilancia ambiental de la circulación de poliovirus en tres municipios considerados como punto transitorio de migrantes en Colombia 2017-2019. *Infectio* 2022; 26(2): 107-112

Introducción

Cuando la Asamblea Mundial de la Salud (1988) declaró su compromiso con la erradicación y se formó la Iniciativa de Erradicación Mundial de la Poliomielitis (IEMP) en pos de este objetivo, se registraron 350 000 casos anuales de (virus polio salvaje) WPV en 125 países. Los logros de la IEMP son evidentes no solo en el retiro de WPV en diferentes rincones geográficos del mundo, sino también en la eliminación sucesiva de tipos de WPV. En el 2012 WPV no se volvió a presentar, el WPV1 no ha desaparecido, pero su incidencia se ha reducido en más del 90%; para el año 2015 el WPV tipo 2 fue declarado erradicado. Y en octubre de 2018 se logró la certificación mundial de erradicación del poliovirus salvaje tipo 3 (WPV3)¹.

El desarrollo del programa de erradicación de la poliomielitis, se llevo a cabo con el apoyo de la vigilancia ambiental en todo el mundo, permitiendo confirmar la desaparición del poliovirus salvaje o poliovirus derivado de la vacuna. Esta vigilancia ambiental ha demostrado ser un método eficiente y sensible para la detección de virus que teóricamente detectan una persona infectada de cada 10.000 personas usando como muestra las aguas residuales².

Colombia, por su posición geográfica, se ha convertido en ruta para todo aquel migrante que busca llegar a Sudamérica, Centro o Norteamérica. Según Migración Colombia, alrededor de 34.000 migrantes irregulares fueron detectados en diferentes zonas del territorio nacional durante el año 2016. Los extranjeros, provenientes en su gran mayoría de Haití (20.366), Cuba (8.167), India (874), Congo (570) y Nepal (553), fueron ubicados principalmente en los departamentos de Antioquia, Nariño y Valle del Cauca. Estos departamentos son los más importantes corredores viales utilizados por migrantes irregulares y por las redes dedicadas al tráfico de estas personas. Las rutas que se han identificado utilizan como puntos de entrada los departamentos de Putumayo y Amazonas, hacen tránsito por el departamento del Valle del Cauca y tienen como objetivo final el municipio de Turbo, en el departamento de Antioquia, de donde continúan hacia Centroamérica³. Así mismo, la comisión de Certificación Regional en el mes de julio de 2019, actualizó la evaluación del riesgo ante la importación de reemergencia de brotes por virus polio; tres países del continente se catalogan como de alto riesgo (Guatemala, Haití y Venezuela); pese a que Colombia se cataloga en bajo riesgo, el alto flujo de migrantes derivados del país fronterizo el cual reporta flujo migratorio regular de 263.331 ciudadanos venezolanos e irregular de 153.000 ciudadanos para el año 2017⁴. Para el año 2018 la migración fue de más de 174.000 venezolanos y para el 2019 el Ministerio de Relaciones Exteriores presenta la cifra de más de 1.825.000 venezolanos en el país⁵; entre estos niños menores de 5 años que son susceptibles al ingresar al país con esquemas de vacunación incompletos para la edad⁶.

Desde el último caso de poliovirus salvaje en el municipio de Arjona (Bolívar) en 1991; el país se ha mantenido libre de la circulación de este virus durante 30 años. Para septiembre de

2019 la OMS determinó que dado el riesgo de transmisión internacional de poliovirus, de debe mantener el estatus de "Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESSPII)" para esta enfermedad⁷. Por lo anteriormente expuesto, debe considerarse la posibilidad de reintroducción del virus en Colombia debido a su condición de país receptor y de tránsito de población flotante, de migrantes irregulares, indocumentados, desplazados que provienen de países con bajas coberturas de vacunación o coberturas que no han sido divulgadas, e incluso de países en los que aún persiste el poliovirus de tipo salvaje. La detección de la importación de poliovirus, la transmisión posterior y la interrupción de las cadenas de transmisión requieren un alto nivel de integración de múltiples estrategias de vigilancia entre ellas la ambiental. Derivado de lo anterior, el presente estudio realizó una vigilancia ambiental en aguas residuales, con el objetivo de determinar la circulación de poliovirus en tres municipios considerados como punto transitorio de migrantes en Colombia.

Materiales y métodos

Para determinar la presencia de poliovirus en muestras de aguas residuales en los municipios se realizó un estudio exploratorio transversal, entre los años 2017-2019. La selección de los sitios de muestreo se realizó sobre la base de los municipios por los cuales ingresa la mayor población de migrantes regulares e irregulares : Cali (Valle del Cauca) con una población censada de 3.789.874 habitantes⁸, zona de tránsito de migrantes provenientes del sur del país; Cúcuta (Norte de Santander) con una población de 668.838 ⁹, zona de tránsito de la frontera con Venezuela, y Turbo (Antioquia) con una población de 252.837 personas¹⁰; este municipio se encuentra ubicado en la única región costera de Antioquia por lo que se convierte en la salida del departamento al mar y zona de tránsito hacia el departamento del Chocó, con destino Panamá.

Para la obtención de la muestra en cada municipio, se ubicaron los puntos de recolección en los sitios finales de las descargas de alcantarillado, de aguas circundantes o de los receptores de vertederos de aguas residuales las cuales se tomaron de manera seriada, cada tres o cuatro meses entre los años 2017-2019 con el fin de encontrar mayores posibilidades de concentración viral en las aguas circulantes. Los sitios determinados para la toma de las muestras fueron los siguientes: Cali: planta de tratamiento de aguas residuales (PETAR, n=12); Turbo (Antioquia): estación de bombeo, Ebar, ciudadela Bolívar (n=12) ; Cúcuta : Caño Picho, el Rodeo, Cormoranes (n=12) (Figura 1).

Toma de muestras en aguas residuales

Las muestras fueron obtenidas directamente de los puntos de colección, en recipientes plásticos nuevos de 500 ml, rotulados y transportados en cadena de frío 4° C hasta el laboratorio del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío. Una vez en el laboratorio, se procesaron dentro de las primeras 48 horas de la recolección. Aquellas

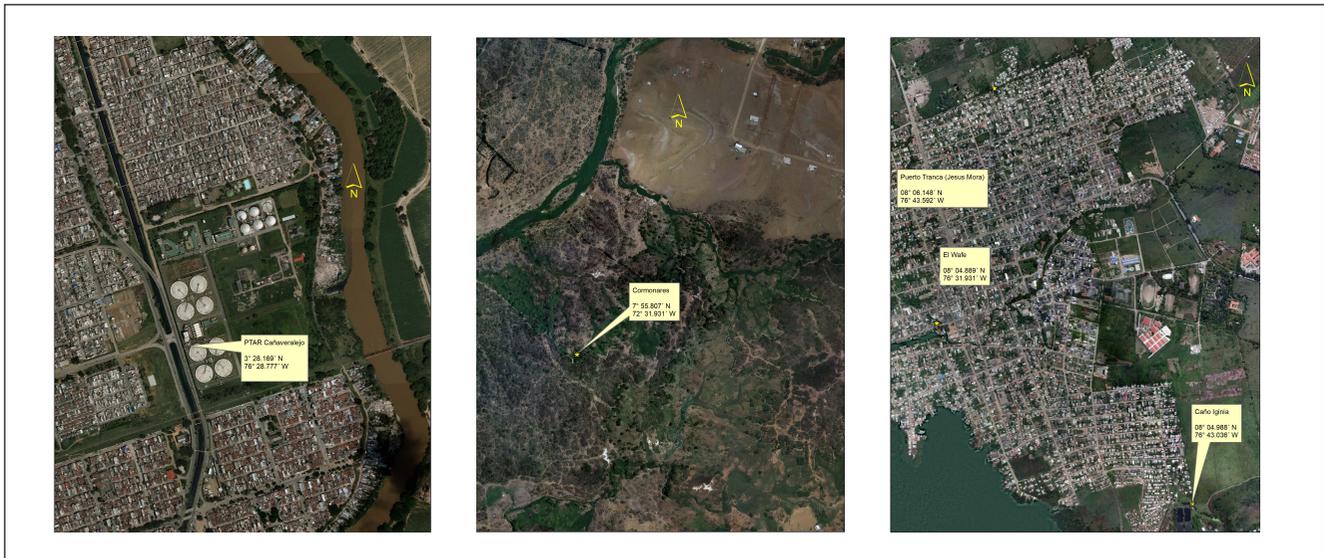


Figura 1.

que no se procesaron dentro de este intervalo fueron conservadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. El muestreo se llevó a cabo de acuerdo con los procedimientos de buenas prácticas para proteger al responsable de tomar las muestras o prevenir la contaminación cruzada entre ellas, donde se hizo la recuperación y concentración de los virus.

Concentración de partículas virales

Las aguas residuales colectadas fueron procesadas mediante el “método de separación de dos fases”, recomendado por la OMS, que se basa en el empleo de un volumen de 500 ml colectado a partir de un litro de aguas residuales¹¹.

Determinación de la presencia de poliovirus

Se emplearon las líneas celulares RD (ATCC® CCL-136™) y L20B (National Institute for Biologicals Standards and Control [NIBSC], UK), siguiendo los procedimientos generales *recomendados por la OMS* para el diagnóstico de EV - poliovirus⁵, (Figura 2).

La inoculación de las células se efectuó en cabina de flujo laminar clase II, tomando un criovial de 2 ml de las muestras almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para descongelarlo de forma progresiva. Se sembraron 80.000 células L20B y RD por pozo sobre placas de 24 pozos, en medio MEM suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, HEPES al 1%, bicarbonato de sodio al 2%, aminoácidos esenciales al 1% y antibiótico/antimicótico al 2%. Posteriormente se incubaron a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con 5% de CO_2 hasta que alcanzaron una confluencia entre el 80 y 90 %. Las muestras concentradas se inocularon a razón de 200 μL por pozo en los sistemas celulares anteriores, previo cambio del medio de crecimiento por el medio de mantenimiento (SFB al 2%) y se observó en el microscopio invertido los cambios en su morfología durante los siguientes 5 días. Para la evaluación del efecto citopático (ECP) se empleó el procedimiento para identificación y aislamiento de EV propuesto por la OMS.

Determinación intra típica de los aislados

De aquellas muestras que presentaron efectos citopáticos, se procedió a la extracción de ARN, utilizando el Invisorb® Spin Virus RNA Mini Kit siguiendo las consideraciones generales recomendadas por el fabricante. la cantidad de ARN se cuantificó mediante un espectrofotómetro (Epoch®).

La retrotranscripción y amplificación por PCR se realizó, utilizando el kit comercial SuperScript® III Platinum® One-Step RT-PCR en la siguiente mezcla de reacción: 3 μL de ARN, 16,5 μL de H_2O libre de nucleasas, 1,5 μL de SuperScript III RT/Platinum Taq, 25 μL de pre-mezcla 2X, 2,0 μL de primer A, 2,0 μL de primer B. Los parámetros de termociclador fueron los siguientes: transcripción inversa (RT) a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 18 min, inactivación de RT a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 ciclos de $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 45 segundos y $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 45 s y $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 45 s; finalmente la mezcla de reacción se mantuvo durante 7 min a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se emplearon 4 juegos de iniciadores distribuidos de la siguiente manera: Cebadores genéricos (EV) que hibridan con sitios altamente conservados dentro de la región 5' no codificante del genoma de los Enterovirus permitiendo la amplificación de una secuencia de 114 pb común para todos los enterovirus B. Cebadores específicos del grupo de los poliovirus (Pan PV) que permiten la amplificación de una secuencia de 79 pares de bases (pb) común los 3 serotipos de poliovirus. C. Cebadores específicos de serotipo (PV) que permiten la amplificación de una secuencia de 70, 79 y 140 pb de las cepas tanto vacunales como salvajes de los serotipos de poliovirus 1, 2 y 3 respectivamente¹². Cebadores específicos de las cepas vacunales (Sabin) que permiten la amplificación de una secuencia de 97 pb, 71 pb, y 44 pb de la cepa vacunal Sabin 1, Sabin 2 y Sabin 3 respectivamente, excluyendo la amplificación cruzada con genotipos de poliovirus salvajes¹³. Se utilizó como control positivo vacuna oral antipolio.

Para la visualización del producto de amplificación se utilizó un gel de agarosa al 2%, se adiciono 4 μL de SYBR Green, se utilizaron 4 μL de marcador de peso molecular Hypper

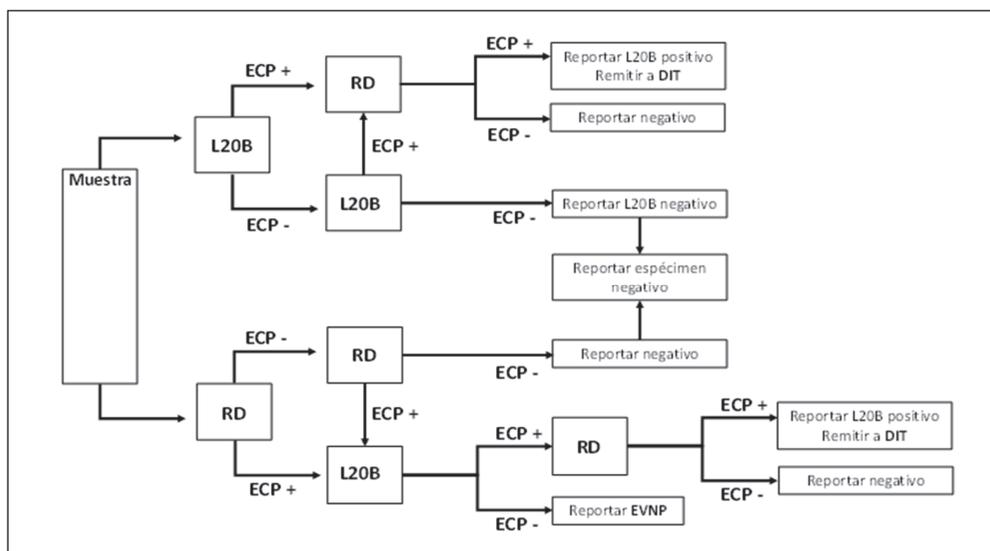


Figura 2.

ladder™ 50bp que permite la identificación del peso de las bandas desde 50 pb hasta 2000 pb, posteriormente se aplicó una potencia de 100 Voltios durante 40 minutos, finalmente los geles se observaron sobre un transiluminador.

Resultados

Del total de 36 muestras recolectadas en los municipios 3 con alto tránsito de inmigrantes, 6 fueron positivas en cultivo celular para la línea celular RD. La muestra de la ciudad de Cúcuta específicamente en la localidad de Caño Picho, presentó efecto citopático tanto en la línea celular RD como en la L20B. Todos los aislamientos, incluyendo el obtenido la muestra que presentó efecto citopático en las dos líneas utilizadas, fueron confirmados como enterovirus mediante la amplificación del genoma con cebadores genéricos de enterovirus. No se obtuvo amplificación con cebadores específicos para el grupo de poliovirus (tabla 1).

Discusión

El Plan Estratégico para la Erradicación de la Poliomielitis y Fase Final 2013-2018, tuvo como objetivo la erradicación del virus salvaje y la eliminación de los poliovirus circulantes derivados de la vacuna (cVDPV). Para enero de 2013, el Consejo Ejecu-

tivo de la OMS aprobó las metas y el cronograma del Plan Estratégico orientado a detectar e interrumpir la transmisión de los virus de la poliomielitis; a fortalecer los programas de inmunización, a retirar la vacuna oral trivalente por la bivalente oral (serotipos 1 y 3); así como a contener los virus de la poliomielitis existentes en los laboratorios del mundo¹⁴.

Ahora bien y pese a los grandes avances frente al tema, el Grupo Técnico Asesor de la Organización Panamericana de la Salud sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación en su reunión en el año 2017 en Panamá hizo énfasis en que debemos continuar vigilantes. Debido a ello, se exhortó a seguir trabajando aún más fuerte debido a que los crecientes movimientos migratorios, los eventos internacionales y el turismo representan un riesgo de reintroducción de enfermedades, incluso las ya erradicadas¹⁵. Aunque la región de las Américas continúa libre de la circulación de poliovirus salvaje, a nivel regional en 2017 se reportó un descenso en las coberturas de vacunación contra la polio, lo que lleva a que los niños no vacunados se hallen en riesgo y para lo cual se debe estar preparado¹⁶.

La Estrategia para la fase final de la erradicación de poliomielitis 2019-2023 manifiesta que se siguen presentando riesgos para lograr la erradicación a nivel mundial, los cuales comprenden: 1. La inseguridad y conflicto de las zonas afectas

Tabla 1. Datos de muestras positivas para cultivo y RT-PCR para enterovirus no polio.

Mes/año	Municipio	Localidad	Numero de muestras Positivas	Aislamiento Líneas celulares		RT-PCR
				RD	L20B	EVNP
Abril/2017	Cali	Planta de tratamiento de aguas residuales -PETAR	2	+	-	+
Mayo/2017	Cúcuta	El Rodeo	1	+	-	+
Junio/2018	Cúcuta	Belisario	1	+	-	+
	Cúcuta	Caño picho	1	+	+	+
Marzo/2019	Turbo	Ebar ciudadela Bolívar	1	+	-	+

por la poliomiélitis, la cual lleva a desplazamiento masivo 2. Sistemas de salud débiles: pues la pobreza extrema y el bajo acceso a servicios básicos lleva a encontrar niños no vacunados, lo que implica un riesgo para la circulación continua y los brotes derivados de la importación de poliovirus o la aparición de poliovirus derivada de la vacuna (VDPV) 3. Riesgos operacionales, de gestión y de recursos¹.

Es así como el reporte durante los últimos 5 años en algunos países se puede visualizar en (tabla 2).

Los reportes de casos de virus polio evidencian el riesgo que amenaza el éxito de la erradicación definitiva del virus polio a nivel mundial y la posibilidad de la reintroducción de virus polio en el país, derivado de la migración.

Es por ello que el presente estudio realizó la vigilancia ambiental en tres municipios con alto tráfico de migrantes, como lo son Calí, Cucuta y Turbo Antioquia; para ello tomo aguas residuales de puntos específicos en dichos municipios, realizo cultivo y pruebas moleculares que permitian la identificación de enterovirus no polio y poliovirus salvaje y vacunal. Dicha metodología permitio identificar enterovirus no polio en los tres municipios evaluados lo cual sustenta la capacidad del método empleado para la detección viral en el ambiente; y no se encontro amplificación tanto para poliovirus salvaje como vacunal; sin embargo en dos estudios previos y publicados por Gonzalez y col con una metodología similar en el año 2005 y 2019 evaluando las aguas residuales de la ciudad de Armenia-Quindio; se logro identificar la presencia de virus derivados de vacuna y con resultados negativos para poliovirus salvaje^{17, 18}.

El hallazgo de la no circulación de poliovirus vacunal para el periodo 2017-2019, puede ir en consonancia con uno de los objetivos del gobierno colombiano la cual consistia en aplicar una dosis de vacuna inactivada contra la poliomiélitis, a todos los niños y niñas nacidos a partir del 1 de diciembre de 2014 en el 100% de los municipios del país y a los sus-

ceptibles que iniciaban esquemas que fueran menores de 6 años¹⁴. Lo que explica una menor probabilidad de hallar virus vacunal en las muestras de aguas residuales evaluadas en este periodo, dado que la IPV se administra por vía intramuscular lo que no permite la expulsión de virus en la materia fecal por ser un virus inactivado, comparado con la vacuna oral (OPV) que es un virus atenuado y que se excreta en las heces contaminando las aguas residuales.

Por su parte el Instituto Nacional de Salud (INS), en su boletín epidemiológico del año 2019, presento un mapa de ponderación de riesgo de importación o reemergencia de polio en Colombia (ver figura 3); el cual pretendia evaluar el riesgo ante importación o reemergencia de brotes por virus polio,

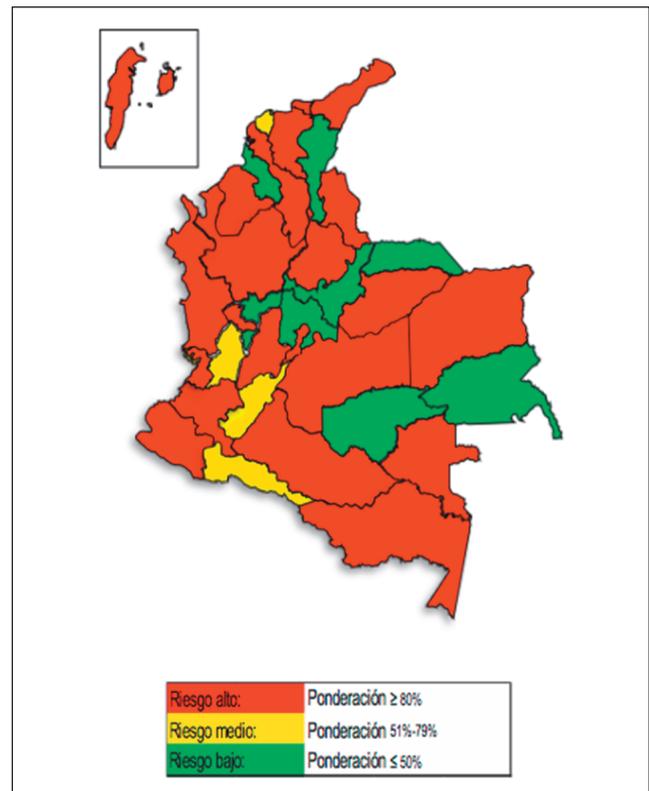


Figura 3.

Tabla 2. Reporte de casos en el periodo 2015-2020 por virus polio (virus salvaje y virus derivado de vacunal)

Año	Casos de Virus Salvaje VP1	Países	Casos de virus derivado de la vacuna en diferentes países.			
			VPdv1	VPdv2	VPdv3	total
2015	74	Afganistán y Pakistán	20	12	0	32
2016	37	Afganistán, Pakistán y Nigeria.	3	2	0	5
2017	22	Afganistán y Pakistán	0	96	0	96
2018	33	Afganistán y Pakistán	27	71	7	105
2019	176	Afganistán y Pakistán	11	357	0	368
2020 (reporte Ene- jun)	85	Afganistán y Pakistán	1	209	0	210

Fuente. Tomada y modificada de <https://vacunasaep.org/profesionales/noticias/polio-parte1-situacion-general-y-casos-por-virus-salvaje-VP1>

evidenciando que: el 64,4% de las entidades territoriales se clasifican como de riesgo alto, el 8,1% (3 departamentos) riesgo medio y el 27% (10 departamentos) de riesgo bajo⁷.

La figura anterior evidencia que los tres municipios evaluados en el periodo 2017-2019 se encuentran entre las entidades territoriales de riesgo de importación o reemergencia de polio con un riesgo alto, sin embargo; para el año 2020 el INS presento una disminución del porcentaje de las entidades territoriales con dicho riesgo pasando de 64,4% para el 2019 a 51% en el 2020. Así mismo documenta los factores de riesgo de importación a los que nos vemos expuestos como son: el riesgo de propagación internacional de WPV1 y cVDVP dado por el aumento de casos en países en conflicto o con bajas coberturas vacunales; la disminución de la inmunidad contra polio vacunal 2, al aumentar el número de niños nacidos después del retiro de la vacuna de polio oral 2 y la deficiencia de cobertura con la vacuna de polio inactivada, y finalmente los sistemas de inmunización débiles dados por diversas emergencias humanitarias, entre estas la aparición de la pandemia mediada por el virus SARS-CoV2.

En conclusión los hallazgos indican que el sistema de monitoreo utilizando aguas residuales con el fin de determinar la presencia de virus, es una herramienta útil para realizar vigilancia ambiental.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que ha seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflictos de interés. Los autores declaran que no existen conflictos de interés de ninguna índole.

Financiación. MinCiencias.

Agradecimientos. A Colciencias por el apoyo a este proyecto mediante la convocatoria 711/2015I Proyecto No. 773 con Código 1113-71149910 Colciencias. A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Quindío. Nuestros más sinceros agradecimientos a los funcionarios que hicieron posible la toma de las muestras en los municipios evaluados: en Cali: planta de tratamiento PTAR, Barrio Petecuy. Ingeniera Luz Helena Mora, ciudad de Cúcuta: AGUAS CAPITAL. Ingeniera Belkis Beltrán. Turbo-Antioquia: AGUAS DE URABA, Ingeniera Mónica Patricia Ramos. Operación y Mantenimiento de Acueducto y Alcantarillado.

Bibliografía

1. WHO. Polio Endgame Strategy 2019-2023. Eradication, integration, certification and containment. 2019. 2019.
2. Ozawa H, Yoshida H, Usuku S. Environmental surveillance can dynamically track ecological changes in Enteroviruses. *Appl Environ Microbiol.* 2019; 85(24). <https://doi.org/10.1128/aem.01604-19>
3. Ministerio de Relaciones exteriores. Comunicado de prensa 4 [Internet]. 2017 [cited 2021 Apr 28]. Available from: <https://www.migracioncolombia.gov.co/noticias/cerca-de-34-mil-migrantes-irregulares-fueron-detectados-por-migracion-colombia-en-2016>
4. Ministerio de Relaciones exteriores. Radiografía de Venezolanos en Colombia. Migración, Ministerio de Relaciones Exteriores. [Internet]. 2017 [cited 2021 Apr 28]. Available from: https://www.migracioncolombia.gov.co/documentos/comunicaciones/infografias/radiografia_web_2017.pdf
5. J P-V. La salud mental en Colombia y la ley 100 de 1993: oportunidades y amenazas. *Rev Colomb Psiquiatr.* 2003;XXXII(Su1):6-12.
6. OMS/OPS. Inmunización: Datos de cobertura [Internet]. 2018 [cited 2021 Apr 28]. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rdmore&cid=7345&item=inmunizacion&cat=statistics&type=datos-cobertura-7345&Itemid=40927&lang=es
7. INS. Logros en la erradicación de la poliomieltis y su mantenimiento mediante una vigilancia sensible de la Parálisis Flácida Aguda [Internet]. Boletín epidemiológico semana 44 del 2019. 2019. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019_Boletin_epidemiologico_semana_44.pdf
8. DANE. Resultados Censo Nacional de Población y Vivienda 2018 Barranquilla, Atlántico [Internet]. 2019 [cited 2021 Apr 28]. p. 36. Available from: <https://www.dane.gov.co/files/censo2018/informacion-tecnica/presentaciones-territorio/191003-CNPV-presentacion-Huila.pdf>
9. DANE. Censo Nacional de Población y Vivienda 2018, DANE [Internet]. 2019 [cited 2021 Apr 28]. Available from: <https://sitios.dane.gov.co/cnpv/app/views/informacion/fichas/54.pdf>
10. CÁMARA DE COMERCIO DE URABÁ. Informe socioeconómico 2016 CÁMARA DE COMERCIO DE URABÁ [Internet]. 2017. [cited 2021 Apr 28]. Available from: <http://ccuraba.org.co/site/wp-content/uploads/2017/03/INFORME-SOCIOECONOMICO-2016.pdf>
11. World Health Organization (WHO). Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation Guidelines for environmental. *Vaccine Biol* [Internet]. 2003;03(03):28. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67854/WHO_V-B_03.03_eng.pdf?sequence=1
12. Kilpatrick DR, Nottay B, Yang CF, Yang SJ, Mulders MN, Holloway BP, et al. Group-specific identification of polioviruses by PCR using primers containing mixed-base or deoxyinosine residues at positions of codon degeneracy. *J Clin Microbiol.* 1996;34(12):2990-6. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.12.2990-2996.1996>
13. Chen-Fu Y, De L, Holloway BP, Pallansch MA, Kew OM. Detection and identification of vaccine-related polioviruses by the polymerase chain reaction. *Virus Res.* 1991;20(2):159-79. DOI: 10.1016/0168-1702(91)90107-7
14. Ministerio de Salud y Protección Social - Colombia. Lineamientos Técnicos y Operativos para la Introducción - Universalización de la Vacuna Inactivada contra la Poliomieltis -VIP, en el Esquema de Vacunación Permanente del Programa Ampliado de Inmunizaciones -PAI. Colombia, Enero 2015. [Internet]. [cited 2021 Apr 28]. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/PAI/Lineamiento-introduccion-vacuna-vip.pdf>
15. OMS/OPS. XXIV Reunión del Grupo Técnico Asesor (GTA) sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación [Internet]. 2017 [cited 2021 Apr 28]. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=informes-finales-gta-1627&alias=42499-24-gta-informe-final-2017-499&Itemid=270&lang=es
16. OMS/OPS. La polio es aún un riesgo ¿estamos preparados para enfrentarla? [Internet]. 2018 [cited 2021 Apr 28]. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&alias=46722-wpd-2018-la-polio-es-aun-un-riesgo-estamos-preparados-para-enfrentarla&category_slug=presentaciones-8252&Itemid=270&lang=es
17. González MM, Fonseca MC, Rodríguez CA, Giraldo AM, Vila JJ, Castaño JC, et al. Environmental surveillance of polioviruses in armenia, Colombia before trivalent oral polio vaccine cessation. *Viruses.* 2019;11(9). doi:10.3390/v11090775
18. González MM, Sarmiento L, Castaño JC, Giraldo AM, Salazar A, Muñoz NJ. Detección de poliovirus en aguas residuales de Armenia, Colombia. *Rev Salud Publica.* 2006;8(SUPPL. 1):13-23.