

Investigaciones de laboratorio para monitorear el proceso de eliminación de la rubéola. Cuba 1988 - 2005

Maria A Ribas, Gretel Acosta, Miguel Galindo, Marlen Valcarcel, Guadalupe Guzmán, Deneb García, Yahisel Tejero, Dainelid Piedra

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", P.O.Box 601. Marianao. Ciudad Habana. Cuba, MINSAP, Habana. Cuba. Email: maribas@ipk.sld.cu

Resumen

En Cuba, después de la implementación del programa de eliminación del sarampión, la incidencia de esta enfermedad disminuyó y fue necesario comenzar a diagnosticar al virus de la rubéola como posible agente causal de un síndrome febril con rash.

A través de los años 1988 al 2005, se recibieron en el laboratorio un total de 13701 muestras de todas las provincias del país a las cuales se les realizó el diagnóstico de sarampión, rubéola y dengue, empleando para ello diferentes técnicas como la IH, Ensayo Ultramicroanalítico (SUMA) y aislamiento viral.

A partir de 1995 se introdujo el ELISA para la detección de anticuerpos de tipo IgM. Más recientemente se normalizó la técnica de PCR. Las investigaciones de laboratorio se realizaron en el 100% de los casos.

El laboratorio ha podido monitorear la disminución de los casos reportados de rubéola a través de los años, después de implementada la vacunación con la triple viral (sarampión, rubéola y parotiditis). Los tres últimos casos autóctonos de rubéola confirmados por el laboratorio ocurrieron en el país en 1995.

En el 2004, a más de 10 años de realizada la vacunación con la triple viral, se confirmó la importación de un brote de rubéola que afectó a nuestra población adulta joven, procedente de un país de la región donde aun se produce la enfermedad. En este brote no se pudo conocer el genotipo circulante, por la baja calidad de la muestra enviada para aislamiento.

Todos estos años de trabajo demostraron la importancia de las investigaciones de laboratorio en el programa de eliminación de la rubéola y el SRC que Cuba lleva a cabo

Materiales y Métodos

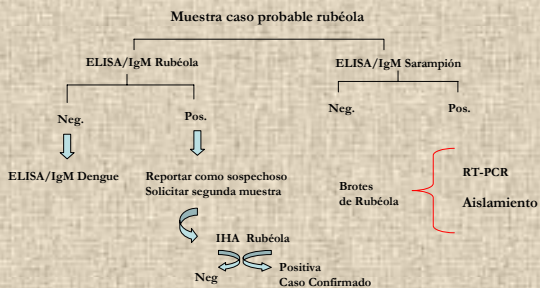
✓ Entre 1995 al 2005, 13 701 muestras con diagnóstico probable de infección por los virus del sarampión y / o rubéola procedentes de diferentes provincias en el país fueron confirmadas en el laboratorio.

✓ Los sueros parados recogidos entre 1988 y 1994, tomados en la fase aguda y convalescente de la enfermedad fueron estudiados por IH y SUMA y en 1995 se comenzó a realizar el ELISA/IgM en una sola muestra tomada al tercer día de iniciados los síntomas.

✓ En febrero del 2004 se estudiaron en el laboratorio un total de 108 muestras de suero con el diagnóstico probable de infección por el virus de la rubéola, pertenecientes a 65 estudiantes venezolanos y 43 trabajadores cubanos de la escuela de trabajadores sociales de Santiago de Cuba, Ciudad Habana y Villa Clara.

✓ Se recibieron además muestras de exudado nasofaríngeo y orina para aislamiento viral y RT-PCR. Estas muestras no llegaron al laboratorio en condiciones óptimas, no obstante, fueron empleadas en el diagnóstico.

Flujograma de trabajo de los casos con diagnóstico de rubéola



Resultados

Tabla No. 1: Total de muestras estudiadas y casos positivos al virus de la rubéola confirmados por el laboratorio. Cuba 1988-2005.

Años	Muestras	Positivos	Porcentaje
1988	302	163	54.0
1989	187	175	93.58
1990	630	25	3.96
1991	1215	25	2.05
1992	1007	4	0.39
1993	595	8	1.34
1994	324	4	1.23
1995	146	2	2.05
1996	132	0	0.0
1997	327	0	0.0
1998	701	0	0.0
1999	1122	0	0.0
2000	1814	0	0.0
2001	1087	0	0.0
2002	900	0	0.0
2003	1068	0	0.0
2004	822	18	2.2
2005	1322	0	0
Total	13701	424	3.09%

Tabla No.3: Resultados de laboratorio de los casos positivos del brote/2004.

Caso	Fecha primer suero	IgM	Fecha segundo suero	IgM	IH
1.-	5d	+	18d	+	+
2.-	3d	+	29d	+	+
3.-	8d	+	17d	+	+
4.-	5d	+	9d	+	-
5.-	7d	+	7d	+	-
6.-	5d	-	17d	+	+
7.-	7d	-	7d	+	+
8.-	5d	+	9d	+	+
9.-	5d	+	15d	+	+
10.-	6d	+	NR	+	NR
11.-	3d	+	13d	+	NR
12.-	9d	+	NR	NR	NR
13.-	4d	+	7d	+	-
14.-	7d	+	NR	NR	NR
15.-	5d	+	7d	+	-
16.-	8d	+	27d	+	+
17.-	6d	+	NR	NR	NR
18.-	3d	+	17d	+	+

* NR: No realizado

Palabras Claves: Rubéola, Diagnóstico de laboratorio, Vigilancia, ELISA/IgM.

Antecedentes

• La disponibilidad de incorporar los métodos de laboratorio para la confirmación de los casos sospechosos de rubéola y SRC en Cuba, han sido de gran importancia para la vigilancia y el control de esta patología.

• El objetivo de nuestro trabajo es mostrar como desde 1988 se ha realizado un encomiable esfuerzo en aumentar las capacidades del diagnóstico, incorporando técnicas más rápidas, sensibles y sencillas que han permitido disminuir el tiempo de los resultados y han ayudado a las investigaciones epidemiológicas en la toma rápida de decisiones.

• A través de estos años de trabajo, se ha podido demostrar que la participación del laboratorio en la confirmación de los casos sospechosos ha sido creciente, hasta resultar imprescindible para poder declarar eliminada la enfermedad.

Técnicas de laboratorio empleadas en el estudio:

- 1.- Preparación del antígeno de rubéola para la realización de las técnicas IH y SUMA.
- 2.- Detección de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación al virus de la rubéola.
- 3.- Sistema Ultramicroanalítico (SUMA) para la detección de anticuerpos al virus de la rubéola (IPK/Cuba).
- 4.- Inmunoensayo enzimático (ELISA) de captura para la detección de anticuerpos al virus de la rubéola (Rubenostika IgM II, Biomérieux, Suiza).
- 5.- Inmunoensayo enzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos de tipo IgM al virus del sarampión. (Enzygnost Anti-Virus del Sarampión/IgM, DADE Behring, Germany).
- 6.- ELISA de captura de anticuerpos IgM al virus del Dengue (IPK/Cuba).
- 7.- Aislamiento Viral, Células Vero (ATCC/Rockville, Maryland, USA).
- 8.- RT-PCR múltiple (Sarampión, Rubéola, Parvovirus B19) (Protocolo, Instituto Carlos III, Madrid, España).

Tabla No. 2: Muestras con el diagnóstico de rubéola estudiadas por ELISA /IgM a los virus del sarampión y Dengue. Cuba (2000/2005).

Año	Estudio por ELISA IgM		
	Rubéola	Sarampión	Dengue*
2000	1814 (0)	1814 (0)	600(0)
2001	1087 (0)	1087 (0)	500(0)
2002	900 (0)	900 (0)	350(0)
2003	1068 (0)	1068 (0)	868(0)
2004	822 (18)	822 (0)	822(0)
2005	1322 (0)	1322 (0)	500(0)
Total	7013 (18)	7013 (0)	3640(0)

Los datos son expresados en número de muestras estudiadas (Positivos)
* No se realizó IgM/Dengue a todas las muestras negativas

Conclusiones

- 1.- El diagnóstico de laboratorio ha permitido la confirmación de los casos de rubéola, diagnosticados por criterios clínicos y epidemiológicos.
- 2.- La vigilancia estrecha a los casos de rubéola nos ha permitido conocer la no existencia de casos confirmados por el laboratorio desde 1995 al 2003.
- 3.- En el año 1989 el laboratorio confirmó, a través de la técnica IH y el SUMA, un brote de rubéola en la provincia de Matanzas en adultos jóvenes, del sexo masculino entre 15 a 20 años de edad.
- 4.- En las muestras con diagnóstico de rubéola estudiadas por ELISA/IgM a los virus del sarampión y el dengue no se encontraron casos positivos a los mismos.
- 5.- En febrero del 2004 se realiza la confirmación de un brote de rubéola importado desde Venezuela en las provincias de Santiago de Cuba y un caso en C. Habana.
- 6.- En el brote de Santiago de Cuba no hubo seroconversión por IH cuando hubo menos de 15 días entre la toma del primer y segundo sueros.
- 7.- Se evidenció la necesidad de garantizar una adecuada toma y transporte de la muestra al laboratorio para realizar el aislamiento y los estudios moleculares.
- 8.- El ELISA para la detección de anticuerpos de tipo IgM ha demostrado ser muy útil para el diagnóstico rápido de la enfermedad.
- 9.- La vigilancia seroepidemiológica es esencial en el programa de eliminación de la rubéola para poder monitorear el acúmulo de susceptibles, la carga de la enfermedad y la transmisión del virus.