



Orientaciones sobre las pruebas
del **sarampión** y
de la **rubéola** realizadas
en la red de laboratorios
de la Región de las Américas



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud

OFICINA REGIONAL PARA LAS Américas

Orientaciones sobre las pruebas
del **sarampión** y
de la **rubéola** realizadas
en la red de laboratorios
de la Región de las Américas



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud
OFICINA REGIONAL PARA LAS Américas

Washington, D.C.
2018

Orientaciones sobre las pruebas de sarampión y de la rubéola realizadas en la red de laboratorios de la Región de las Américas
ISBN: 978-92-75-31997-0

© Organización Panamericana de la Salud 2018

Todos los derechos reservados. Las publicaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) están disponibles en su sitio web en (www.paho.org). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir, íntegramente o en parte, alguna de sus publicaciones, deberán dirigirse al Programa de Publicaciones a través de su sitio web (www.paho.org/permissions).

Forma de cita propuesta. Organización Panamericana de la Salud. Orientaciones sobre las pruebas de sarampión y de la rubéola realizadas en la red de laboratorios de la Región de las Américas. Washington, D.C.: OPS; 2018.

Catalogación en la Fuente: Puede consultarse en <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/34932>

Las publicaciones de la Organización Panamericana de la Salud están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor. Reservados todos los derechos.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Secretaría de la Organización Panamericana de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Panamericana de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan en las publicaciones de la OPS letra inicial mayúscula.

La Organización Panamericana de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Panamericana de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

CONTENIDO

Prefacio	v
Agradecimientos	vi
Abreviaturas y siglas	vii
Resumen	ix
1. Introducción	1
2. Obtención y transporte de muestras biológicas	5
2.1 Suero	6
2.2 Muestras respiratorias	6
2.3 Orina	7
2.4 Embalaje y transporte seguro de muestras	8
3. Métodos disponibles en la red regional de laboratorios de sarampión y rubéola	9
3.1 Métodos serológicos	10
3.1.1 Determinación de los anticuerpos IgM e IgG	10
3.1.2 Seroconversión de la IgG	10
3.1.3 Avidéz de la IgG	11
3.2 Métodos virológicos	11
3.2.1 Aislamiento del virus y RT-qPCR	12
3.2.2 Análisis de la secuenciación	1
4. Confirmación de infección reciente y búsqueda activa de laboratorio	15
4.1 Criterios para la confirmación de laboratorio de una infección reciente de sarampión o rubéola	15
4.2 Búsqueda activa de laboratorio	15
4.2.1 Búsqueda activa de laboratorio en zonas o municipios que no notifican casos sospechosos	16
4.2.2 Búsqueda activa de laboratorio al inicio del brote	16
4.2.3 Búsqueda activa de laboratorio para el cierre del brote	16
5. Pruebas de laboratorio en casos esporádicos	19
5.1 Confirmación de laboratorio de los casos esporádicos	19
5.2 Casos esporádicos en los que pueden ser necesarias otras pruebas adicionales	20

6. Algoritmo para la realización de las pruebas	23
6.1 Algoritmo de rutina para el análisis de caso sospechoso de sarampión o rubéola.....	23
6.2 Algoritmo complementario para el análisis serológico de muestras con un resultado inicial IgM-positivo o indeterminado	24
7. Función del laboratorio de sarampión y rubéola durante los brotes	27
7.1 Forma de afrontar un caso esporádico importado.....	27
7.2 Forma de afrontar una cadena de transmisión	28
7.3 Recomendaciones adicionales frente a las cadenas de transmisión del sarampión o de la rubéola	29
8. Garantía de la calidad	31
8.1 Participación en el programa mundial de pruebas de competencia de las pruebas de IgM	32
8.2 Control de calidad indirecto de las pruebas de IgM	32
8.3 Participación en el programa mundial de pruebas de competencia de las pruebas moleculares	33
8.4 Control de calidad de los análisis moleculares: RT-qPCR y secuenciación	33
8.5 Documentación de casos esporádicos con IgM-positivo	34
8.6 Notificación de los datos	34
9. Referencias bibliográficas	35
10. Anexos	37
Anexo 1.A. Formulario para el envío de muestras del LN al LRR o al LME para el control de calidad de las pruebas para el sarampión.....	38
Anexo 1.B. Formulario para el envío de muestras del LN al LRR o al LME para el control de calidad de las pruebas para la rubéola	39
Anexo 2. Formulario para el envío de muestras del LN al LRR o al LME para la confirmación de laboratorio del sarampión y la rubéola	40
Anexo 3. Registro de laboratorio de los casos esporádicos de sarampión o rubéola con un resultado IgM-positivo o indeterminado.....	41
Anexo 4. Influencia de la prevalencia en el valor predictivo positivo de la prueba	43
Anexo 5. Resumen de situaciones de casos esporádicos de sarampión o rubéola en los que puede ser necesario realizar pruebas adicionales.....	44
Anexo 6. Algoritmo de rutina para el análisis de caso sospechoso de sarampión o rubéola	45
Anexo 7. Algoritmo complementario para el análisis serológico de muestras con un resultado inicial IgM-positivo o indeterminado.....	46
Anexo 8. Número total de muestras de suero recibidas, procesadas e IgM-positivas según su procedencia y la fecha de obtención de la muestra.....	47
Anexo 9. Número total de muestras respiratorias y de orina procesadas y RT-qPCR positivas según su procedencia y la fecha de obtención de la muestra.....	48
Anexo 10. Genotipos identificados y cantidad de secuencias detectadas según la procedencia y la fecha de obtención de la muestra	50

PREFACIO

Los países de la Región de las Américas adoptaron la meta de interrumpir la transmisión endémica del sarampión y de la rubéola para los años 2000 y 2010, respectivamente. Gracias a la implementación exitosa de las estrategias de vacunación del sarampión y de la rubéola, los países interrumpieron la transmisión endémica del sarampión en el 2002 y la de la rubéola en el 2009. Después de un proceso de verificación, la Región de las Américas fue declarada libre de rubéola endémica y del síndrome de rubéola congénita (SRC) en el 2015 y libre de sarampión en el 2016.

Para mantener la eliminación del sarampión y de la rubéola en la Región, es esencial que la vigilancia de laboratorio siga las recomendaciones establecidas en el marco de la Red Regional de Laboratorios de Sarampión y Rubéola (RRLSR) de la OPS y garantizar que todos los laboratorios nacionales que participan en la Red Mundial de Laboratorios de Sarampión y Rubéola (RMLSR) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en la RRLSR proporcionen resultados precisos y confiables.

Como parte del apoyo de laboratorio y de la experiencia técnica que proporciona la OPS en la fase posterior a la eliminación (una vez declarada la eliminación), se han formulado y difundido de manera continua orientaciones técnicas respecto a las estrategias de realización de pruebas, correlación e interpretación de resultados, entrenamientos y transferencia de tecnología a fin de mejorar la capacidad de los laboratorios nacionales para proporcionar resultados que permitan una clasificación precisa de los casos y optimizar la respuesta del sistema de vigilancia de los países para detectar virus importados y brindar desde el laboratorio orientaciones para el estudio de cadenas de transmisión.

El propósito de este documento es proveer información acerca de las muestras clínicas requeridas y las pruebas disponibles en los laboratorios nacionales para apoyar la vigilancia por laboratorio de sarampión y rubéola, mantenimiento del aseguramiento de la calidad establecido por la RMLSR de la OMS. También brindar orientación técnica a fin de estandarizar las pruebas de laboratorio para el sarampión y la rubéola en los casos esporádicos con resultado inicial de IgM-positivo donde se desarrollaron algoritmos para el análisis; al igual que en el estudio de cadenas de transmisión con el propósito de proveer las evidencias requeridas por el sistema y optimizar el uso de los recursos. Este documento es esencialmente una herramienta para ayudar a mejorar la investigación de laboratorio y la clasificación de los casos de sarampión y de rubéola en la Región de las Américas, un requisito fundamental para mantener la eliminación de estos dos virus en la Región.



Cuahtémoc Ruiz Matus
Jefe de la Unidad de Inmunización Integral
Departamento de Familia, Promoción de la Salud y Curso de Vida
OPS/OMS

AGRADECIMIENTOS

Este manuscrito ha sido elaborado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) basándose en la experiencia de los Estados Miembros en el proceso de eliminación y durante la verificación de la eliminación del sarampión y de la rubéola en la Región de las Américas. La OPS desea dar las gracias a todas las personas que participaron en las reuniones regionales, reuniones de expertos y reuniones presenciales en las que se generó este contenido y que contribuyeron a las revisiones técnicas que condujeron a la elaboración y edición final de este documento de orientación. Las siguientes personas efectuaron contribuciones importantes: William Bellini, Ana María Bispo, Rodrigo Fasce, Joseph Icenogle, Jennifer Rota, Paul Rota, Marilda M. Siqueira y Gloria Rey-Benito. Por último, agradecemos a Andrea Patricia Villalobos, consultora de FPL/IM (Familia, Género y Curso de Vida/Inmunización Integral de la Familia), por su revisión exhaustiva y sus comentarios.

Coordinación

Gloria Janneth Rey-Benito, FPL/IM, OPS (Washington, D.C.)

Cuauhtémoc Ruiz-Matus, FPL/IM, OPS (Washington, D.C.)

ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADN	ácido desoxirribonucleico
ARN	ácido ribonucleico
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos
CRL	coordinador regional de laboratorios (OPS)
ELISA	ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (por su sigla en inglés)
GTA	Grupo Técnico Asesor sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación
HF	hisopado faríngeo
HHV-6	herpesvirus humano 6
HN	hisopado nasal
HNF	hisopado nasofaríngeo
IgG	inmunoglobulina de clase G (tipo de anticuerpo)
IgM	inmunoglobulina de clase M (tipo de anticuerpo)
IFA	prueba de inmunofluorescencia
IH	inhibición de hemaglutinación (prueba)
LME	laboratorio mundial especializado
LN	laboratorio nacional
LRR	laboratorio regional de referencia
MTV	medio de transporte viral
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PBS	solución salina amortiguada con fosfato (por su sigla en inglés)
PC	prueba de competencia
PRNT	prueba de neutralización por reducción de placa (por su sigla en inglés)
RMLSR	Red Mundial de Laboratorios de Sarampión y Rubéola (OMS)
RNase	ribonucleasa (por su sigla en inglés)
RRLSR	Red Regional de Laboratorios de Sarampión y Rubéola (OPS)
RT-qPCR	reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa cuantitativa (por su sigla en inglés)
SR	doble viral o vacuna contra el sarampión y la rubéola
SRC	síndrome de rubéola congénita
SRP	triple viral o vacuna contra el sarampión, la rubéola y las paperas
VIDRL	Laboratorio Victoriano de Referencia para Enfermedades Infecciosas (por su sigla en inglés)



**Red de Laboratorios
de Sarampión y Rubéola
Región de las Americas, 1995-2018**

- 21 Laboratorios nacionales
- 2 Laboratorios regionales de referencia
- 1 Laboratorio mundial especializado

110 Laboratorios Sub-Nacionales

- 21 en Argentina
- 27 en Brasil
- 26 en Canadá
- 5 en Colombia
- 31 en México

RESUMEN

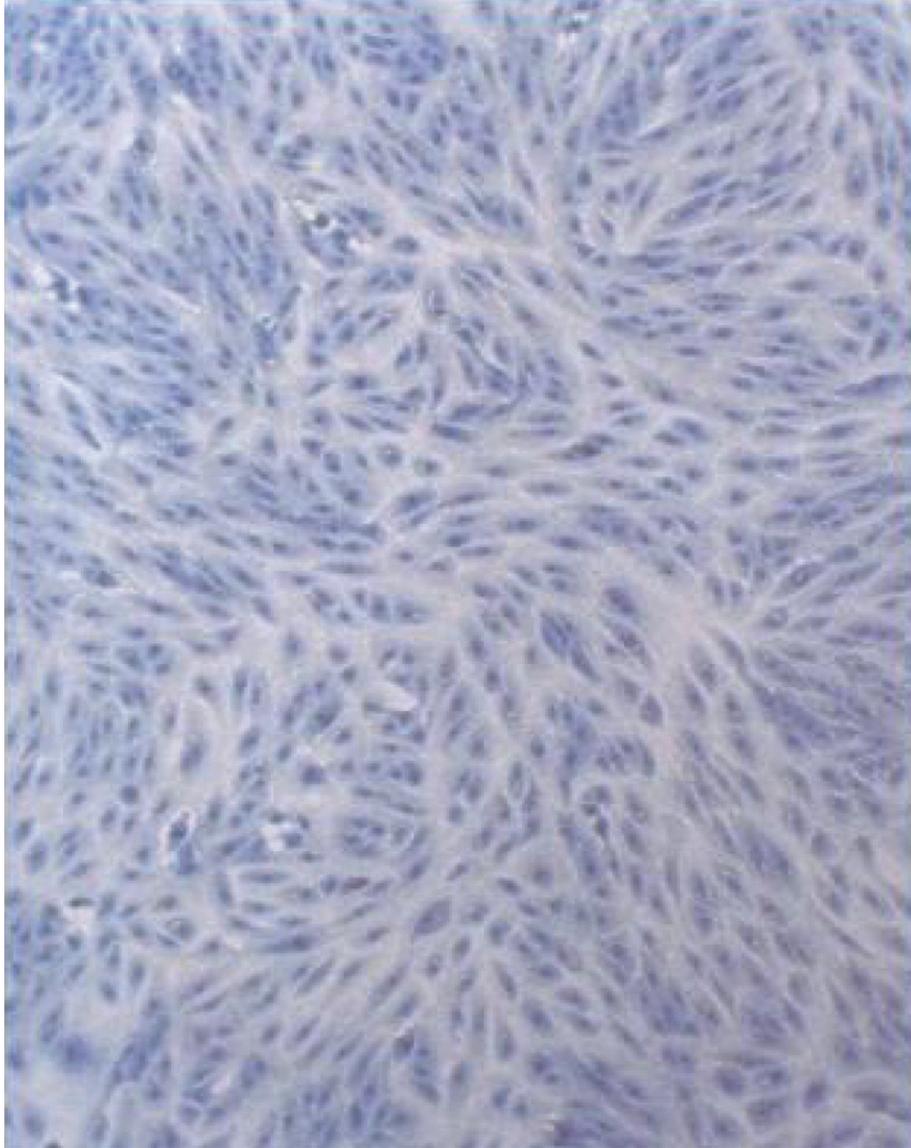
El propósito de este documento es guiar y estandarizar el análisis de muestras de casos sospechosos de sarampión y rubéola en la red de laboratorios de la Región de las Américas. En él se presentan algunos datos pertinentes sobre la eliminación del sarampión y de la rubéola en la Región, la obtención de muestras biológicas necesarias para realizar los análisis de laboratorio y los métodos o pruebas disponibles en la red regional de laboratorios. Además, en el documento se describen las principales actividades relacionadas con el aseguramiento de la calidad en los laboratorios que integran la Red Mundial de Laboratorios de Sarampión y Rubéola, así como la notificación de casos detectados y el reporte de los resultados al sistema de vigilancia.

Este documento servirá de herramienta a fin de aumentar la capacidad del personal de salud para el análisis de casos, mejorar la correlación de los resultados de laboratorio con los datos clínicos y epidemiológicos, y optimizar el uso de las pruebas de laboratorio en beneficio de la comunidad, el sistema de vigilancia y los encargados de tomar las decisiones. Con este propósito se presenta el algoritmo de rutina y el algoritmo complementario para analizar las muestras de casos sospechosos con resultado inicial de IgM-positivo o indeterminado. Se ha incluido una sección para destacar la función del laboratorio durante los brotes de sarampión o rubéola y otra frente a los casos esporádicos importados o en el estudio de cadenas de transmisión.

Además, en el documento se presenta una propuesta de formularios que deben adjuntarse cuando se remitan muestras de de casos esporádicos con resultado de IgM-positivo o indeterminado, a fin de que se incluya la información básica que facilite la interpretación de dichos resultados y la clasificación final de los casos.

Son muchos los documentos técnicos y científicos que se han publicado y que se seguirán publicando sobre los análisis de laboratorio para el diagnóstico del sarampión y la rubéola, la confirmación de la infección aguda, la confirmación de reinfección, la detección de falla vacunal primaria o secundaria, la detección de inmunidad, entre otros aspectos. Algunas de estas publicaciones se han considerado y citado en este documento con el propósito de facilitar la interpretación de los resultados, optimizar el uso de las pruebas de laboratorio y clasificar adecuadamente cada caso, sin embargo, si el lector tiene interés en profundizar sobre el estudio de alguno de los temas, recomendamos consultar la literatura científica actualizada y disponible.

La lectura y aplicación de estas orientaciones en la vigilancia rutinaria permitirá mejorar las competencias del personal de salud en cuanto a la investigación de laboratorio de los casos sospechosos de sarampión y rubéola en un contexto de incidencia baja de la enfermedad, como un componente esencial para mantener a los países de la Región libres de estas enfermedades.



© Gloria Rey-Benito.

Monocapa de células Vero coloreadas con azul de metileno/fenol.

1. Introducción

En 1994, los países de la Región de las Américas establecieron la meta de interrumpir la transmisión del sarampión endémico para el año 2000 (1). A fin de lograr la eliminación, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) elaboró estrategias que incluyen actividades de vacunación destinadas a lograr una inmunidad alta en la población, junto con una vigilancia sensible para detectar casos sospechosos, con confirmación por laboratorio de la infección aguda por el virus del sarampión y el aislamiento viral o la detección del ácido ribonucleico (ARN) para permitir la identificación molecular de la fuente del virus (2). Con este propósito la OPS junto con el CDC de Atlanta crearon la Red Regional de Laboratorios de Sarampión y Rubéola (RRLSR).

En la XVIII Reunión del Grupo Técnico Asesor (GTA) sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación de la Organización Panamericana de la Salud, celebrada en San José (Costa Rica) en agosto del 2009 (3), la OPS presentó el *Plan de acción para la documentación y verificación de la eliminación del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita en la Región de las Américas* (4). Uno de los componentes esenciales del plan es mantener la vigilancia por laboratorio del sarampión y la rubéola y generar evidencias sobre la epidemiología molecular de estos virus. Los datos genéticos obtenidos mediante la investigación llevada a cabo por esta red han aportado importante evidencia que documenta: 1) la interrupción de la transmisión endémica del sarampión y la rubéola, así como 2) el mantenimiento del estado de eliminación en la Región.

La RRLSR se incorporó a la Red Mundial de Laboratorios de Sarampión y Rubéola (RMLSR), creada por la OMS en el 2000, y ha introducido métodos de diagnóstico y reactivos normalizados así como una garantía de la calidad integral. Esto incluye el uso de pruebas de competencia (realizadas con una evaluación de la calidad del diagnóstico de laboratorio mediante el análisis de paneles de suero), pruebas de confirmación, control de calidad interno, proceso de acreditación de laboratorios, seguimiento de la entrega oportuna de resultados, y notificación semanal de indicadores de desempeño al sistema de vigilancia nacional del sarampión y la rubéola (denominado en adelante “sistema de vigilancia”), así como la participación de la OPS como responsable de la coordinación del sistema de vigilancia regional.

La vigilancia virológica llevada a cabo por la RRLSR se usa para observar los cambios que se producen en los genotipos y en las secuencias de los virus con el transcurso del tiempo en un determinado país y en la totalidad de la Región. La información se analiza conjuntamente con los datos epidemiológicos de rutina para ayudar a documentar la interrupción de la transmisión del sarampión endémico en la Región y para proporcionar datos sobre su epidemiología molecular, una herramienta crucial para documentar la ausencia de un genotipo endémico o las importaciones de genotipos de otras regiones.

Se entiende por eliminación la ausencia de transmisión del sarampión o de la rubéola endémica en una zona geográfica definida (por ejemplo, un país o una región) durante un periodo de ≥ 12 meses, en presencia de un sistema de vigilancia que funcione adecuadamente (5). En el contexto de la eliminación, un caso aislado de sarampión con confirmación de laboratorio se considera un brote de sarampión confirmado (6, 7) y requiere una respuesta rápida.

El Comité Internacional de Expertos declaró la eliminación de la rubéola y del SRC en abril del 2015, y anunció la eliminación del sarampión el 27 de septiembre del 2016, con lo que la Región de las Américas pasó a ser la primera región del mundo que alcanzó estas metas. Sin embargo, dado que persiste la circulación del sarampión en varias regiones del mundo, los países de la Región de las Américas siguen corriendo el riesgo de que se produzcan

importaciones de estos virus. Estas orientaciones para las pruebas de laboratorio que se realizan a las muestras procedentes de casos esporádicos de sarampión y rubéola se han diseñado a fin de ayudar a: 1) proteger los logros alcanzados en la Región en la eliminación de la rubéola y el sarampión y 2) garantizar que todos los laboratorios regionales y nacionales participantes proporcionan resultados precisos y de buena calidad.

La elaboración y difusión de estas orientaciones fue propuesta inicialmente por un grupo de expertos durante una reunión en la sede de la OPS en Washington, D.C., que tuvo lugar el 27 de agosto del 2008. El contenido que se presenta a continuación ha sido examinado y actualizado en función de la experiencia de los Estados Miembros de la OPS en el proceso de verificación de la eliminación del sarampión y la rubéola en la Región. Los responsables del sistema de vigilancia en los países deben hacer todo lo posible por seguir estas orientaciones, reconociendo que es posible que en algunas situaciones no se disponga de información suficiente para tener plena certeza sobre la clasificación final de los casos y que este documento es una herramienta para mantener una buena investigación por laboratorio, facilitar la clasificación final de los casos y apoyar la sostenibilidad de la eliminación permitiendo mantener la Región libre del sarampión y de la rubéola.

SARA

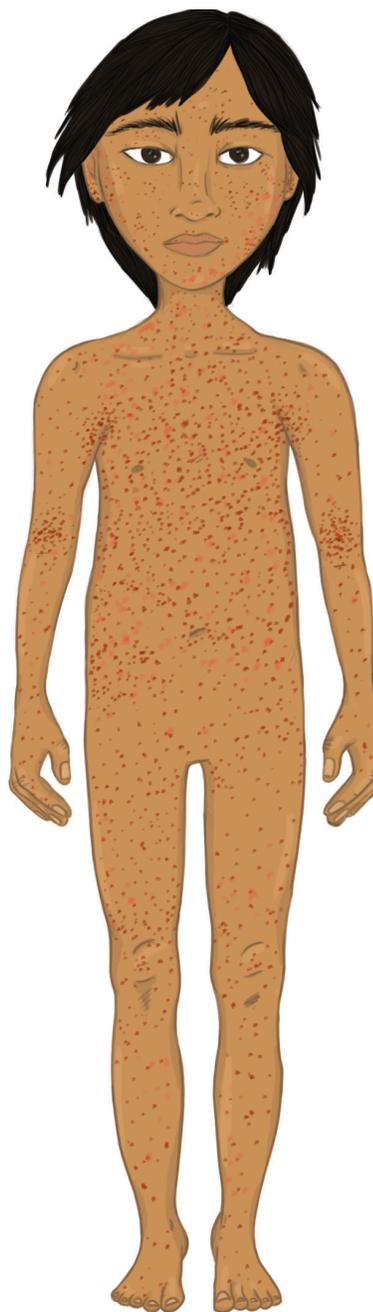


Sara a los 3 días de erupción por sarampión

presentó fiebre alta, conjuntivitis, tos y coriza, dos días después erupción maculo-papular generalizada detrás de las orejas y en la cara, y se extendió progresivamente al cuello, el pecho, la espalda, las extremidades superiores, el abdomen y por último a las extremidades inferiores.

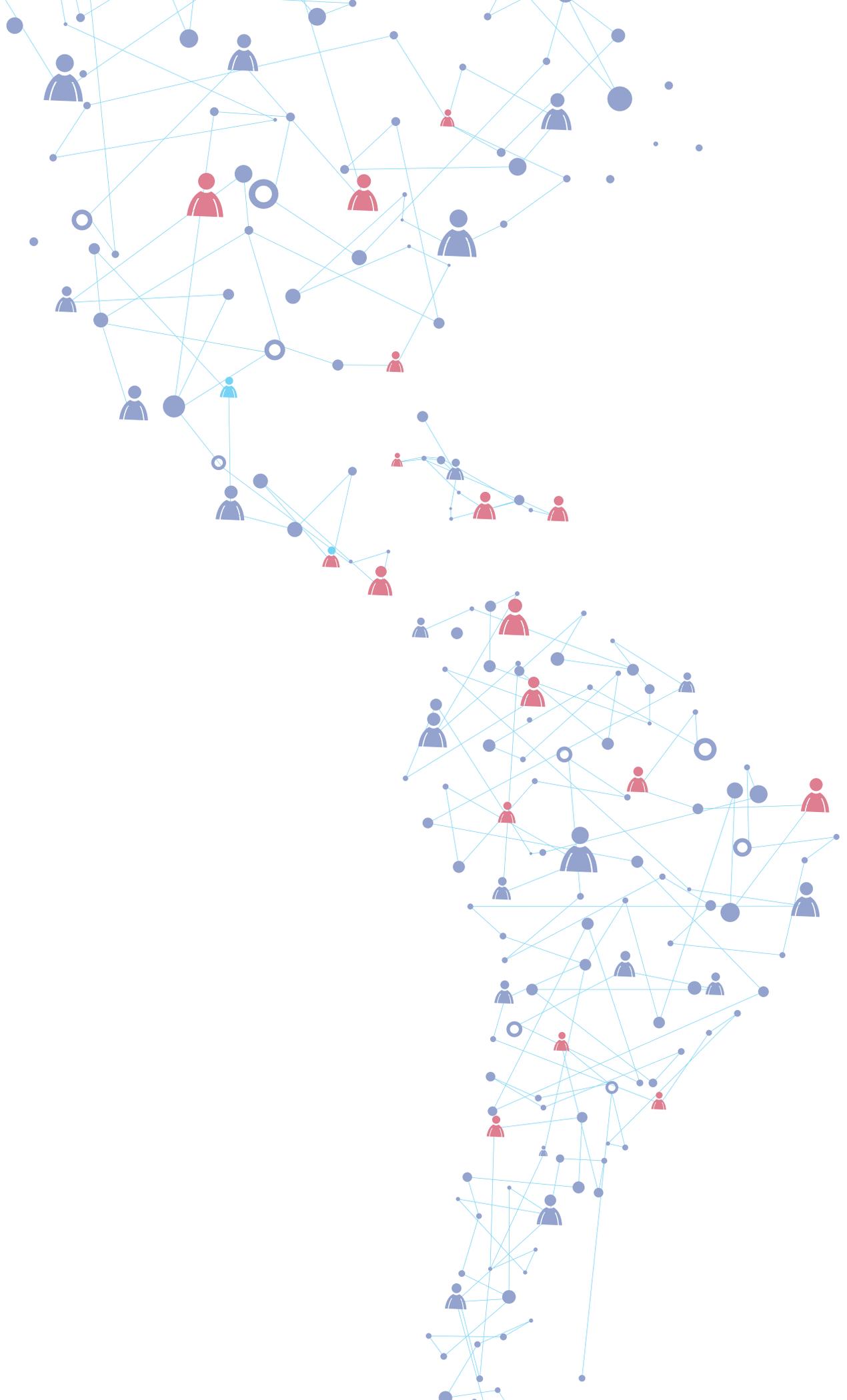
La erupción cambió de rojo a café oscuro, fue descamativa y no pruriginosa.

RUBÉN



Rubén a los 3 días de erupción por rubéola

Presentó fiebre, linfadenopatías y erupción generalizada macular detrás de las orejas, y se extendió rápidamente a todo el cuerpo, predominando en el tronco y cerca de los pliegues. La erupción era de color rojizo y de bordes bien definidos, no pruriginosa.



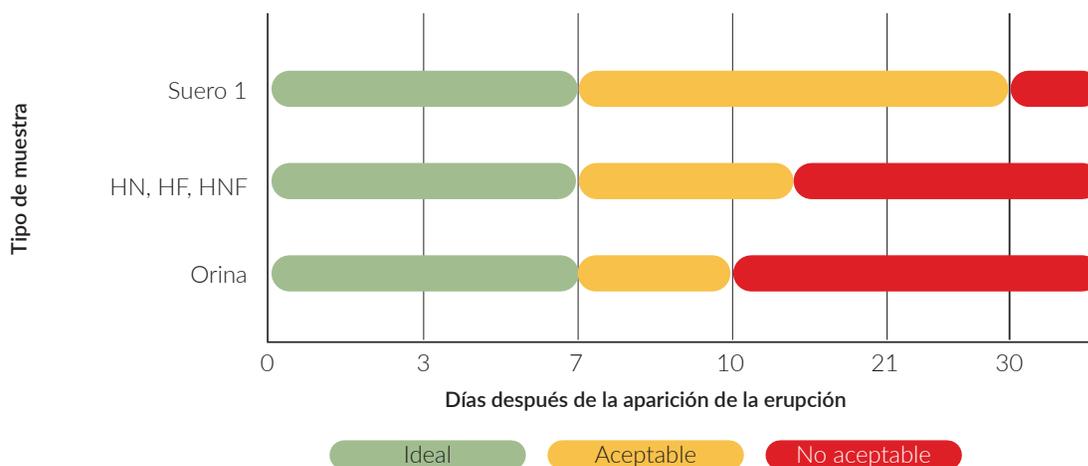
2. Obtención y transporte de muestras biológicas

Considerando la similitud del sarampión y la rubéola en cuanto a su presentación clínica, investigación epidemiológica y diagnóstico de laboratorio, desde el 2003, la Región realiza una vigilancia totalmente integrada del sarampión y la rubéola, y las muestras de suero de los casos sospechosos son analizadas simultáneamente para detectar los anticuerpos IgM específicos para cada uno de estos virus (6).

En todo caso sospechoso de sarampión o rubéola, se debe obtener una muestra de suero y, como mínimo, una muestra para el aislamiento viral en el primer contacto con el paciente. Dado que los resultados serológicos a veces pueden no ser concluyentes, el uso de una muestra adecuada para la detección del virus puede mejorar la clasificación de los casos. En una muestra obtenida dentro de los 3 días de la aparición de la erupción se tiene una mayor probabilidad de detectar el virus. La detección del virus permite también una caracterización genética del virus del sarampión y la rubéola asociado a la infección.

La obtención de muestras respiratorias por hisopado es el método preferido para la detección viral; el hisopado puede ser faríngeo, nasal o nasofaríngeo, ya sea en una sola muestra o en muestras combinadas. Dependiendo de la situación, y la disponibilidad de dispositivos, también se pueden obtener muestras de orina o líquido bucal. La obtención de muestras respiratorias y de orina aumenta la probabilidad de detección del virus en los casos aislados que se producen en relación con antecedentes de viaje internacional reciente o cuando hay un grado de sospecha elevado. Una vez obtenidas las muestras, deben ser enviadas tan pronto como sea posible y en condiciones adecuadas al laboratorio.

En la obtención de muestras clínicas, algunos investigadores designan la fecha de aparición de la erupción como “día cero”, mientras que otros designan esta fecha como “día uno”. En aras de una mayor uniformidad, en este documento recomendamos designar la fecha de la aparición de la erupción como “día cero”.

Figura 1. Tipo de muestra recomendada según los días transcurridos desde la aparición de la erupción

HN: hisopado nasal, HF: hisopado faríngeo, HNF: hisopado nasofaríngeo

2.1 Suero

Para las pruebas serológicas, la muestra de sangre se extrae mediante flebotomía, preferiblemente en un tubo seco con gel separador. La sangre se deja coagular y, a continuación, se centrifuga para separar el suero. El suero se transfiere asépticamente a un vial estéril con tapa de rosca. El suero debe mantenerse refrigerado hasta el momento del análisis o debe enviarse con paquetes refrigerantes. *Nunca congele un tubo que contenga sangre completa*, dado que se puede generar hemólisis.

La muestra de suero se utiliza en las pruebas serológicas para la determinación de anticuerpos específicos tipo IgM e IgG. En la vigilancia del sarampión y la rubéola se recomienda la obtención de la muestra de suero al primer contacto del caso con la institución de salud y en un plazo no mayor a los 30 días de la aparición de la erupción (8).

La vigilancia rutinaria del sarampión y la rubéola se basa en la determinación de IgM en una muestra única de suero, preferiblemente obtenida durante la fase aguda de la enfermedad (primeros 7 días desde el inicio de la erupción).

Algunos casos, pueden requerir de una segunda muestra de suero, la cual, deberá obtenerse durante la fase convaleciente de la enfermedad, y preferiblemente a los 14 a 21 días (en un rango de 10 y 30 días) después de la obtención de la primera

muestra de suero (9) para permitir la medición de un aumento significativo del título de IgG y confirmar los resultados iniciales de la IgM. El intervalo de tiempo ideal entre la obtención de la muestra aguda y la obtención de la muestra de convalecencia (a las que en conjunto se denominan “sueros pareados”) es de alrededor de 2 a 3 semanas.

2.2 Muestras respiratorias

Para las pruebas virológicas, se pueden obtener muestras de las vías respiratorias mediante hisopado nasal (HN), hisopado faríngeo (HF) o hisopado nasofaríngeo (HNF). Es importante obtener una buena cantidad de células epiteliales (frotando o girando con el hisopo sobre el epitelio) para que se pueda detectar el virus, utilizar hisopos de poliéster, rayón o nylon. No se debe dejar que el hisopo se seque y se lo debe colocar en un tubo que contenga medio de transporte viral (MTV) o solución salina amortiguada con fosfato (PBS por su sigla en inglés) que sean estériles. La muestra debe mantenerse refrigerada (temperatura de 2 °C a 8 °C) hasta el momento del envío y durante el transporte. En el laboratorio, la muestra puede congelarse a -70 °C. El momento ideal para la obtención de las muestras de vías respiratorias dentro de los 7 días de la aparición de la erupción, pero pueden obtenerse hasta 14 días después de la aparición de la erupción (9).

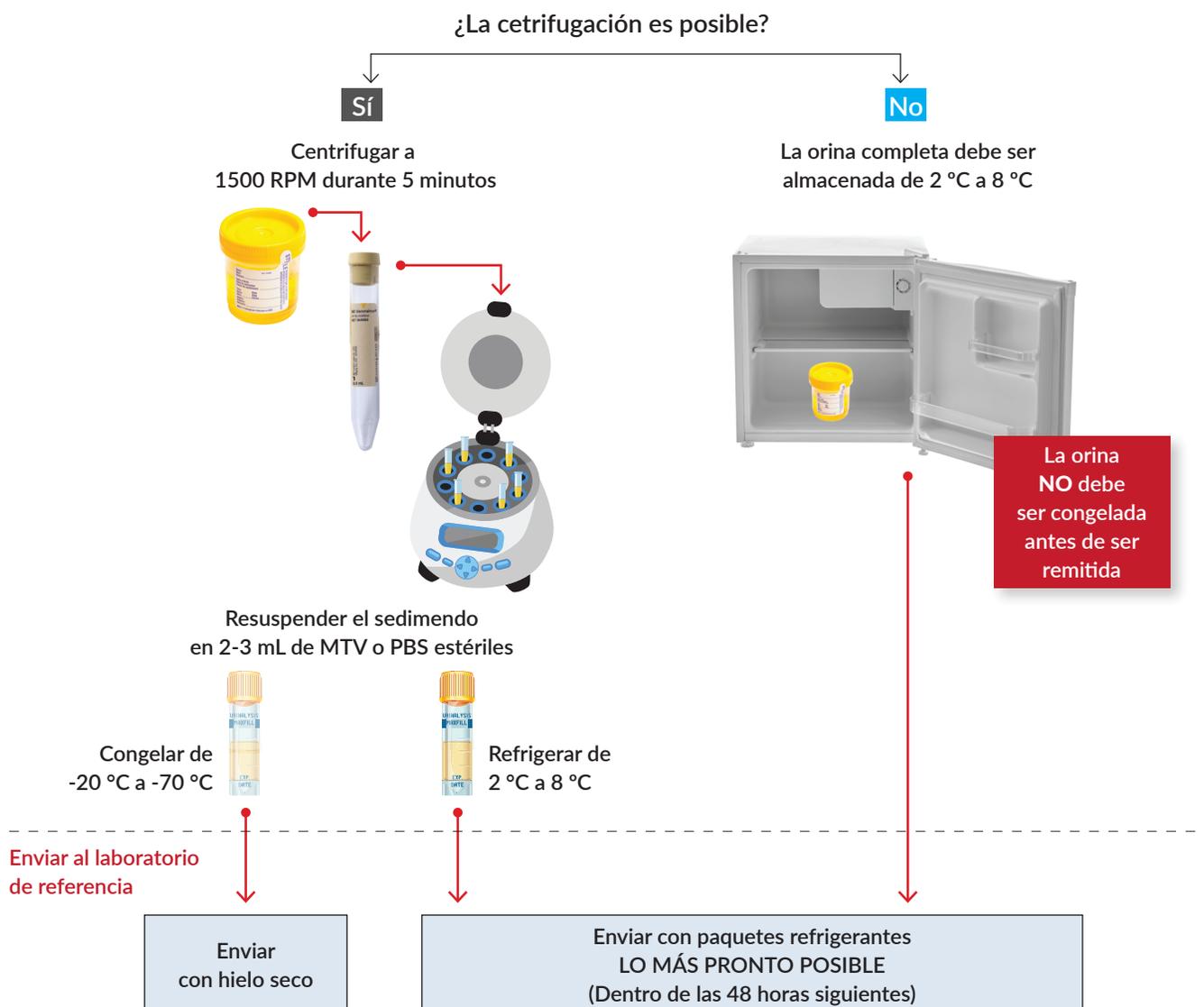
2.3 Orina

Las muestras de orina pueden recogerse en un recipiente apropiado de plástico y de boca ancha. Debe centrifugarse la orina y el sedimento debe resuspenderse en 2-3 ml de MTV o PBS estériles. La muestra de orina resuspendida en MTV debe congelarse a -70°C . Si no se dispone de una centrifugadora, la muestra de orina debe refrigerarse a temperatura de 2°C a 8°C y se debe enviar con bolsas refrigeradas ("paquetes refrigerantes") dentro de las 48 horas siguientes a un laboratorio en el que pueda realizarse el aislamiento viral o la detección del ARN mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa cuantitativa (RT-qPCR

por su sigla en inglés). El intervalo de tiempo recomendado para la obtención de las muestras de orina es dentro de los 7 días de la aparición de la erupción, pero estas pueden obtenerse hasta 10 días de la aparición de la erupción (figura 2).

La información adicional y los protocolos para la obtención, el envío, el procesamiento y la conservación de estas muestras y otras pueden consultarse en el manual de laboratorio de la OMS (9) y en los siguientes documentos [en inglés] en las páginas web de la OMS y de los CDC: http://www.who.int/ihr/elibrary/manual_diagn_lab_mea_rub_en.pdf y <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt22-lab-support.pdf>.

Figura 2. Pretratamiento y conservación de muestras de orina para aislamiento viral o detección de ARN



2.4 Embalaje y transporte seguro de muestras

El transporte seguro de muestras debe asegurar el cumplimiento de las regulaciones nacionales e internacionales vigentes, y específicamente las recomendaciones de triple embalaje (figura 3), documentación y medidas de bioseguridad pertinentes.

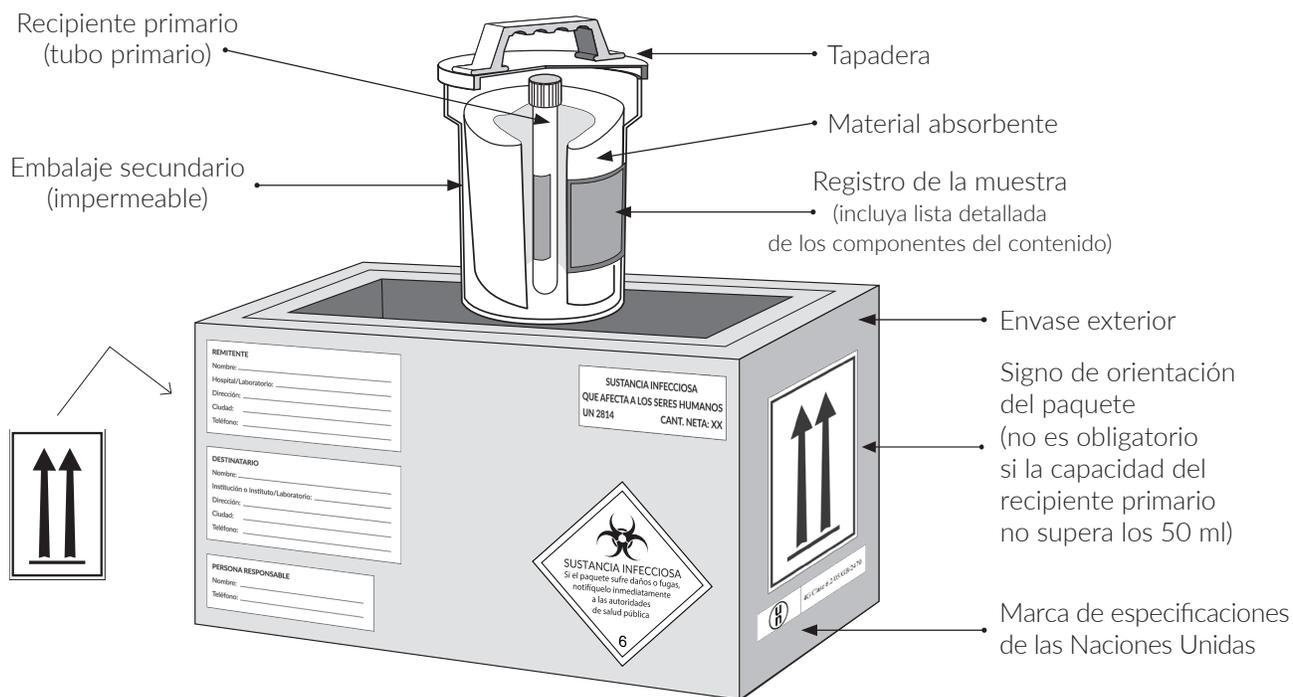
El transporte de muestras biológicas debe cumplir las recomendaciones de la *Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas* vigente (28), adjuntando la documentación requerida. Los usuarios de la reglamentación de mercancías peligrosas de la Asociación del Transporte Aéreo Internacional (IATA) son responsables de dar seguimiento a las modificaciones, actualizaciones y

correcciones en vigor. La persona responsable del envío internacional debe contar con una certificación de expedidor vigente.

El remitente, destinatario y la empresa de transporte deberán establecer de manera anticipada una adecuada coordinación para asegurar que el material sea transportado de forma segura, en los embalajes adecuados y que llegue a su destino oportunamente y en buenas condiciones.

En el caso de que las muestras seleccionadas requieran ser enviadas a los CDC, los laboratorios deben informar al coordinador regional de laboratorios (CRL) de la OPS para obtener la autorización previa al inicio del proceso de envío.

Figura 3. Esquema de triple embalaje de sustancias infecciosas Categoría A

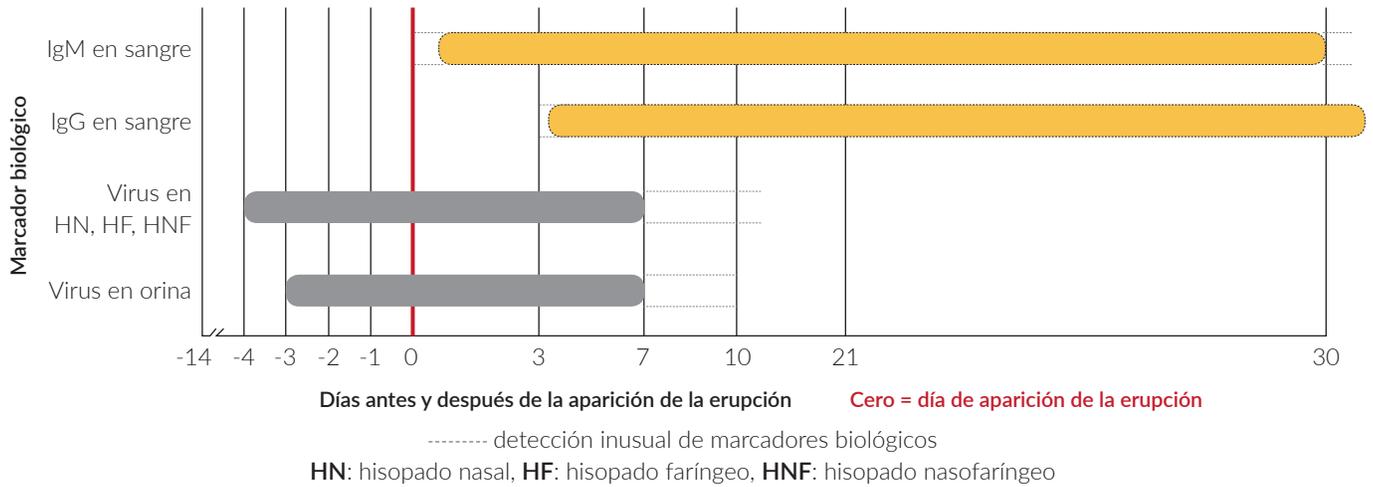


Fuente: adaptado a partir de IATA, Montreal, Canadá. Ejemplo de sistema de embalaje de triple empaque y etiquetado para sustancias infecciosas.

3. Métodos disponibles en la red regional de laboratorios de sarampión y rubéola

En este apartado se describen las pruebas de laboratorio disponibles para la confirmación de la infección aguda por el virus del sarampión o de la rubéola (11). Con la excepción de las pruebas de ELISA para la IgM y la IgG, otras pruebas adicionales como la de la avidéz de la IgG pueden no estar disponibles en todos los laboratorios nacionales (LN). Dado que, en general, son pocas las muestras que requieren otras pruebas adicionales (y dadas las limitaciones de recursos existentes), tal vez resulte más eficiente que los LN remitan las muestras seleccionadas a un laboratorio de referencia regional (LRR) para la realización de pruebas adicionales. Los LN deben ponerse en contacto con el coordinador regional de laboratorios (CRL) de la OPS y con el punto focal de inmunización de la OPS para coordinar el envío de la muestra al LRR o al laboratorio mundial especializado (LME). El uso correcto de los análisis requiere de la correlación clínica con algunos marcadores biológicos de la infección por el virus del sarampión o de la rubéola (figura 4).

Figura 4. Algunos marcadores biológicos de la infección por el virus del sarampión o de la rubéola



3.1 Métodos serológicos

Todas las muestras de suero se procesarán rutinariamente para la determinación de la IgM contra el sarampión y contra la rubéola. La interpretación de los resultados debe seguir los criterios de validación recomendados por el fabricante de la prueba. Para facilitar el seguimiento y las orientaciones técnicas en este documento, el término “indeterminado” incluye todo resultado indeterminado o equívoco.

Las pruebas se repetirán de inmediato si no cumplen alguno de los criterios de validación del ensayo; solo se notificarán al sistema de vigilancia los resultados de las pruebas validadas. Todo suero con resultado IgM-positivo o indeterminado se deberá procesar nuevamente para asegurar la reproducibilidad del resultado.

En personas susceptibles expuestas al virus del sarampión o de la rubéola (ya sea de tipo salvaje o una cepa vacunal), la prueba para detectar la respuesta de IgM se basará en el momento de aparición de la erupción. Los anticuerpos pueden detectarse durante alrededor de un mes en el caso del sarampión y alrededor de dos meses en el caso de la rubéola. La producción de IgG comienza después de la producción de la IgM, alrededor de 5-10 días después de la aparición de la erupción cutánea, y persiste durante toda la vida de la persona que ha estado expuesta (12).

El diagnóstico serológico de una infección aguda puede basarse en la detección de: 1) anticuerpos IgM específicos en una sola muestra de suero o 2)

un aumento significativo del título de anticuerpos IgG en dos muestras de suero, de la fase aguda y de la fase de convalecencia, es decir, en “sueros pareados” (13).

3.1.1 Determinación de los anticuerpos IgM e IgG

Existen múltiples métodos para la determinación de los anticuerpos IgM e IgG, como el ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH), la prueba de inmunofluorescencia (IFA), la prueba de fijación del complemento y la prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT). Sin embargo, la prueba de ELISA es el método recomendado para el sistema de vigilancia, dada su precisión y sensibilidad, así como su aplicabilidad en términos de facilidad para realizar la prueba y la obtención de resultados rápidos, precisos y confiables.

Todos los LN usan pruebas comerciales de ELISA para detectar los anticuerpos IgM e IgG contra el sarampión y la rubéola, siguiendo lo establecido en las recomendaciones de la OPS/OMS basadas en la evidencia presentada (14,15,16). Estos kits de análisis han tenido buen desempeño y han mostrado una alta sensibilidad y especificidad. Sin embargo, debe advertirse a los profesionales de la salud pública que a veces se pueden producir resultados positivos falsos y negativos falsos, y que es posible que sea necesario hacer más pruebas. Cuando se sospecha de un resultado negativo falso, en un caso

altamente sospechoso, se puede obtener una nueva muestra de suero entre los días 4 -30 días después de la aparición de la erupción, para detección de anticuerpos IgM/IgG. La seroconversión de IgM o IgG permite confirmar el caso.

3.1.2 Seroconversión de la IgG

Cuando se produce una infección por el virus en una persona que no ha tenido un contacto previo, pueden detectarse anticuerpos IgG específicos para el virus unos pocos días después de los anticuerpos IgM. La IgG debería poderse detectar de 5 a 7 días después de la aparición de la erupción y puede alcanzar el valor máximo alrededor de 2-3 semanas después de la aparición de la erupción; en una persona infectada, los anticuerpos persistirán a lo largo de toda la vida.

Cuando se produce una infección por el virus en una persona anteriormente vacunada y se sospecha la posibilidad de una infección de sarampión o de rubéola, el suero de la fase aguda será IgM-negativo e IgG-positivo. En ese caso, la obtención de una segunda muestra de suero una o dos semanas después es útil para: 1) determinar la respuesta de IgG en sueros pareados (una muestra de la fase aguda y una muestra de la fase de convalecencia) y 2) aportar evidencia de cualquier aumento significativo del título de anticuerpos IgG específicos.

La IgG específica contra el sarampión o la rubéola puede detectarse con la prueba de ELISA y existen kits producidos comercialmente. Un aumento del título de la IgG específica puede detectarse usando un ELISA semicuantitativo o análisis cuantitativos como la HI o la PRNT (17). Tanto la IH como la PRNT consumen mucho tiempo y requieren de capacitación y recursos adicionales, por lo que la prueba de ELISA es el método preferido para ser usado en la RRLSR. El método empleado variará según el tipo de kit de ELISA utilizado, y para la interpretación de los resultados y el uso de los algoritmos cuantitativos deben seguirse las instrucciones del fabricante. Algunos autores han indicado que los valores elevados de la prueba de ELISA no se corresponden directamente con un aumento del título de anticuerpos, pero otros han afirmado que existe una correlación entre el valor obtenido en un ELISA y los niveles de anticuerpos en el título determinado en la PRNT (17). El CRL de la

OPS, el LRR y el LME pueden formular orientaciones respecto al uso de las pruebas de ELISA para medir el título de IgG.

3.1.3 Aidez de la IgG

La "aidez" es la fuerza de la unión de los anticuerpos IgG al antígeno. La respuesta inicial al primer contacto del sistema inmunitario con un antígeno es la producción de IgM. Poco después, pueden detectarse anticuerpos IgG con avidez baja y al cabo de unos pocos meses se detectan IgG con avidez alta. La avidez de la IgG depende de la maduración de la IgG, que consiste en el paso de débil a fuerte de la unión de los anticuerpos IgG a un antígeno.

Las pruebas de la avidez diferencian la respuesta inmunitaria primaria de la secundaria. Este tipo de pruebas resulta especialmente útil para demostrar la inmunidad previa en las mujeres embarazadas, para evitar interpretaciones inadecuadas de la IgM y para facilitar la posible detección de la falla vacunal primaria o secundaria, así como la clasificación final de cualquier caso (18,19). Es posible que las pruebas de avidez de la IgG resulten útiles también para documentar los casos en los que la muestra de suero se ha obtenido más de 30 días después de la aparición de la erupción si no se detecta IgM pero los datos clínicos y epidemiológicos sugieren que se trata de un caso real de sarampión o de rubéola. En tales situaciones, un resultado de avidez baja puede ayudar a confirmar el caso (20).

Los LRR pueden realizar la prueba de avidez contra el sarampión y la rubéola y existen algunas pruebas comerciales para ello (21). Se recomienda la validación de la prueba antes de su uso. En la actualidad, la RRLSR envía las muestras al laboratorio especializado mundial de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos para las pruebas de avidez. Las pruebas de avidez de la IgG contra el sarampión y contra la rubéola que se realizan en los CDC requirieron una amplia validación y el uso de controles bien caracterizados. Los laboratorios deben informar al CRL para obtener la autorización previa al inicio del proceso de envío de las muestras seleccionadas a los CDC para que realicen las pruebas de avidez.

3.2 Métodos virológicos

La exposición al virus (ya sea de tipo salvaje o una cepa vacunal) no puede diferenciarse mediante una respuesta de anticuerpos específicos de tipo IgM o IgG. En los pacientes que han sido vacunados recientemente o en los que se sospecha un resultado de IgM-negativo falso, sería útil una muestra de HF, HN, HNF o de orina para la detección y secuenciación del ARN del virus, con objeto de establecer un diagnóstico preciso de infección aguda.

En un contexto de eliminación, es deseable obtener una información genética sobre los genotipos de virus circulantes de por lo menos el 80% de las cadenas de transmisión posibles (5). Esto puede resultar difícil en los casos esporádicos, pero debe obtenerse información sobre el genotipo de como mínimo un 80% de los brotes (4). Según la OPS, en el periodo 2010–2015, se ha alcanzado el objetivo del 80% en la Región de las Américas para los brotes con dos o más casos (informes de los países a la OPS, datos no publicados).

Los miembros de la RRLSR que no realizan el aislamiento del virus o las pruebas de RT-qPCR deben remitir las muestras clínicas de los casos confirmados al LRR designado para la detección y la secuenciación del virus. El envío de las muestras clínicas de los casos confirmados debe llevarse a cabo en un plazo de 15 días tras la detección, después de haber obtenido los permisos y autorizaciones necesarios. Asimismo, los LN que realizan el aislamiento del virus pero no la secuenciación deben remitir al LRR designado la muestra original y los virus aislados, para una evaluación genética, en un plazo de 15 días tras la detección, después de haber obtenido los permisos y autorizaciones necesarios.

Se notificará al CRL y al punto focal de inmunización de la OPS en el país, según proceda, a fin de acelerar las disposiciones necesarias para que las muestras clínicas y los virus aislados sean remitidos al LRR en un plazo no superior a 1 mes tras la obtención o el aislamiento. Los LN que realizan los envíos deben informar al CRL, al LRR y al punto focal de inmunización de la OPS de cualquier muestra que remitan a un LRR o a un LME para recibir asistencia técnica, antes de realizar

el envío, utilizando para ello los formularios que se presentan en los anexos 1 y 2, o formatos similares requeridos por el laboratorio de referencia.

Si un caso se confirma mediante el análisis serológico, las muestras para detección del virus (HF, HN, HNF o muestra de orina) deben ser analizadas o remitidas al LRR para el aislamiento del virus o la detección de ARN con objeto de obtener la caracterización genética del virus.

3.2.1 Aislamiento del virus y RT-qPCR

El aislamiento de los virus del sarampión o de la rubéola en un cultivo celular o la detección directa del ARN en la muestra clínica aportan evidencia útil de una infección reciente cuando el resultado de la serología no es concluyente.

El aislamiento del virus en un cultivo celular Vero/hSLAM¹ o la detección del ARN viral mediante RT-qPCR en una muestra pueden ser útiles para confirmar una infección reciente. Sin embargo, cuando ha habido una vacunación reciente contra el sarampión, la parotiditis y la rubéola (vacuna triple viral o SRP) en una fecha cercana a la de aparición de la erupción, es necesaria una secuenciación para diferenciar si se trata de un virus de tipo salvaje o de una cepa vacunal. Es importante señalar que un resultado negativo en el cultivo celular o la RT-qPCR no debe usarse para descartar el caso ya que la detección del virus se ve muy afectada por la calidad, la manipulación y el momento de obtención de las muestras (22).

Los LN que no utilizan técnicas de aislamiento/detección viral deben tener un plan para enviar las muestras a uno de los LRR. Los LN que aplican la RT-qPCR deben tener un plan para enviar los productos de PCR a un LRR para el análisis de la secuencia. Los CDC pueden proporcionar protocolos estandarizados para el aislamiento de virus y RT-qPCR. Además, los CDC pueden proporcionar los kits de cebador/sonda para la RT-qPCR.

¹ Células Vero en las que se ha introducido por transfección estable un plásmido que codifica el gen humano de la molécula activadora de la señalización del linfocito, (SLAM, por su sigla en inglés); las células fueron desarrolladas por el doctor Yúsuke Yanagi, de la Universidad de Kyushu, Kuyokya (Japón). El uso de estas células ha sido autorizado por la RMLSR de la OMS; en toda publicación de un trabajo en el que se haya utilizado la línea celular Vero/hSLAM se reconoce la publicación original (Ono et al. J. Virol. 2001; 75: 4399-4401)

3.2.2 Análisis de la secuenciación

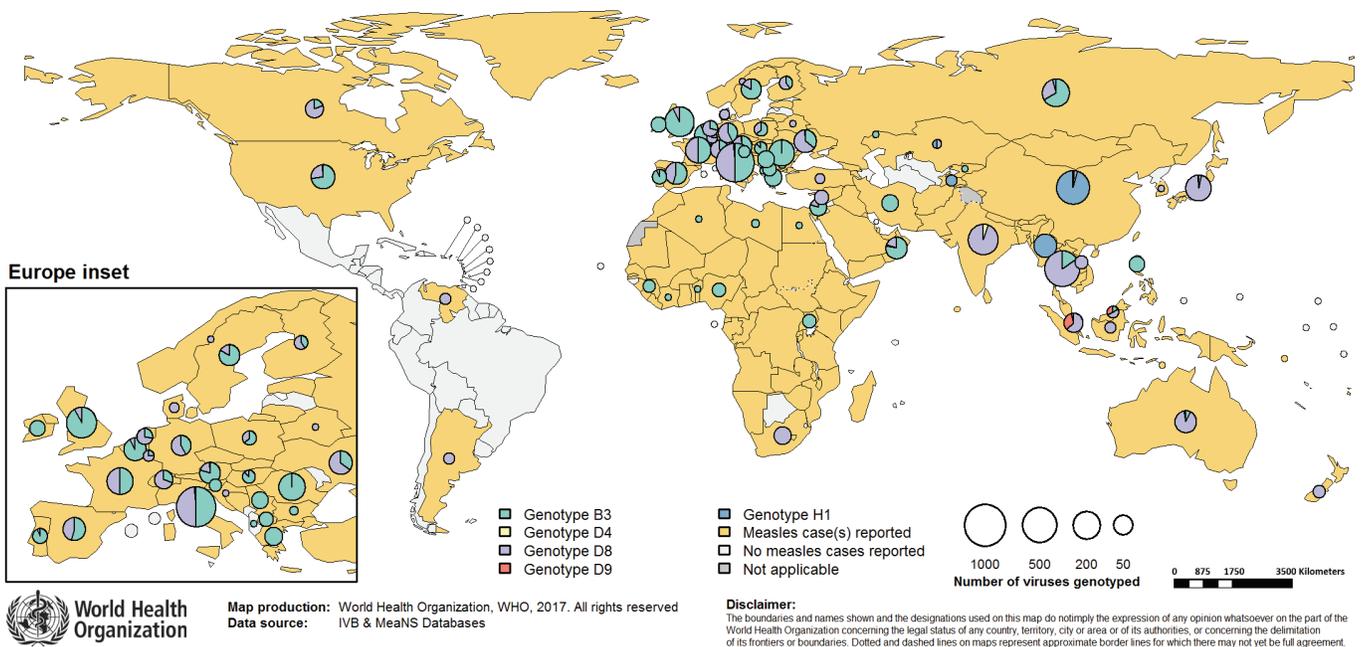
La determinación del genotipo es la única manera de diferenciar los efectos de una vacunación reciente de una infección por el virus de tipo salvaje. El análisis de la secuencia permite: 1) la identificación del genotipo en los casos esporádicos y 2) el rastreo de las vías de transmisión. Los datos moleculares y epidemiológicos han resultado útiles para las investigaciones de los brotes mediante: 1) la determinación del origen del virus y 2) la obtención de evidencia de la interrupción de la transmisión del sarampión y de la rubéola endémicos (23,24,25).

De acuerdo con la recomendación de la OMS para la determinación de los genotipos, es necesario establecer como mínimo 450 nucleótidos del gen que codifican 150 aminoácidos del extremo carboxílico de la nucleoproteína (N) del virus del sarampión y 739 nucleótidos de la región de codificación E1 del virus de la rubéola. Para la denominación de las secuencias del sarampión y de la rubéola, se recomienda seguir los estándares internacionales de nomenclatura para los respectivos virus (26,27).

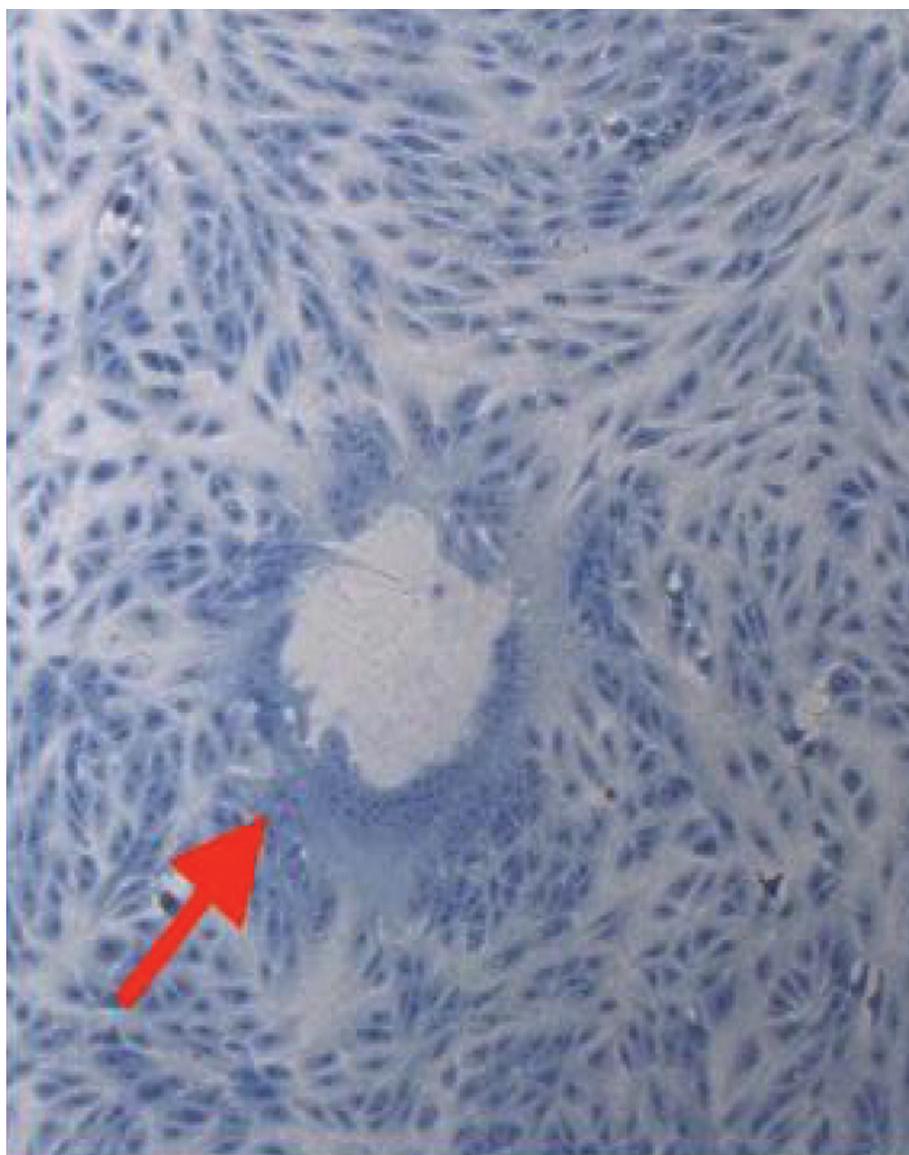
Todos los LRR y algunos de los LN pueden realizar análisis de la secuencia de virus del sarampión y de la rubéola para la determinación del genotipo. Se recuerda a los LN que la notificación rápida de la información sobre el genotipo es fundamental para el éxito del sistema de vigilancia. Los LRR podrán aceptar los virus aislados o los productos de PCR para el análisis de secuenciación. Los LN que no realizan análisis de la secuencia deben disponer de un plan para enviar las muestras recibidas a uno de los LRR. Los LN que realizan análisis de la secuencia deben enviar los virus aislados y los productos de PCR a un LRR o al LME para la confirmación del genotipo dentro de los dos meses de recepción de las muestras.

La información de la secuencia genética de los virus de sarampión y rubéola debe reportarse a las bases de datos de la OMS, con el propósito de documentar distribución de los genotipos virales alrededor del mundo (figura 5). La RMLSR ha definido un plazo de dos meses a partir de la recepción de las muestras en el laboratorio para realizar el reporte oportuno de las secuencias al sistema.

Figura 5. Distribución de genotipos de sarampión en 2017



Fuente: base de datos MeaNS genotipos reportados de enero a diciembre del 2017.



© Gloria Rey-Benito.

Células Vero con observación de células grandes multinucleadas, efecto citopático característico de la infección con el virus de sarampión.

4. Confirmación de infección reciente y búsqueda activa de laboratorio

4.1 Criterios para la confirmación de laboratorio de una infección reciente de sarampión o rubéola

En los casos de sospecha de sarampión o rubéola, el cumplimiento de uno de los siguientes criterios confirma una infección reciente:

- resultado de IgM-positivo específico para el virus;
- seroconversión o aumento significativo de los títulos de IgG en sueros pareados (suero de fase aguda y suero de fase de convalecencia);
- aislamiento del virus o detección de ARN mediante RT-qPCR;
- detección de una secuencia de tipo salvaje; o
- nexos epidemiológicos directos con un caso confirmado por laboratorio.

La prueba de IgM sigue siendo el análisis rutinario requerido en el sistema de vigilancia de la OPS para confirmar la infección aguda. Aunque un resultado IgM-positivo confirma una infección reciente por el virus, *dado el contexto de eliminación en la Región, es aconsejable que cada caso confirmado cumpla con más de uno de los criterios disponibles.*

4.2 Búsqueda activa de laboratorio

Se recomienda la búsqueda activa de laboratorio de casos de sarampión y rubéola en las muestras de suero obtenidas para la vigilancia del dengue o de las enfermedades arbovirales debido a que: 1) se han establecido zonas endémicas o la presencia de brotes de dengue y otros arbovirus en diferentes países de la Región; 2) algunos casos probables de enfermedades arbovirales pueden presentar fiebre y erupción; 3) durante las etapas prodrómicas o iniciales de la enfermedad, es difícil diferenciar clínicamente cualquier infección producida por estos virus; y 4) algunos casos sospechosos de sarampión o rubéola pueden haber sido detectados y notificados como casos de dengue u otras enfermedades arbovirales.

4.2.1 Búsqueda activa de laboratorio en zonas o municipios que no notifican casos sospechosos

La búsqueda activa de laboratorio se ha usado durante el proceso de verificación de la eliminación y se recomienda continuar aplicándola durante la fase posterior a la eliminación, como complemento de la vigilancia del sarampión y la rubéola en los municipios que no notifican casos sospechosos. El objetivo es obtener evidencia de la ausencia de transmisión del sarampión o la rubéola en esas zonas epidemiológicamente silenciosas. Debe analizarse una cantidad razonable de muestras de suero para completar los pozos (o pocillos) de las tiras de reacción de los análisis realizados periódicamente en el laboratorio miembro de la RRLSR.

Los sueros seleccionados para las pruebas de IgM contra el sarampión y la rubéola deben cumplir TODOS los criterios siguientes:

- a) el caso presentó fiebre y erupción;
- b) suero de un caso probable de dengue u otra enfermedad arboviral;
- c) suero con resultado negativo para el dengue u otra enfermedad arboviral;
- d) el suero se obtuvo 30 días antes de la prueba de IgM contra sarampión y rubéola; y
- e) el caso procede de una “zona silenciosa” (sin notificación de casos sospechosos de sarampión y rubéola al sistema de vigilancia).

Cualquier resultado positivo o indeterminado debe notificarse de inmediato y deben seguirse todos los criterios definidos en el sistema de vigilancia para la investigación de los casos de sarampión y rubéola. El laboratorio debe mantener un registro de esta actividad y debe revisar periódicamente los datos consolidados con el epidemiólogo responsable del sistema de vigilancia.

4.2.2 Búsqueda activa de laboratorio al inicio del brote

La búsqueda activa de laboratorio puede considerarse como una estrategia útil en la vigilancia para documentar la presencia de casos en zonas en donde se haya confirmado un caso de sarampión (caso índice) y no se tenga evidencia de la fuente de

infección o de como el virus se introdujo en dicha comunidad.

Deben analizarse una cantidad razonable de muestras obtenidas para la vigilancia por laboratorio de dengue/arbovirus u otra enfermedad febril eruptiva (según la situación epidemiológica del país y la capacidad de respuesta del laboratorio) que cumplan TODOS los siguientes criterios:

- a) el caso presentó fiebre y erupción;
- b) suero de un caso probable de dengue u otra enfermedad arboviral;
- c) suero con resultado negativo para el dengue u otra enfermedad arboviral;
- d) muestras obtenidas dentro de los 30 días previos a la fecha de inicio de erupción del caso índice
- e) muestras obtenidas en el mismo municipio donde se confirmó el caso índice

El laboratorio debe llevar un registro de esta actividad y debe notificar los datos de forma consolidada al sistema de vigilancia.

Los resultados de la búsqueda activa de laboratorio aportan unos datos que, junto con los criterios epidemiológicos y de vacunación, son útiles para verificar, después de un brote, que se ha interrumpido la circulación del virus del sarampión o de la rubéola.

4.2.3 Búsqueda activa de laboratorio para el cierre del brote

La búsqueda activa de laboratorio también ha sido recomendada por la OPS como uno de los criterios requeridos para el cierre de los brotes; el objetivo es mostrar que la transmisión del virus del sarampión o de la rubéola ha finalizado.

Una cantidad razonable de muestras obtenidas para el diagnóstico del dengue u otra enfermedad arboviral (según la situación epidemiológica del país) debe ser procesada para detección de la IgM contra el sarampión o la rubéola y debe cumplir TODOS los siguientes criterios:

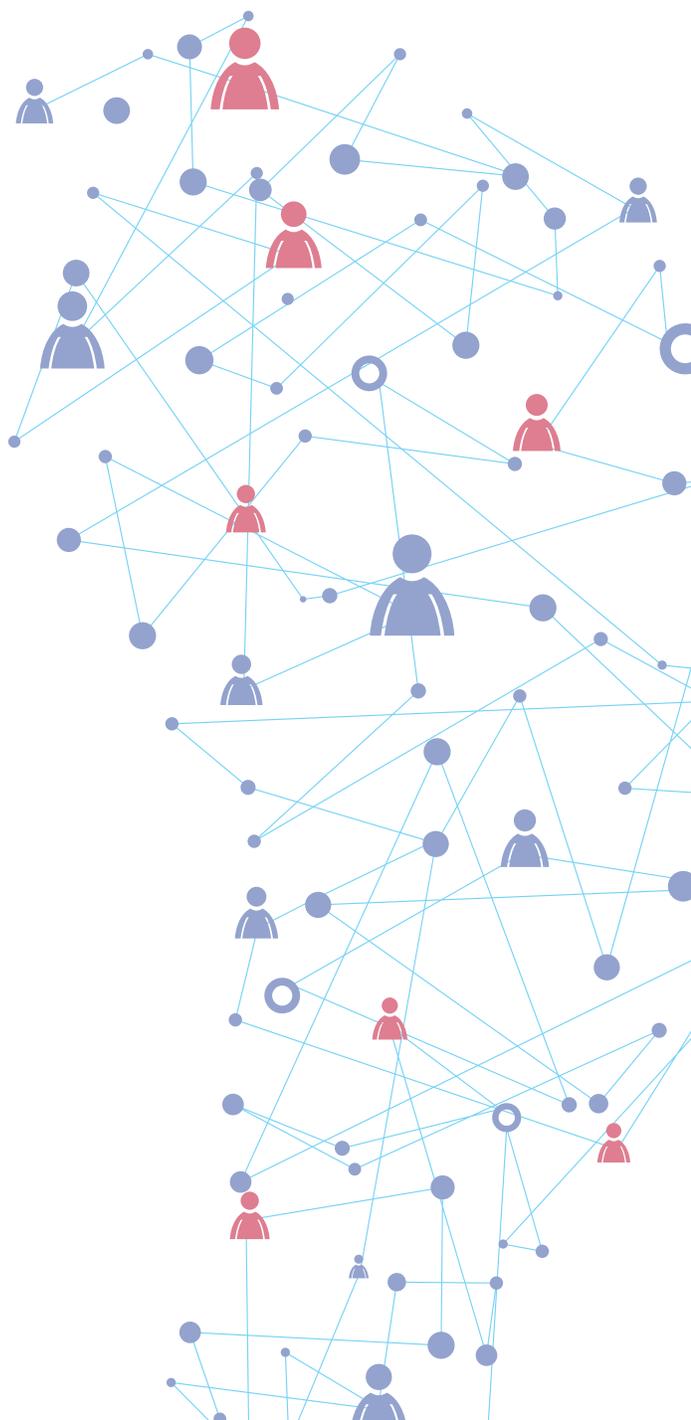
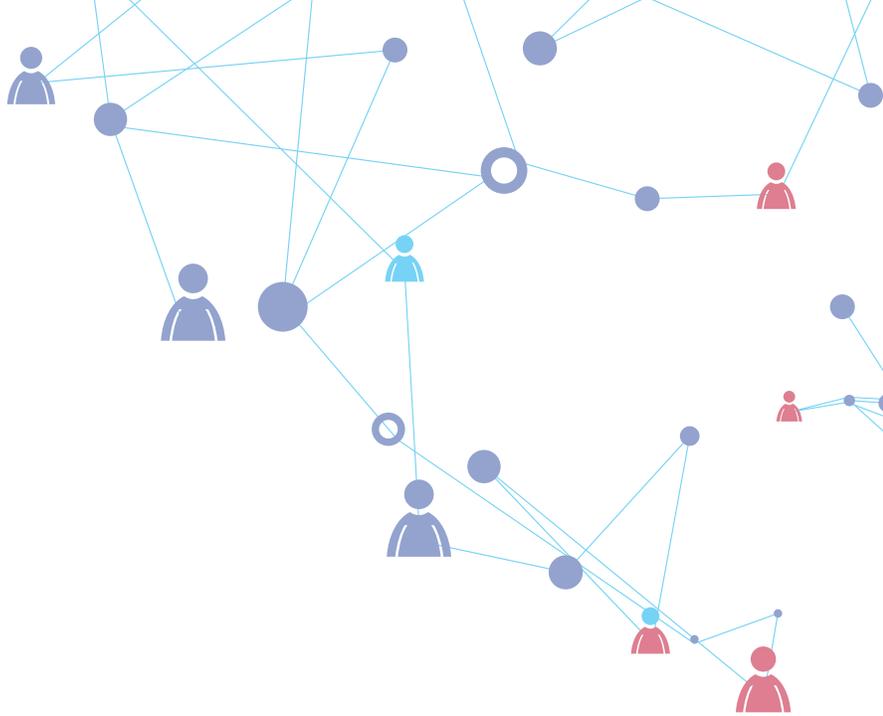
- a) suero obtenido de un caso con fiebre y erupción;
- b) suero de un caso probable de dengue u otra enfermedad arboviral, procedente de zonas en

las que se hayan notificado casos confirmados de sarampión o rubéola;

- c) suero con resultado negativo para el dengue u otra enfermedad arboviral; y
- d) suero obtenido dentro de las 12 semanas siguientes al último caso confirmado de sarampión o de rubéola.

El laboratorio debe llevar un registro de esta actividad y debe notificar los datos de forma consolidada al sistema de vigilancia.

Los resultados de la búsqueda activa de laboratorio aportan unos datos que, junto con los criterios epidemiológicos y de vacunación, son útiles para verificar, después de un brote, que se ha interrumpido la circulación del virus del sarampión o de la rubéola.



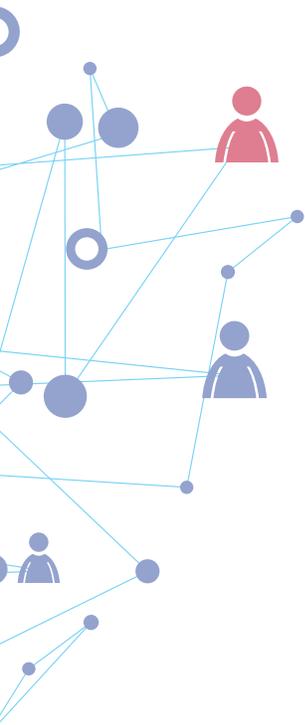
5. Pruebas de laboratorio en casos esporádicos

5.1 Confirmación de laboratorio de los casos esporádicos

En el contexto de la eliminación, entre las muestras recibidas de casos de erupción y fiebre se encontrarán algunos casos con resultado IgM-positivo o indeterminado contra el sarampión o la rubéola. Según la situación epidemiológica, los resultados pueden sugerir un resultado IgM-positivo falso o pueden estar ligados a un caso relacionado con la vacuna (23, 24). Los casos con resultado indeterminado (o equívoco) deben ser considerados como IgM-positivos hasta tener más información y análisis disponibles.

Con objeto de disponer de un nivel elevado de especificidad en los diagnósticos y facilitar la confirmación de los casos y los brotes, los LN deben enviar muestras de suero para las pruebas de verificación de los casos (pruebas complementarias) al LRR establecido por el CRL. Debe completarse el formulario para el envío de muestras de los LN a los LRR para la confirmación de laboratorio del sarampión y la rubéola (véase el anexo 2) y debe adjuntarse al envío. El LME o el LRR evaluarán la necesidad de otras pruebas adicionales (avidez de IgG, RT-qPCR, secuenciación) según la información disponible para cada caso y los resultados se notificarán al CRL y al laboratorio de origen.

En el contexto de la eliminación del sarampión y de la rubéola, la clasificación precisa de los casos depende de un análisis cuidadoso de todos los resultados de laboratorio y los datos epidemiológicos. Por consiguiente, se recomienda que los casos se clasifiquen solamente después de que el equipo de laboratorio y epidemiología haya evaluado todos los resultados de laboratorio, y los datos clínicos y epidemiológicos. Es muy probable que los datos de laboratorio se vinculen con los datos demográficos y epidemiológicos. A pesar de todos estos datos, puede resultar difícil el esclarecimiento de todos los casos basándose en los resultados de laboratorio y epidemiológicos. Por este motivo, los equipos de salud pública deben esforzarse por obtener información completa de los casos con resultado IgM-positivo para ser analizados y clasificados adecuadamente.



La OPS ha recomendado que para la comprobación de la eliminación del sarampión y de la rubéola se obtengan muestras adecuadas para la detección del virus y se dispusiera de información del genotipo como mínimo en el 80% de los brotes (4). La OMS ha especificado que la proporción de cadenas de transmisión confirmadas por laboratorio con muestras obtenidas y analizadas en un laboratorio acreditado debe ser de al menos el 80% (5). Durante la fase posterior a la eliminación, las pruebas de laboratorio pueden resultar difíciles; serán necesarias pruebas serológicas y virológicas para garantizar una detección oportuna de los virus importados y para orientar una respuesta rápida para ejecutar las actividades destinadas a controlar la propagación o la transmisión del virus.

Una muestra adecuada para el aislamiento del virus o para la RT-qPCR puede mejorar también la capacidad de clasificar los casos, especialmente si las muestras se obtienen durante los primeros días de la enfermedad, en los que los resultados de los análisis serológicos pueden no ser concluyentes (29). Sin embargo, es importante señalar que un resultado negativo del cultivo celular o de la RT-qPCR no descarta la infección por el virus del sarampión o de la rubéola ya que la prueba se ve afectada por el momento de obtención y por la calidad de la muestra.

Algunos laboratorios pueden optar por realizar pruebas para otros virus que producen enfermedades causantes de erupción, como el dengue y otras enfermedades arbovirales, el parvovirus B19, el herpesvirus humano 6 (HHV-6) o HHV-7 (roséola), entre otros., teniendo en cuenta que algunos de estos agentes causales producen una reacción policlonal inespecífica, y más de uno de los ensayos de IgM puede ser positivo, por tanto los resultados iniciales deben ser confirmados con otras pruebas de laboratorio. Sin embargo, considerando su costo, puede no ser factible realizar las pruebas serológicas para los otros virus y cada país tendrá que decidir si asume o no los costos del diagnóstico diferencial.

5.2 Casos esporádicos en los que pueden ser necesarias otras pruebas adicionales

Un resultado IgM-positivo es suficiente para confirmar un caso de sarampión o rubéola. Sin embargo, en

algunas situaciones pueden ser necesarias otras pruebas complementarias, como se describe en el anexo 5. A continuación se proporcionan algunos ejemplos que pueden facilitar la toma de decisiones acerca de las pruebas a realizar en ciertos casos.

SITUACIÓN 1. Resultado de IgM-positivo contra el sarampión O contra la rubéola En una muestra de suero de la fase aguda debe investigarse más cuidadosamente si el caso tenía las siguientes características:

- no fue vacunado recientemente (en las 8 semanas previas a la aparición de la erupción) (6, 30, 31);
- no tuvo ninguna exposición a un caso confirmado ni contacto con visitantes internacionales; y
- no tuvo ningún antecedente de viaje en los 21 días anteriores a la aparición de la erupción.

En estos casos, **después de examinar las variables clínicas y epidemiológicas y en colaboración con el epidemiólogo y el CRL**, puede ser apropiado intentar realizar otras pruebas adicionales tal como se describe a continuación (indicadas en el orden de análisis preferido):

- a) Cualquier muestra obtenida para la detección del virus debe ser analizada mediante el aislamiento viral o RT-qPCR. Un resultado positivo confirmará el caso, mientras que un resultado negativo no será concluyente.
- b) Si procede, se hará análisis para dengue u otras enfermedades arbovirales, si procede, con el objeto de descartar la infección por dengue u otros arbovirus (por ejemplo, muestras procedentes de una zona endémica de una enfermedad arboviral).
- c) Si se obtiene una segunda muestra de suero, y el suero de la fase aguda es IgG-negativo, debe analizarse la presencia de IgG en la segunda muestra. La seroconversión confirmará el caso. Si el suero de la fase aguda es IgG-positivo, puede usarse una prueba validada para documentar un aumento significativo del título entre la primera y la segunda muestra de suero (las dos muestras deben procesarse en el mismo análisis).
- d) Si solo se dispone de una muestra de suero y el resultado es IgG-positivo, debe analizarse la avidéz de la IgG para el sarampión o la rubéola.

Un resultado de IgG con avidéz baja puede usarse para confirmar el caso.

SITUACIÓN 2. Resultado de IgM-positivo contra sarampión Y contra rubéola, y el paciente no tiene antecedentes de vacunación reciente.

Esta situación (IgM-positivo para el sarampión y la rubéola) puede indicar una reacción inespecífica (es decir, debe considerarse la posibilidad de otro agente causal porque no se han descrito infecciones simultáneas por ambos virus de tipo salvaje y las infecciones de manera secuencial serían muy infrecuentes en un contexto de eliminación). En colaboración con el epidemiólogo de investigación, deben descartarse otras causas probables, como el parvovirus B19 o el dengue u otras enfermedades arbovirales, si fuera posible. Deben intentarse otras pruebas adicionales, como se describe a continuación, para confirmar la infección por el virus del sarampión o de la rubéola.

- a) Si se obtuvieron muestras para la detección del virus, deben analizarse mediante aislamiento viral o RT-qPCR. Un resultado positivo confirmará el caso, mientras que un resultado negativo no será concluyente.
- b) Si procede, se hará un análisis para dengue u otras enfermedades arbovirales, con el objeto de descartar la infección de dengue u otras arbovirosis.
- c) Si se obtiene una segunda muestra de suero, y el suero de la fase aguda es IgG-negativo, debe analizarse la presencia de IgG en la segunda muestra. La seroconversión para el sarampión o para la rubéola confirmará el caso.
- d) Si solo se dispone de una muestra de suero y el resultado de la es IgG-positivo, debe analizarse la avidéz de la IgG contra el sarampión y la rubéola. Un resultado de IgG con avidéz baja puede usarse para confirmar una infección reciente de sarampión o de rubéola.

SITUACIÓN 3. Resultado IgM-positivo contra el sarampión O contra la rubéola y el caso recibió una vacuna en las 8 semanas previas a la aparición de la erupción y tiene antecedentes recientes de exposición al sarampión o la rubéola.

Esta es una situación frecuente durante los brotes en los que la vacunación forma parte de la estrategia de control del brote. En este caso, la respuesta serológica no puede ser usada para diferenciar la infección natural de una reacción a la vacuna y se necesita una caracterización genética del virus aislado o un producto de PCR.

- a) Si se obtienen muestras para la detección del virus se debe intentar el aislamiento del virus en cultivo celular (excepto las muestras de líquido bucal) o la detección del virus con el empleo de RT-qPCR. La confirmación de la presencia del virus de tipo salvaje mediante el análisis de la secuencia confirmará el caso, mientras que la detección de una secuencia de una cepa vacunal lo descartará.
- b) Si solamente se dispone de una muestra de suero y la muestra se obtuvo dentro de los 3 días de la aparición de la erupción, un resultado IgG-positivo puede descartar que se trate de un caso de rubéola aguda (no aplica para sarampión). Un resultado de IgG-negativo, requiere de pruebas virológicas para confirmar el caso.

SITUACIÓN 4. Resultado de IgM-negativo contra el sarampión O contra la rubéola en una muestra de suero de la fase aguda que se obtuvo dentro de los 3 días de aparición de la erupción y hay una sospecha fuerte de sarampión o rubéola debido a un viaje reciente, una exposición reciente, o porque el caso no tiene ningún antecedente de vacunación.

- a) Si se obtienen muestras para la detección del virus, deben ser analizadas mediante aislamiento viral o RT-qPCR. Un resultado positivo confirmará el caso, mientras que un resultado negativo no será concluyente.
- b) Si solamente se dispone de una muestra de suero, debe analizarse la posible presencia de IgG contra el sarampión o la rubéola. Un resultado IgG-positivo para rubéola puede descartar el caso si se conoce la fecha de aparición de la erupción y la muestra se obtuvo dentro de los 3 de aparición de la erupción (no aplica para sarampión). Un resultado IgG-negativo necesitará una segunda muestra de suero para análisis de seroconversión de IgG o muestras para pruebas virológicas para confirmar el caso.

c) Si se obtiene una segunda muestra de suero después de 3 días de la aparición de la erupción, debe realizarse una prueba de IgM contra el sarampión o la rubéola, un resultado positivo confirmará el caso. Se confirma el caso si el suero de la fase aguda es IgG-negativo y el suero de la segunda muestra es IgG-positivo, la seroconversión de IgM e IgG permitirá confirmar el caso con mayor certeza.

SITUACIÓN 5. Resultado de IgM-negativo o indeterminado contra el sarampión o la rubéola

en una muestra de suero de la fase aguda obtenido dentro de los 3 días de la aparición de la erupción y hay una sospecha fuerte de sarampión o rubéola debido a un viaje reciente, una exposición reciente a un caso confirmado o por un antecedente previo de vacunación (> 4 meses antes de la aparición de la erupción).

- a) Debe repetirse el análisis de IgM y debe realizarse análisis de IgG.
- b) Si se obtienen muestras para la detección del virus, debe analizarse con técnicas de aislamiento

viral o RT-qPCR. Un resultado positivo confirmará el caso, mientras que un resultado negativo no será concluyente.

- c) Si solo se dispone de una muestra de suero, debe analizarse la posible presencia de IgG contra el sarampión o la rubéola. Un resultado IgG-positivo para rubéola puede descartar esta enfermedad si se conoce la fecha de aparición de la erupción y si la muestra se obtuvo dentro de los 3 días de la aparición de la erupción (no aplica para sarampión). Si el resultado es IgG-negativo, se necesitarán los resultados de una segunda muestra de suero o de muestras para pruebas virológicas para confirmar el caso.
- d) Se debe analizar una segunda muestra de suero para detectar IgM contra el sarampión o la rubéola, obtenida entre el día 4 al 30 posterior a la erupción. La seroconversión de IgM-negativo a IgM-positivo confirmará el caso con mayor prontitud.
- e) La seroconversión de IgG contra el sarampión o la rubéola también permite confirmar el caso.

6. Algoritmo para la realización de las pruebas

Con objeto de estandarizar el uso de los análisis disponibles en la RRLSR, la OPS ha elaborado dos algoritmos que deben seguir los laboratorios para mejorar el estudio de los casos y optimizar el uso de los recursos. El primero es un algoritmo de rutina (véase el anexo 6) para los análisis de muestras de casos sospechosos de sarampión o rubéola, que incluye pruebas serológicas y virológicas. El segundo, denominado algoritmo complementario (véase el anexo 7), proporciona orientación para el análisis de las muestras serológicas cuando las pruebas previas han dado un resultado de IgM-positivo o indeterminado (o equívoco).

6.1 Algoritmo de rutina para el análisis de caso sospechoso de sarampión o rubéola

La vigilancia rutinaria de laboratorio para el sarampión y la rubéola se basa en la detección de la IgM mediante ELISA. Todas las muestras de suero de los casos sospechosos de sarampión y rubéola deben ser analizadas simultáneamente para determinar anticuerpos IgM contra el sarampión y la rubéola. En un contexto de eliminación de las enfermedades, **cualquier resultado IgM-positivo o indeterminado (o equívoco) debe ser analizado de nuevo**. Si el resultado de **la repetición del análisis** es indeterminado, el resultado final debe considerarse “indeterminado” y deben seguirse los criterios orientativos del anexo 6 para documentar las medidas adoptadas para intentar clasificar el caso.

Todo resultado IgM-positivo debe notificarse de inmediato al sistema de vigilancia y a la institución de salud que remitió la muestra. Si se dispone de muestras para la detección del virus, deben analizarse con el empleo de RT-qPCR y debe intentarse identificar el genotipo en las muestras positivas (en el número recomendado de casos por brote, o por intervalo de tiempo si se trata de un brote que se mantiene por varios meses).

En los casos con resultado de IgM-positivo, en los que se sospecha un IgM-positivo falso (es decir, la evidencia clínica o epidemiológica sugiere que no se trata de casos de sarampión o rubéola), el laboratorio puede contemplar la realización de un diagnóstico diferencial teniendo en cuenta otras enfermedades eruptivas como las producidas por los arbovirus, el parvovirus B19 o el herpesvirus humano 6 (HHV-6), entre otros. Cada laboratorio miembro de la RRLSR debe consultar con el epidemiólogo y trabajar juntos en la determinación del mejor procedimiento a seguir en función de la propagación geográfica, las circunstancias locales y los recursos disponibles.

Si el resultado es IgM-negativo, se debe informar de ello tanto al sistema de vigilancia como a la institución de salud que remitió la muestra. Si se sospecha un resultado IgM-negativo falso (debido a la presentación clínica del caso y a la evaluación del riesgo epidemiológico), y la muestra de suero se obtuvo dentro de los 3 días de la aparición de la erupción, deben adoptarse las siguientes medidas: 1) debe realizarse una prueba de IgG en la muestra de suero; 2) si se dispone de muestras para la detección del virus, deben analizarse mediante RT-qPCR; y 3) debe solicitarse una segunda muestra de suero para realizar pruebas de IgM/IgG, con el objeto de determinar si hay evidencia de seroconversión.

6.2 Algoritmo complementario para el análisis serológico de muestras con un resultado inicial IgM-positivo o indeterminado

En un contexto de incidencia baja de la enfermedad, el equipo de salud pública se enfrentará con el reto de clasificar un resultado de **IgM-positivo o indeterminado** cuando no se han notificado casos confirmados durante muchos meses o años, o no hay evidencia alguna de viajes o de contacto con casos confirmados. Todos los casos con un resultado inicial de **IgM-positivo o indeterminado** deben ser objeto de un estudio detallado.

Si la primera muestra de suero se consume para realizar la prueba de IgM, se debe solicitar una segunda muestra de suero para realizar análisis de anticuerpos IgG. Si el resultado de la segunda muestra es IgG-negativo, el laboratorio debe notificar el resultado y el caso debe ser descartado (32,33). Si el resultado es IgG-positivo, la muestra debe ser remitida al LRR o al LME para la realización de pruebas de avidéz. Una avidéz baja confirma la infección reciente y una avidéz alta sugiere que la exposición se produjo >3 meses antes de la obtención de la muestra.

Si se dispone de la primera muestra de suero, debe llevarse a cabo análisis de la IgG. Un resultado de IgG-negativo indica una ausencia de inmunidad o de exposición anterior. Un resultado de IgG-positivo requerirá una interpretación cuidadosa para determinar si se produjo como consecuencia de una infección reciente o si hay alguna evidencia indicativa de una inmunidad previa.⁶ Para esclarecer la interpretación del resultado de la IgG en la primera muestra, debe solicitarse una segunda muestra que se obtendrá 14-21 días después de la obtención de la primera muestra de suero.

Si el resultado de la primera muestra analizada es IgG-negativo, y se obtuvo una segunda muestra para análisis de IgG, los resultados deben interpretarse de la siguiente forma: 1) un resultado IgG-positivo en la segunda muestra sugiere una seroconversión (paso de resultado IgG-negativo a IgG-positivo) y un contacto reciente con el virus; 2) si la segunda muestra tiene un resultado de IgG-negativo, no hay evidencia de un contacto con el virus (reciente o antiguo) y se descarta la infección aguda.

Cuando el resultado de la primera muestra es IgG-positivo, la segunda muestra debe analizarse en paralelo con la primera (sueros pareados de la fase aguda y la fase de convalecencia) para determinar los títulos de IgG. Los resultados deben interpretarse según los siguientes criterios: 1) si los títulos de IgG se mantienen estables, no hay evidencia indicativa de un contacto reciente con el virus; 2) si los títulos de IgG aumentan significativamente

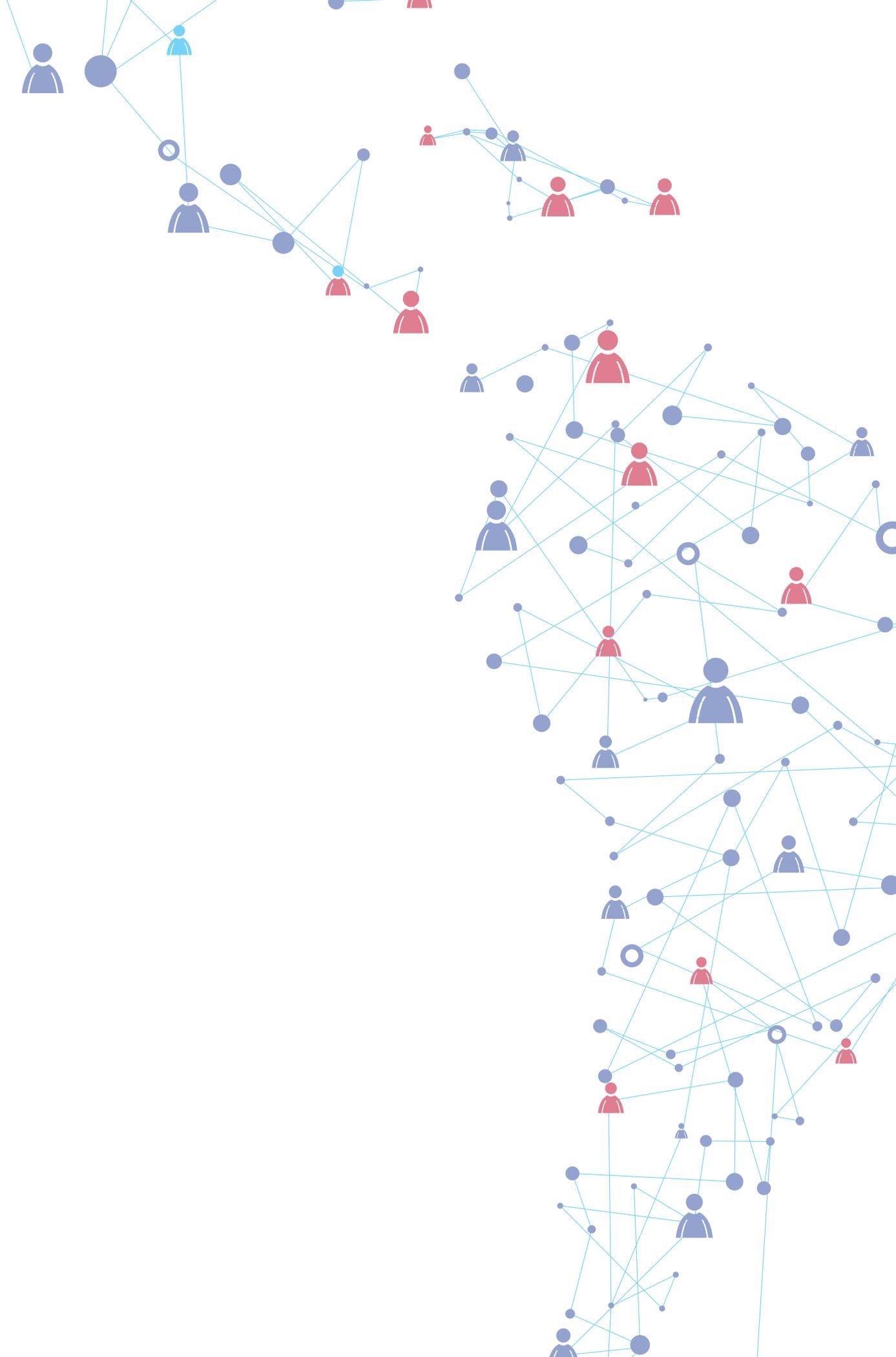
⁶ Estos resultados deben correlacionarse con el momento de obtención de las muestras.

(según los criterios de interpretación de la prueba), hay evidencia indicativa de un contacto o infección reciente por el virus; y 3) si los títulos de IgG aumentan, pero no significativamente, el resultado es indeterminado (no se puede confirmar ni rechazar la posibilidad de un contacto reciente con el virus). Se recomienda comprobar los tiempos de obtención de las muestras para asegurar que se han obtenido durante la fase aguda y la fase de convalecencia (la primera muestra de suero dentro de los 7 días de la aparición de la erupción, y la segunda 14-21 días después de ello). Cuando las muestras de suero se obtienen en un período de tiempo corto, incluso en un caso verdadero, el tiempo que se deja para el aumento del título de IgG no es suficiente para que se produzca un incremento significativo.

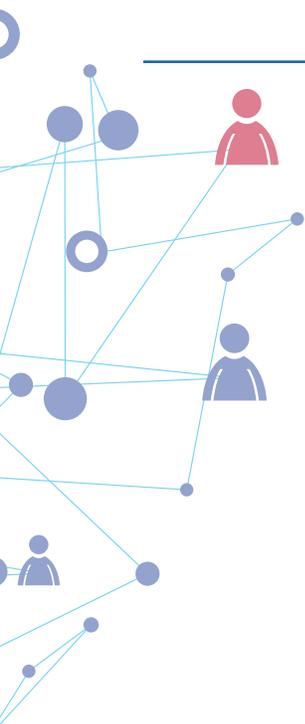
En algunos casos, cuando no es posible obtener una segunda muestra de suero y el resultado de la primera muestra es IgG-positivo, debe realizarse la prueba de avidéz. Si en las pruebas de avidéz se observan anticuerpos IgG con avidéz baja debida a una baja afinidad, el caso del que procede la

muestra ha tenido un contacto reciente con el virus. La presencia de anticuerpos IgG con avidéz alta es evidencia indicativa de que el caso tuvo una respuesta inmunológica frente al virus en el pasado, y puede descartarse la infección reciente. Sin embargo, en algunos casos de reinfección de sarampión o falla secundaria a la vacunación se presenta una avidéz alta y títulos elevados de anticuerpos neutralizantes (34,35,36,37).

Para la clasificación final de un caso, los equipos de salud pública (epidemiología, vacunación, laboratorio) deben analizar los resultados de todas las pruebas realizadas, los datos clínicos y epidemiológicos disponibles (contacto con un caso confirmado previo, contacto con personas extranjeras, visita reciente a países en los que persiste la circulación del virus, signos y síntomas, etcétera). La interpretación correcta de los datos y una clasificación más acertada de los casos pueden fortalecer la ejecución de las actividades apropiadas de control y ayudar a mantener la Región de las Américas libre del sarampión y de la rubéola.



7. Función del laboratorio de sarampión y rubéola durante los brotes



El laboratorio ha desempeñado un papel importante en el sistema de vigilancia de eliminación del sarampión y de la rubéola por la realización de pruebas estandarizadas, la notificación de los resultados y el cumplimiento de normas de alta calidad de una manera oportuna, lo cual ha permitido documentar y comprobar la eliminación de las mencionadas enfermedades en los países de la Región de las Américas.

Será preciso mantener un excelente desempeño de los laboratorios para garantizar la detección temprana de los casos importados y la presentación oportuna de los resultados a las autoridades sanitarias para que puedan tomar las decisiones adecuadas con objeto de reducir al mínimo la probabilidad de dispersión del virus y controlar con éxito los brotes de estas enfermedades.

7.1 Forma de afrontar un caso esporádico importado

- No es posible saber con antelación que el caso es real, de ahí la importancia de mantener el cumplimiento de los tiempos para determinar los indicadores de reporte oportuno de resultados (≤ 4 días).
- Notificar de inmediato el caso a la institución de salud de origen de las muestras y al epidemiólogo responsable del sistema de vigilancia.
- Examinar la disponibilidad de muestras para el análisis virológico y molecular. Realizar pruebas de detección del virus y de determinación del genotipo si se dispone de muestras que lo permitan.
- Ante la sospecha de un resultado positivo falso, realizar un diagnóstico diferencial en función de la situación epidemiológica en la que se encuentre la zona de procedencia del caso y según la disponibilidad de reactivos en el laboratorio.

- Solicitar de inmediato que el personal de salud (institución de salud de origen, epidemiología) obtenga muestras adicionales para realizar las pruebas complementarias. Se recomienda especificar el tipo de muestra requerida y el momento apropiado para obtenerla.
- Llevar a cabo, según la disponibilidad de muestras y la capacidad técnica instalada, las pruebas de laboratorio adicionales, seroconversión de IgG, avidéz de la IgG, PCR, secuenciación.
- Notificar a epidemiología los resultados de las pruebas adicionales o complementarias.
- Participar activamente en la unidad de estudio de los casos.
- Enviar las muestras junto con la información del caso al LRR o al LME para la realización de pruebas de confirmación y de control de calidad.
- Examinar la disponibilidad de reactivos y recursos humanos que permitan al laboratorio responder a un aumento en la notificación de casos (más muestras, más pruebas).
- Notificar a los responsables de la gestión del laboratorio las existencias disponibles y la necesidad de recursos adicionales.

Notificar a los responsables de la gestión del laboratorio las existencias disponibles y la necesidad de recursos adicionales.

7.2 Forma de afrontar una cadena de transmisión

- El cumplimiento de los indicadores de vigilancia es de la máxima importancia y deben realizarse todos los esfuerzos posibles para asegurar que se sigan dichos indicadores.
- En todas las muestras recibidas de localidades o municipios con casos confirmados deben realizarse análisis específicos para el virus identificado en la transmisión (5); no es necesario llevar a cabo un diagnóstico diferencial con el otro virus que está siendo objeto de la vigilancia integrada.
- Confirmar la presencia del virus y documentar el genotipo viral asociado a la cadena de transmisión.
- Se recomienda la vigilancia virológica para un brote de sarampión o de rubéola. Para evitar la saturación del laboratorio, optimizar el uso de los recursos y asegurar el apoyo del laboratorio antes,

durante y después del brote; debe darse prioridad a las siguientes muestras en el análisis de RT-qPCR:

- Los primeros 3 a 10 casos sospechosos que estén directamente relacionados con el caso índice.
- Los primeros 3 a 10 casos sospechosos que se presenten en una nueva localidad o municipio.
- Los primeros 3 a 10 casos sospechosos que se presenten cada dos meses en la misma localidad o municipio donde se han confirmado los casos.
- La búsqueda activa de laboratorio debe considerarse una estrategia útil para documentar la presencia de casos, especialmente al comienzo del brote en las zonas o los períodos de tiempo en los que ha habido puntos débiles en la vigilancia. Deben seguirse los criterios a, b y c del apartado 4.2.1 de este documento, y adicionalmente, la muestra se obtuvo dentro de los 30 días anteriores a la fecha de erupción del caso índice y en el mismo municipio.
- La búsqueda activa de laboratorio debe considerarse también uno de los componentes necesarios para documentar el cese de la transmisión del virus en una comunidad y como parte de la evidencia clave para dar por concluido un brote. Deben seguirse los criterios apartados en el numeral 4.2.3 de este documento.
- Todas las muestras de casos sospechosos que procedan de municipios o estados en donde no se haya documentado la circulación del virus del sarampión o de la rubéola, o en donde no haya antecedentes de un nexo o vínculo epidemiológico con un caso confirmado, deben continuar analizándose según el algoritmo definido para la vigilancia integrada del sarampión y la rubéola.

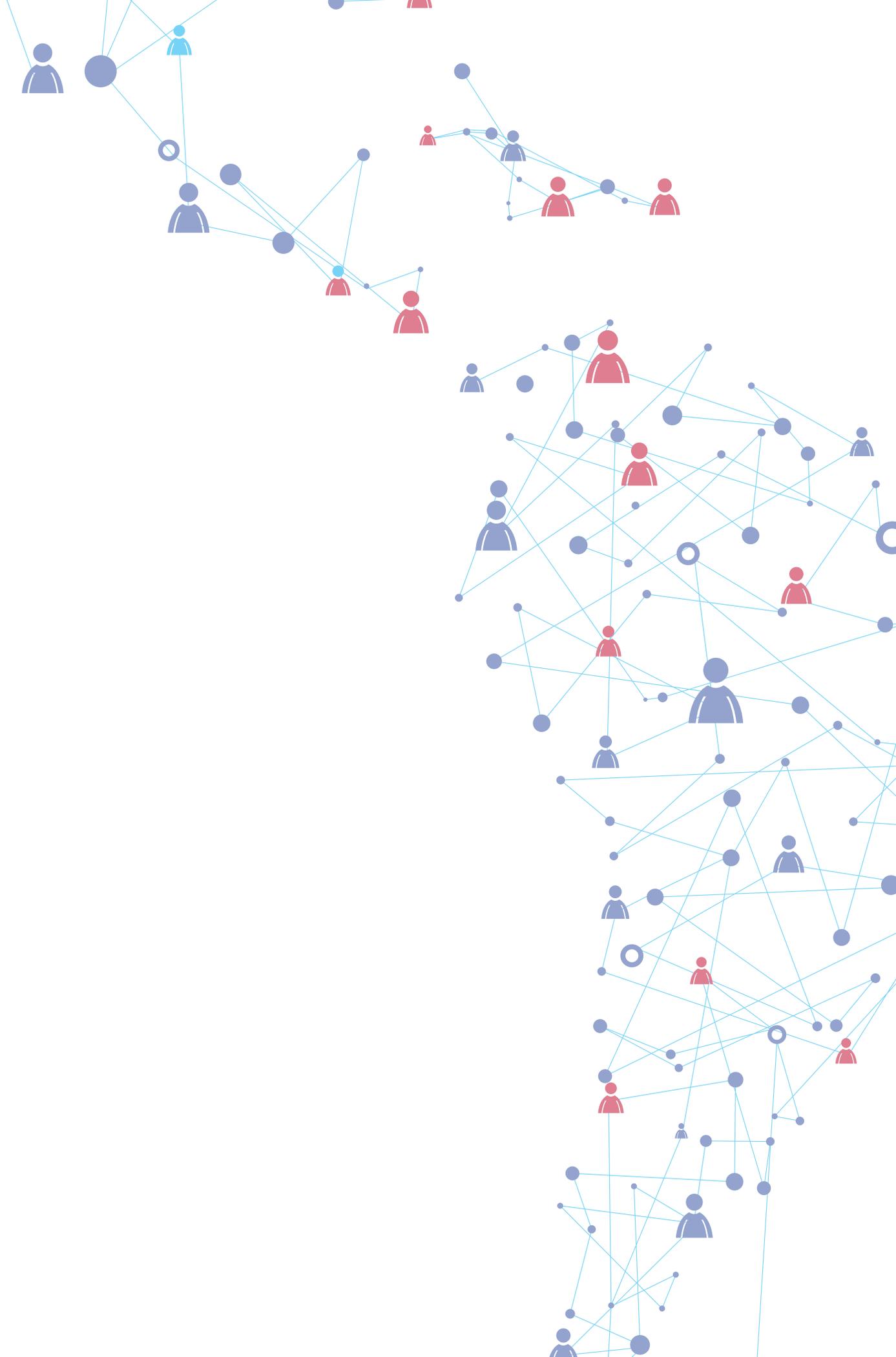
Es importante llevar a cabo un seguimiento virológico del brote, principalmente para contar con evidencia indicativa de una nueva importación o de la introducción de un nuevo genotipo (Anexo 9 y 10). Esto será muy útil si finalmente la transmisión se mantiene durante más de 12 meses, lo cual indicará que debe considerarse que se ha producido un restablecimiento de la circulación del virus y, por consiguiente, que se ha perdido la situación de eliminación.

7.3 Recomendaciones adicionales frente a las cadenas de transmisión del sarampión o de la rubéola

- Comprobar la disponibilidad o la existencia de los reactivos y optimizar la respuesta de laboratorio en función de la situación epidemiológica y de los recursos existentes.
- Priorizar el análisis de las muestras de zonas o localidades donde no se haya confirmado anteriormente la circulación del virus, junto con aquellas en las que hay un contacto con casos positivos o con casos con un cuadro clínico muy indicativo.
- Mantener una comunicación permanente con el personal que trabaja sobre el terreno; formular las recomendaciones necesarias para optimizar la obtención, manejo y transporte de las muestras.
- Estar alerta respecto a la posible presencia de casos de reinfección por el virus del sarampión, con objeto de evaluar si el laboratorio dispone de la capacidad de realizar las pruebas que permitan analizar adecuadamente tales casos.
- Llevar un inventario actualizado de los reactivos y los recursos humanos disponibles para mantener la capacidad de respuesta del laboratorio durante varias semanas o meses. Optimizar el uso de los reactivos, los recursos humanos y las muestras.

- Notificar regularmente a los responsables de la gestión del laboratorio las existencias disponibles y la necesidad de recursos adicionales.
- Solicitar el apoyo del laboratorio de referencia y de la OPS de ser necesario.
- Mantener una base de datos con un inventario de todas las muestras que se reciben en el laboratorio, las pruebas realizadas, los resultados notificados y las fechas correspondientes.
- Mantener las buenas prácticas de laboratorio, velando por la calidad de los resultados presentados al sistema de vigilancia.
- Presentar al director del laboratorio y al epidemiólogo responsable de la respuesta al brote un informe agregado de las actividades llevadas a cabo por el laboratorio (véanse los anexos 8, 9 y 10).
- No dejarse presionar por el entorno y mantener los criterios técnicos según las recomendaciones de la RRLSR.

La información epidemiológica y de laboratorio permitirá documentar adecuadamente las cadenas de transmisión, optimizar los recursos y orientar la implementación de las las medidas de control adecuadas.

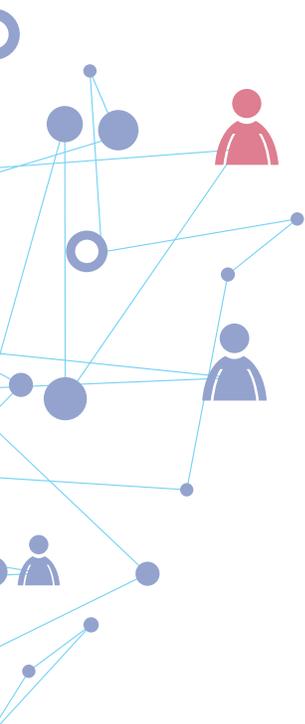


8. Garantía de la calidad

Disponer de la documentación adecuada para demostrar que se ha alcanzado la eliminación del sarampión y de la rubéola requiere que los LN produzcan datos de vigilancia de laboratorio con la calidad más alta posible (38). La documentación incluye informes de cada país de la Región basados en los resultados de un laboratorio acreditado. La acreditación como laboratorio de sarampión y rubéola dentro de la RMLSR es examinada anualmente por la OPS/OMS (en el propio centro o a distancia), basándose en el funcionamiento del laboratorio durante los 12 meses previos, y se le concede la aprobación para los 12 meses siguientes. El objetivo es supervisar la calidad de la RMLSR y esto resulta útil para detectar los posibles problemas o fortalecer la capacidad en caso de que pueda ser necesario.

El proceso de revisión para la acreditación mundial evalúa los siguientes componentes:

- reporte oportuno de los resultados de IgM al sistema de vigilancia;
- precisión en la detección de IgM;
- aplicación de procedimientos internos de control de calidad;
- competencia en las pruebas de IgM;
- competencia en las pruebas moleculares;
- presentación oportuna de los resultados de detección de ARN y determinación del genotipo al sistema de vigilancia y a la OPS/OMS;
- remisión oportuna de muestras para el aislamiento y detección de los virus al LRR;
- capacitación y cualificación del personal de laboratorio;
- procedimientos de trabajo de laboratorio y normas de trabajo:
 - espacio y salas disponibles,
 - gestión y supervisión,
 - procedimientos estandarizados de trabajo para el manejo e inventario de las muestras, incluidos los protocolos de bioseguridad y de contención del material infeccioso,
 - equipo,
 - suministros,
 - comunicación con el personal de epidemiología y vigilancia,
 - gestión de los datos;



- puntuación obtenida en la revisión de los procedimientos de trabajo de laboratorio y las normas de trabajo, realizado en el propio centro.
- capacidad del laboratorio de realizar el aislamiento de virus, la detección de ARN, la secuenciación, las pruebas de avidéz de la IgG y otras pruebas para el diagnóstico diferencial si se dispone de los recursos necesarios.

Además, la RRLSR evalúa lo siguiente:

- Notificación trimestral a la OPS de los casos esporádicos de sarampión o de rubéola con resultado de IgM-positivo o indeterminado.
- Funcionamiento de las redes de laboratorios subnacionales, si procede.

En los apartados siguientes se abordan los componentes relacionados con la garantía de la calidad de las pruebas ordinarias, así como la notificación de los resultados en el marco de la RRLSR.

8.1 Participación en el programa mundial de pruebas de competencia de las pruebas de IgM

En el año 2000, la RMLSR puso en marcha un programa mundial de pruebas de competencia basado en el empleo de un panel con 20 muestras de suero de pacientes con antecedentes recientes de sarampión, rubéola u otras enfermedades eruptivas.

Los paneles de pruebas de competencia (PC) se proporcionan a los miembros de la RMLSR para evaluar su capacidad de detección de IgM contra el sarampión y la rubéola utilizando la prueba de ELISA. Los paneles de PC son preparados por el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas Victoriano (VIDRL por su sigla en inglés) de Melbourne (Australia). El VIDRL es un LRR para la Región del Pacífico Occidental y, por designación de la RMLSR de la OMS, está a cargo de la producción de los paneles de PC y de los informes de evaluación (39). En la Región de las Américas, la distribución de los paneles a los miembros de la RRLSR es coordinada por los CDC, como LME, conjuntamente con representantes del programa del país, los gerentes de los laboratorios y el CRL.

Los análisis y la presentación de los resultados deben ser oportunos, según se describe en los documentos

de acreditación. Los resultados se envían a la OPS, a la sede de la OMS en Ginebra y al VIDRL. Tras la presentación de los resultados, el laboratorio recibe un informe del VIDRL en un plazo de 10 días.

El CRL debe: 1) realizar un seguimiento de la participación de los LN en el programa de PC respecto a la IgM, y 2) elaborar planes de mejoramiento en todos los casos en los que se demuestre un desempeño bajo, trabajando en colaboración con el personal de esos laboratorios para mejorar su capacidad.

8.2 Control de calidad indirecto de las pruebas de IgM

El envío de suero de los análisis rutinarios realizados en los LN al laboratorio de referencia designado (LLR o LME) para el control de calidad (precisión) es un componente importante del programa de garantía de la calidad de la RMLSR.

Con el fin de asegurar que haya un nivel alto de confianza en la calidad de las pruebas serológicas llevadas a cabo por la RRLSR para la detección de la IgM (contra el sarampión y la rubéola), una vez por año todos los LN deben enviar muestras de suero al LRR (establecido por el CRL) con objeto de evaluar el control de calidad. Las muestras deben seleccionarse aleatoriamente entre las procesadas en los 12 meses anteriores, deben tener un volumen suficiente y deben organizarse de forma consecutiva respecto a los resultados de IgM. Se deben cumplir los siguientes criterios en la selección de las muestras:

- al menos 10 muestras con resultado IgM-negativo contra el sarampión;
- hasta 10 muestras con resultado IgM-positivo contra el sarampión;
- al menos 10 muestras con resultado IgM-negativo contra la rubéola;
- hasta 10 muestras con resultado IgM-positivo contra la rubéola; y
- hasta 10 muestras con resultado indeterminado de IgM contra el sarampión o la rubéola.

El LN debe completar el formulario para el envío de las muestras al LRR o al LME para la evaluación del control de calidad (anexo 2) y debe incluirlo en el envío. El LRR utilizará el formulario que reciba para actualizar el registro de los resultados.

Las pruebas diagnósticas realizadas por el LN serán analizadas por el LME o el LRR, y los resultados se comunicarán al LN que remitió las muestras y al CRL. En el caso de resultados discordantes, se realizarán pruebas adicionales o se realizarán consultas con el LME o el LRR a través del CRL para abordar cualquier problema percibido. Los resultados de la evaluación del control de calidad se registrarán en la lista de verificación para la acreditación anual de la OPS/OMS y formarán parte de la puntuación de acreditación.

8.3 Participación en el programa mundial de pruebas de competencia de las pruebas moleculares

Desde el año 2015, la OMS y los CDC han puesto en marcha un programa de PC para las técnicas moleculares. Los miembros de la RMLSR que realizan pruebas moleculares participan en este programa.

El panel de PC consta de discos de papel de filtro de FTA® 4 que contienen lisados de células infectadas por el virus del sarampión o de la rubéola de tipo salvaje. Todos los discos son no infecciosos y el ARN debe extraerse y analizarse con los análisis moleculares que se usan en el laboratorio. Los resultados deben presentarse utilizando el formulario de notificación que se proporciona con el panel de PC.

Los resultados del panel de PC enviados por los LN y los LRR son evaluados por el LME (CDC) basándose en los siguientes criterios:

- la capacidad de detectar el ARN del sarampión y rubéola mediante RT-qPCR;
- la capacidad de generar los amplicones necesarios para el análisis del genotipo; y
- la capacidad de realizar la secuenciación y el análisis de la secuencia para identificar correctamente el genotipo del virus.

Con el empleo de estos criterios, el análisis molecular es evaluado por el LME y se notifica al laboratorio participante y al CRL. En algunos casos se solicita a los LN que repitan el análisis de una o varias

muestras y que presenten el resultado correcto antes de considerar que el laboratorio es competente en el análisis molecular. Estos resultados deben incluirse en la lista de verificación para la acreditación anual de la OPS/OMS y se tienen en cuenta en la puntuación de acreditación.

8.4 Control de calidad de los análisis moleculares: RT-qPCR y secuenciación

La sensibilidad alta de los métodos de PCR puede conducir a resultados positivos falsos causados por la contaminación por productos de PCR anteriores o amplicones.² También es posible una contaminación cruzada entre las muestras (40).

El cumplimiento de las recomendaciones que se brindan a continuación puede reducir la probabilidad de contaminación:

- mantenga un flujo de trabajo unidireccional.
- asegúrese de que no haya ningún intercambio de suministros o equipo entre el espacio en el que se prepara la muestra y el espacio en el que se preparan los reactivos, ni entre los espacios en los que se realiza la amplificación o detección y los de preparación de las muestras.
- utilice guantes en todos los experimentos para prevenir la contaminación con las ribonucleasas (RNasas) que se encuentran en las manos.
- cámbiese los guantes después de tocar la piel, las perillas de las puertas y las superficies comunes.
- utilice un conjunto exclusivo de pipetas que se usen únicamente para el trabajo de ARN.
- utilice puntas de filtro y tubos que hayan sido comprobados y estén garantizados como libres de RNasas.
- utilice químicos y reactivos libres de RNasas.
- reduzca la contaminación con RNasas limpiando las gradillas de tubos, las micropipetas mecánicas y la superficie de trabajo de la campana de PCR con etanol al 70% y con toallitas RNase Zap®.³
- reduzca la contaminación por ácido desoxirribonucleico (ADN) con exposición a luz ultravioleta durante 15 minutos (según los protocolos de los CDC).

² Segmentos de ADN a los que se ha aplicado una amplificación y que, por lo tanto, contienen material genético replicado.

³ <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/AM9780>

8.5 Documentación de casos esporádicos con IgM-positivo

El CRL preparará resúmenes que incluyan todos los datos de desempeño del laboratorio, como el estado de la acreditación, los resultados obtenidos en los paneles de PC y las pruebas confirmatorias. El resumen se distribuirá a todos los miembros de la RRLSR y a las personas responsables de los programas de lucha contra el sarampión y la rubéola de los países. Estos datos serán fundamentales en la evaluación de la calidad de los análisis de laboratorio durante la fase posterior a la eliminación del sarampión y la rubéola en la Región de las Américas.

Debe proporcionarse trimestralmente al CRL (véase el anexo 3) la documentación de los casos esporádicos con resultado de IgM-positivo, independientemente de su clasificación final (véase la sección 5). Se espera que haya casos esporádicos con resultado IgM-positivo cuando la prevalencia de la enfermedad es baja (véase el anexo 4); estos casos sirven para medir la capacidad del sistema de vigilancia (30). El registro de estos casos en un formato estandarizado: 1) permite una evaluación consolidada de estos casos como parte de la revisión general de la vigilancia de laboratorio; 2) facilita la clasificación de los casos; y 3) facilita que se genere información para que sea publicada en los artículos científicos y proporciona también evidencia de gran valor para generar directrices.

8.6 Notificación de los datos

La notificación estandarizada es fundamental para el éxito de la RRLSR. Se recomienda adherirse a los protocolos recomendados para la notificación de los

datos. La mayoría de los laboratorios informan los resultados serológicos de rutina a la OPS mediante el Sistema de Vigilancia para la Eliminación del Sarampión o la base de datos del Sistema Integrado de Información de Vigilancia. El informe de los resultados debe incluir la siguiente información mínima: nombre del laboratorio, tipo de muestra, número de registro del laboratorio, número de identificación de la muestra, última vacuna contra sarampión y rubéola, fecha de aparición de la erupción, fecha de obtención de la muestra, fecha de recepción, tipo de prueba, resultado de cada prueba, criterios de interpretación de cada prueba, fecha de presentación de los resultados, y nombre de la persona a cargo del laboratorio o la persona que realizó las pruebas.

La notificación oportuna de los datos de secuenciación y la información del genotipo del virus es un componente fundamental de la vigilancia de laboratorio en un contexto de eliminación y en la fase posterior a la eliminación. Tras la identificación de un genotipo, los laboratorios que realizan análisis de la secuencia deben notificarlo al CRL lo antes posible. Debido a las complejidades del análisis de la secuencia, especialmente para el virus de la rubéola pero también para el virus del sarampión, las determinaciones de genotipos (filogramas) pueden ser compartidas con los LRR o los LME antes de enviar la información a las bases de datos. La información del genotipo del virus debe transmitirse a las bases de datos mundiales de secuencias del sarampión y la rubéola de la OMS, Measles Nucleotide Surveillance-MeaNS⁴ y Rubella Nucleotide Surveillance-RubeNS⁵ y al CRL, en un plazo de dos meses después de la recepción de las muestras.

⁴ <http://www.who-measles.org>

⁵ www.who-rubella.org

9. Referencias bibliográficas

1. Organización Panamericana de la Salud. Elimination of measles in the Americas. XXIV Meeting of the Pan American Sanitary Conference, Washington, DC, 1995.
2. de Quadros CA, Olive JM, Hersh BS, Strassburg M, Henderson DA, Brandling-Bennett D, et al. Measles elimination in the Americas—evolving strategies. *JAMA* 1996; 275:224-9.
3. Organización Panamericana de la Salud. XVIII Reunión del Grupo Técnico Asesor (GTA) sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación, Costa Rica, 2009.
4. Organización Panamericana de la Salud. Plan de acción para la documentación y verificación de la eliminación del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita en la Región de las Américas. Washington: OPS; 2011.
5. Organización Mundial de la Salud. Framework for verifying elimination of measles and rubella. *WER* 2013, 88(9), 89-100.
6. Organización Panamericana de la Salud. Measles elimination field guide. 2ª ed. Washington: OPS; 2005. Disponible en: http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/FieldGuide_Measles_2nd_Ed_e.pdf.
7. Región del Pacífico Occidental de la OMS. Measles Elimination Field Guide. 2013.
8. Venczel L, Rota J, Dietz V, Morris-Glasgow V, Siqueira M, Quiroz E, et al. The Measles Laboratory Network in the Region of the Americas. *J Infect Dis.* 2003; 187 Suppl 1:S140-5.
9. Roush SW, Beall B, Cassidy P, Gentsch J, Icenogle J, Mayer L, et al. Chapter 22: Laboratory support for surveillance of vaccine-preventable diseases. En: Roush SW, Baldy LM, editores. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. 5ª ed. Atlanta: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades; 2012.
10. Organización Mundial de la Salud. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection. 2ª ed. Ginebra: OMS; 2007.
11. Bispo de Filippis AM, Icenogle J, Matus CR, Andrus JK. Enhanced laboratory surveillance for the elimination of rubella and congenital rubella syndrome in the Americas. *J Infect Dis.* 2011;204 Suppl 2:S652-8.
12. McLean H, Redd S, Abernathy E, Icenogle J, Wallace G. Capítulo 14: Rubella. En: Roush SW, Baldy LM, editores. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. 5ª ed. Atlanta: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades; 2012.
13. Moss WJ, Griffin DE. Measles. *Lancet.* 2012; 379(9811):153-64.
14. Abernathy E, Cabezas C, Sun H, Zheng Q, Chen MH, Castillo-Solorzano C, et al. Confirmation of rubella within 4 days of rash onset: comparison of rubella virus RNA detection in oral fluid with Immunoglobulin M detection in serum or oral fluid. *J Clin Microbiol.* 2009;47(1):182-8.
15. Ozanne G, d'Halewyn MA. Performance and reliability of the Enzygnost measles enzyme-linked immunosorbent assay for detection of measles virus-specific immunoglobulin M antibody during a large measles epidemic. *J Clin Microbiol.* 1992;30(3):564-9.
16. Tipples GA, Hamkar R, Mohktari-Azad T, Gray M, Parkyn G, Head C, et al. Assessment of immunoglobulin M enzyme immunoassays for diagnosis of measles. *J Clin Microbiol.* 2003;41(10):4790-2.
17. Cohen BJ, Dobals D, Andrews N. Comparison of plaque reduction neutralisation test (PRNT) and measles virus-specific IgG ELISA for assessing immunogenicity of measles vaccination. *Vaccine.* 2008;26(50):6392-7.
18. Pannuti CS, Morello RJ, Moraes JC, Curti SP, Afonso

- AM, Camargo MC, et al. Identification of primary and secondary measles vaccine failure by measurement of immunoglobulin G avidity in measles cases during the 1997 São Paulo epidemic. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004;11(1):119–22.
19. Paunio M, Hedman K, Davidkin I, Valle M, Heinonen OP, Leinikki P, et al. Secondary measles vaccine failures identified by measurement of IgG avidity: high occurrence among teenagers vaccinated at a young age. *Epidemiol Infect*. 2000;124(2):263–71.
 20. Mercader S, Garcia P, Bellini WJ. Measles virus IgG avidity assay for use in classification of measles vaccine failure in measles elimination settings. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(11):1810–7.
 21. Mubareka S, Richards H, Gray M, Tipples GA. Evaluation of commercial rubella immunoglobulin G avidity assays. *J Clin Microbiol*. 2006;45(1): 231–3.
 22. Kutty P, Rota J, Bellini W, Redd SB, Barskey A, Wallace G. Capítulo 7: Measles. En: Roush SW, Baldy LM, editors. *Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases*. 6ª ed. Atlanta: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades; 2013.
 23. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Progress toward measles elimination—region of the Americas, 2002–2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2004;53(14):304–6.
 24. Icenogle JP, Siqueira MM, Abernathy ES, Lemos XR, Fasce RA, Torres G, et al. Virologic surveillance for wild-type rubella viruses in the Americas. *J Infect Dis*. 2011;204 Suppl 2:S647–51.
 25. Lazar M, Abernathy E, Chen MH, Icenogle J, Janta D, Stanescu A, et al. Epidemiological and molecular investigation of a rubella outbreak, Romania, 2011 to 2012. *Euro Surveill*. 2016;21(38).
 26. Organización Mundial de la Salud. Measles virus nomenclature update: 2012. *WER*. 2012;87(9):73–81.
 27. Organización Mundial de la Salud. Rubella virus nomenclature. *WER*. 2013;88 (32):337–48.
 28. Organización Mundial de la Salud. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas. Ginebra, Suiza; 2017. Disponible en: <http://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2017.8/en/>
 29. Benamar T, Tajounte L, Alla A, Khebba F, Ahmed H, Mulders MN, et al. Real-time PCR for measles virus detection on clinical specimens with negative IgM result in Morocco. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147154.
 30. Dietz V, Rota J, Izurieta H, Carrasco P, Bellini W. The laboratory confirmation of suspected measles cases in settings of low measles transmission: conclusions from the experience in the Americas. *Bull World Health Organ*. 2004;82(11):852–7.
 31. Vicari AS, Dietz V, Bellini WJ, Icenogle J, Castillo-Solorzano C. Interpretation of measles and rubella serology. En: Andrus JK, de Quadros CA, eds. *Recent advances in immunization*. 2ª ed. Washington, DC: OPS, 2006: 80–96.
 32. Organización Panamericana de la Salud. Measles case classification. II. Frequent dilemmas in the field. *EPI Newsl*. 2001;23(6):3–4.
 33. Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, Rota PA, Mercader S, Bellini WJ. Two case studies of modified measles in vaccinated physicians exposed to primary measles cases: high risk of infection but low risk of transmission. *J Infect Dis*. 2011;204 Suppl 1.
 34. Hickman CJ, Hyde TB, Sowers SB, Mercader S, McGrew M, Williams NJ, et al. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals. *J Infect Dis*. 2011;204 Suppl 1:S549–58.
 35. Rosen JB, Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, Mercader S, Rota PA, et al. Outbreak of measles among persons with prior evidence of immunity, New York City, 2011. *Clin Infect Dis*. 2014;58(9):1205–10.
 36. Sowers SB, Rota JS, Hickman CJ, Mercader S, Redd S, McNall RJ, et al. High concentrations of measles neutralizing antibodies and high-avidity measles IgG accurately identify measles reinfection cases. *Clin Vaccine Immunology*. 2016;23(8):707–16.
 37. Susan J. M. Hahné, Laura M. Nic Lochlainn, Nathalie D. van Burgel, Jeroen Kerkhof, et al. Measles Outbreak Among Previously Immunized Healthcare Workers, the Netherlands, 2014. *J Infect Dis*. 2016 214;(12): 1980–1986.
 38. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Global Measles and Rubella Laboratory Network Support for Elimination Goals, 2010–2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(17):438–42.
 39. Featherstone DA, Rota PA, et al. Expansion of the Global Measles and Rubella Laboratory Network 2005–09. *JID* 2011;204 (Supl 1): S491–98.
 40. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. Quality assurance/quality control guidance for laboratories performing PCR analyses on environmental samples. Washington: EPA; 2004. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-qaqc-pcr.pdf>.

10. Anexos

Anexo 1.A. Formulario para el envío de muestras del LN al LRR o al LME para el control de calidad de las pruebas para el sarampión

Nombre del laboratorio nacional:

País:

Fecha de envío:

N.	Núm. de laboratorio	Nombre o iniciales del paciente	Edad a=años m=meses	Sexo M=masculino F=femenino	Ciudad	Fecha de la última vacuna contra sarampión-rubéola DD/MM/AA	Fecha de aparición de erupción DD/MM/AA	Fecha de obtención de las muestras		Resultados de IgM de sarampión				Resultados de IgG de sarampión 1 ^{er} y 2 ^{do} suero Resultado (mUJ/ml)	
								1 ^{er} suero DD/MM/AA	2 ^{do} suero DD/MM/AA	1 ^{er} suero Valor de OD*	1 ^{er} suero Resultado	2 ^{do} suero Valor de OD*	2 ^{do} suero Resultado	1 ^{er} suero	2 ^{do} suero
1	161	[Nombre o iniciales]	5 a	M	San Carlos	15/01/12	15/05/16	18/05/16	14/06/16	0,212	Positivo	0,095	No determinada	No determinada	No determinada
2	198	[Nombre o iniciales]	14 m	F	San Juan	18/10/16	25/10/16	28/10/16	14/11/16	0,333	Positivo	0,468	Positivo	Positivo (22 mUJ/ml)	Positivo (89 mUJ/ml)
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															

* OD = densidad óptica

Anexo 1.B. Formulario para el envío de muestras del LN al LRR o al LME para el control de calidad de las pruebas para la rubéola

Nombre del laboratorio nacional:

País:

Fecha de envío:

N.	Núm. de laboratorio	Nombre o iniciales del paciente	Edad a=años m=meses	Sexo M=masculino F=femenino	Ciudad	Fecha de la última vacuna contra sarampión-rubéola DD/MM/AA	Fecha de aparición de erupción DD/MM/AA	Fecha de obtención de las muestras		Resultados de IgM de rubéola				Resultados de IgG de rubéola	
								1 ^{er} suero DD/MM/AA	2 ^{do} suero DD/MM/AA	1 ^{er} suero Valor de OD*	1 ^{er} suero Resultado	2 ^{do} suero Valor de OD*	2 ^{do} suero Resultado	1 ^{er} suero	2 ^{do} suero
1	161	[Nombre o iniciales]	8 a	M	San Carlos	15/01/12	15/05/16	18/05/16	14/06/16	0,212	Positivo	0,095	Negativo	No determinada	No determinada
2	198	[Nombre o iniciales]	14 m	F	San Juan	18/10/16	25/10/16	28/10/16	14/11/16	0,333	Positivo	0,468	Positivo	Positivo (22 UI/ml)	Positivo (89 UI/ml)
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															

* OD = densidad óptica

Anexo 2. Formulario para el envío de muestras del LN al LRR o al LME para la confirmación de laboratorio del sarampión y la rubéola

Nombre del laboratorio nacional: País: Fecha de envío:

N.	Núm. de laboratorio	Nombre o iniciales	Edad: a = años/ m = meses	Sexo: M = masculino/ F = femenino	Ciudad y estado	Fecha de la última vacuna contra sarampión - rubéola	Fecha de la erupción DD/MM/AA	Tipo de muestra (suero, orina, hisopado)	Fecha de obtención de las muestras			Resultados de IgM 1º suero		Resultados de IgM 2º suero		Resultados para IgG sarampión		Resultados para IgG rubéola		Otros análisis realizados en el LN y resultados		Pruebas que es necesario realizar en el LRR o el LEM		
									1º suero DD/MM/AA	2º suero DD/MM/AA	Orina o hisopado DD/MM/AA	Sarampión (valor de OD)	rubéola (valor de OD)	1º suero (U/ml)	2º suero (U/ml)	1st sample Result (U/ml)	2nd sample Result (U/ml)	Avidéz de rubéola	RT-qPCR de sarampión					
1	161	(Nombre o iniciales)	8 a	M	San Juan, PR		15/01/12	suero, hisopo	15/01/12	31/01/12	15/01/12	Positivo (0.456)	Resultado rubéola (valor de OD)	Positivo (0.566)	Negativo (0.028)	Positivo (20 UI/ml)	Positivo (87 UI/ml)	No determinada	No determinada	No determinada	No determinada	No determinada	PCR de sarampión	
2																								
3																								
4																								
5																								
6																								
7																								
8																								

*OD = densidad óptica

* Si los LN usan kits de pruebas diferentes de los estandarizados en la RRLSR, incluir el nombre de la prueba y los criterios de interpretación.

Anexo 3. Registro de laboratorio de los casos esporádicos de sarampión o rubéola con un resultado IgM-positivo o indeterminado

Nombre del paciente: _____ ID del caso: _____

Edad del paciente: _____ Residencia (distrito/ciudad): _____

Fecha de la aparición de fiebre: _____ Fecha de la aparición de la erupción: _____

Diagnóstico clínico: Rubéola Sarampión No especificado Otro _____

Sospecha fuerte de sarampión o rubéola: No Sí

¿Antecedentes de la vacunación? (SR o SRP)

Sí, vacunado (responder a todas las preguntas siguientes que procedan) No vacunado Desconocido

1 dosis Fecha: _____ Desconocido

2 dosis Fecha: _____ Desconocido

¿Exposición a un caso confirmado o contacto con visitantes internacionales? No Sí

¿Antecedentes de viaje en los 21 días siguientes a la aparición de la erupción? No Sí

Fecha de regreso del viaje: _____

1. RESULTADOS DE LABORATORIO

1.1 Métodos serológicos

Primera muestra de suero				
Fecha de obtención:				
IgM	Positivo	Negativo	Indeterminado	OD / CO*
Sarampión				
Rubéola				

IgG	Positivo	Negativo	No realizado	OD / CO*
Sarampión				
Rubéola				

Avidez de la IgG	Baja	Alta	Indeterminada
Sarampión			
Rubéola			

Segunda muestra de suero				
Fecha de obtención:				
IgM	Positivo	Negativo	Indeterminado	OD / CO*
Sarampión				
Rubéola				

IgM	Positivo	Negativo	No realizado	Valor (título de IgG**)
Sarampión				
Rubéola				

Avidez de la IgG	Baja	Alta	Indeterminada
Sarampión			
Rubéola			

* OD = densidad óptica / CO = valor de corte

** Para determinar la seroconversión de IgG, la primera y la segunda muestra de suero deben procesarse en el mismo análisis.

1.2 Métodos virológicos

¿Muestra obtenida?	No	Sí	Fecha de obtención	Estado de la muestra
Hisopado faríngeo				
Hisopado nasal				
Hisopado nasofaríngeo				
Orina				

Aislamiento de virus: No Sí Resultado obtenido: Negativo Positivo ...

RT-qPCR: No Sí Resultado obtenido: Negativo Positivo

Genotipo: No Sí Resultado obtenido:

2. ANÁLISIS DEL CASO

Confirmado por laboratorio: No Sí

Descartado en función de

Pruebas de laboratorio: No Sí

Datos clínicos: No Sí

Datos epidemiológicos: No Sí

No pudo descartarse con las pruebas de laboratorio disponibles: No Sí

Si alguna de las respuestas fue "sí", sírvase facilitar información detallada y agregue las observaciones pertinentes.

Nombre y cargo de las personas que participaron en el examen

Lugar y fecha de la revisión del caso:

Anexo 4. Influencia de la prevalencia en el valor predictivo positivo de la prueba

Si bien las pruebas diagnósticas permiten la determinación de anticuerpos contra el virus del sarampión o de la rubéola, es importante tener en cuenta que los resultados de la prueba dependen del cumplimiento de todos los criterios de validez establecidos por el fabricante. Además los resultados pueden depender de la enfermedad en una población determinada.

Para ilustrar mejor esta situación y siguiendo el teorema de Bayes, presentamos una prueba para determinación de anticuerpos IgM contra el sarampión con una sensibilidad del 97% y especificidad del 99% en población de 500 personas, en dos escenarios epidemiológicos diferentes; en un escenario con una prevalencia del 10% y en el otro con una prevalencia del 1%.

El resumen de los resultados obtenidos cada escenario se presenta en el formato de tabla de 2x2 como se muestra a continuación.

Resultado de la prueba	Enfermos	Sanos	Total
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	N

a = enfermo con resultado positivo (verdadero positivo)

b = sanos con resultado positivo (falso positivo)

c = enfermo con resultado negativo (falso negativo)

d = sano con resultado negativo (verdadero negativo)

N = total de la población

a+b = total de individuo con resultado positivo

c+d = total de individuo con resultado negativo

a+c = total de individuo enfermo

b+d = total de individuo sano

VPP = $a/a+b$

VPN = $d/b+d$

Escenario 1: Prevalencia del 10%			
Sensibilidad de la prueba: 97%			
Especificidad de la prueba: 99%			
Resultado de la prueba	Enfermos	Sanos	Total de pruebas
Positivo	49	5	53
Negativo	1	445	447
	50	450	500

VPP = $49/53 = 0,91$

VPN = $445/447 = 0,99$

Escenario 2: Prevalencia del 1%			
Sensibilidad de la prueba: 97%			
Especificidad de la prueba: 99%			
Resultado de la prueba	Enfermos	Sanos	Total de pruebas
Positivo	5	5	10
Negativo	0	490	490
	5	495	500

VPP = $5/10 = 0,50$

VPN = $490/490 = 1$

*Teorema de Bayes: permite calcular el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) a partir de la sensibilidad y especificidad en prevalencias diferentes.

Anexo 5. Resumen de situaciones de casos esporádicos de sarampión o rubéola en los que puede ser necesario realizar pruebas adicionales

Situación	Situación 1	Situación 2*	Situación 3**	Situación 4	Situación 5
Descripción de los casos esporádicos	Sarampión IgM-positivo O Rubéola IgM-positivo	Sarampión IgM-positivo Y Rubéola IgM-positivo	Sarampión IgM-positivo O Rubéola IgM-positivo	Sarampión IgM-negativo O Rubéola IgM-negativo	Sarampión IgM- negativo o indeterminado O Rubéola IgM-negativo o indeterminado
¿Sospecha fuerte de sarampión o rubéola?	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ
¿Antecedentes de vacunación en las 8 semanas previas al inicio de erupción?	NO	NO	SÍ	NO	SÍ (>4 meses)
¿Exposición a un caso confirmado / contacto con visitantes internacionales?	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ
¿Antecedentes de viaje 21 días previos al inicio de erupción?	NO	NO	NO	SÍ	SÍ
Pruebas de laboratorio					
	Requerida	Requerida	Requerida	Requerida	Requerida
	Si el suero de la fase aguda es IgG-negativo, debe analizarse la presencia de IgG en una segunda muestra. Si solo se dispone de una muestra de suero, la prueba de avidez es recomendada.	Si el suero de la fase aguda es IgG-negativo, debe analizarse la presencia de IgG en la segunda muestra. Si solo se dispone de una muestra de suero, la prueba de avidez es recomendada.	Si solo se dispone de una muestra de suero y la muestra se obtuvo dentro de los 3 días de la aparición de la erupción, un resultado: <ul style="list-style-type: none">• IgG-positivo puede descartar un caso de rubéola aguda. No aplica para caso de sarampión.• IgG-negativo requiere de pruebas virológicas para confirmar el caso	Si solamente se dispone de una muestra de suero, un resultado: <ul style="list-style-type: none">• IgG-positivo para rubéola puede descartar el caso si la muestra se obtuvo dentro de los 3 de aparición de la erupción. No aplica para sarampión.• IgG-negativo, necesitará una segunda muestra de suero para análisis de IgG. Si se obtiene una segunda muestra de suero 3 días de la aparición de la erupción se confirma el caso si: <ul style="list-style-type: none">• IgM- positivo• el suero de la fase aguda es IgG-negativo y el suero de la segunda muestra es IgG-positivo.	Si solo se dispone de una muestra de suero, analizar IgG contra el sarampión o la rubéola, un resultado: <ul style="list-style-type: none">• IgG-positivo para rubéola: puede descartar esta enfermedad si la muestra se obtuvo dentro de los 3 días de la aparición de la erupción. No aplica para sarampión.• IgG-negativo, necesita una segunda muestra de suero (obtenida entre el día 4 al 30 posterior a la erupción), para detectar IgM contra el sarampión o la rubéola• La seroconversión de IgM o IgG contra el sarampión o la rubéola permiten confirmar el caso.
Prueba de IgG					

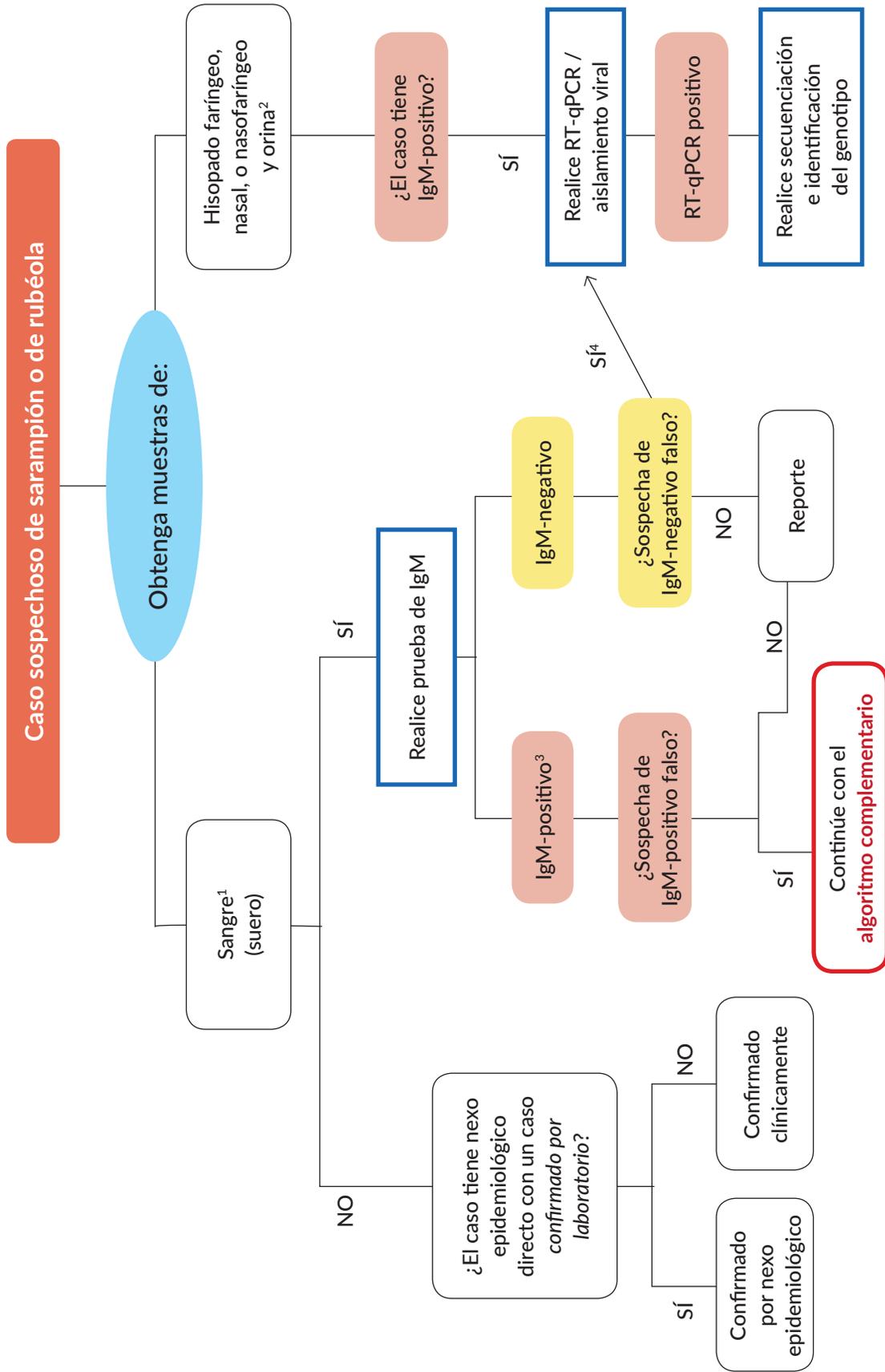
	Requerida	Requerida	No requerida	Requerida	Requerida	Requerida
Seroconversión de IgG	La seroconversión de IgG confirmará el caso si la primera muestra es negativa y la segunda positiva o si hay un aumento significativo de los títulos entre los sueros pareados.	La seroconversión de IgG confirmará el caso si la primera muestra es negativa y la segunda positiva o si hay un aumento significativo de los títulos entre dos sueros pareados.	La respuesta serológica no puede ser usada para diferenciar la infección natural de una reacción a la vacuna	La seroconversión de IgG confirmará el caso si la primera muestra es negativa y la segunda positiva o si hay un aumento significativo de los títulos entre dos sueros pareados.	La seroconversión de IgM o IgG confirmará el caso si la primera muestra es negativa y la segunda positiva o si hay un aumento significativo de los títulos de IgG entre dos sueros pareados.	Requerida
Avidez de IgG	Recomendada Cuando se dispone de solo una muestra de suero y es IgG-positiva. • IgG con avidez baja puede usarse para confirmar una infección reciente.	Recomendada Cuando se dispone de solo una muestra de suero y es IgG-positiva. • IgG con avidez baja puede usarse para confirmar una infección reciente.	No requerida La respuesta serológica no puede ser usada para diferenciar la infección natural de una reacción a la vacuna	No requerida	No requerida	Opcional
Aislamiento de virus o RT-qPCR	Recomendada • Un resultado positivo confirmará el caso. • Un resultado negativo no será concluyente	Recomendada • Un resultado positivo confirmará el caso • Un resultado negativo no será concluyente	Requerida • Se debe intentar aislar el virus en un cultivo celular (excepto las muestras de líquido bucal) • Hacer detección viral por RT-qPCR. • Un resultado positivo requiere la identificación del genotipo	Requerida	Recomendada • Un resultado positivo confirmará el caso. • Un resultado negativo no será concluyente	Requerida Un resultado positivo confirmará el caso, mientras que un resultado negativo no será concluyente
Análisis de la secuencia	Recomendada	Recomendada	Requerida • La detección de un virus de tipo salvaje confirmará el caso • La detección de una secuencia de una cepa vacunal descarta el caso.	Requerida	Recomendada	Recomendada

* Esta situación sugiere una reacción inespecífica, es decir, debe considerarse la posibilidad de otro agente causal porque no se han descrito infecciones simultáneas por ambos virus de tipo salvaje y las infecciones de manera secuencial serían muy infrecuentes en un contexto de eliminación. En colaboración con el epidemiólogo de investigación, deben descartarse otras causas probables, como el parvovirus B19 o el dengue u otros arbovirus, si fuera posible. Deben intentarse otras pruebas adicionales, tal como se ha descrito antes, para confirmar la infección por el sarampión o la rubéola.

** Esta es una situación frecuente durante los brotes en los que la vacunación forma parte de la estrategia de control del brote. En este caso, la respuesta serológica no puede usarse para diferenciar la infección natural de una reacción a la vacuna, y se necesita una caracterización genética del virus aislado o un producto de PCR.

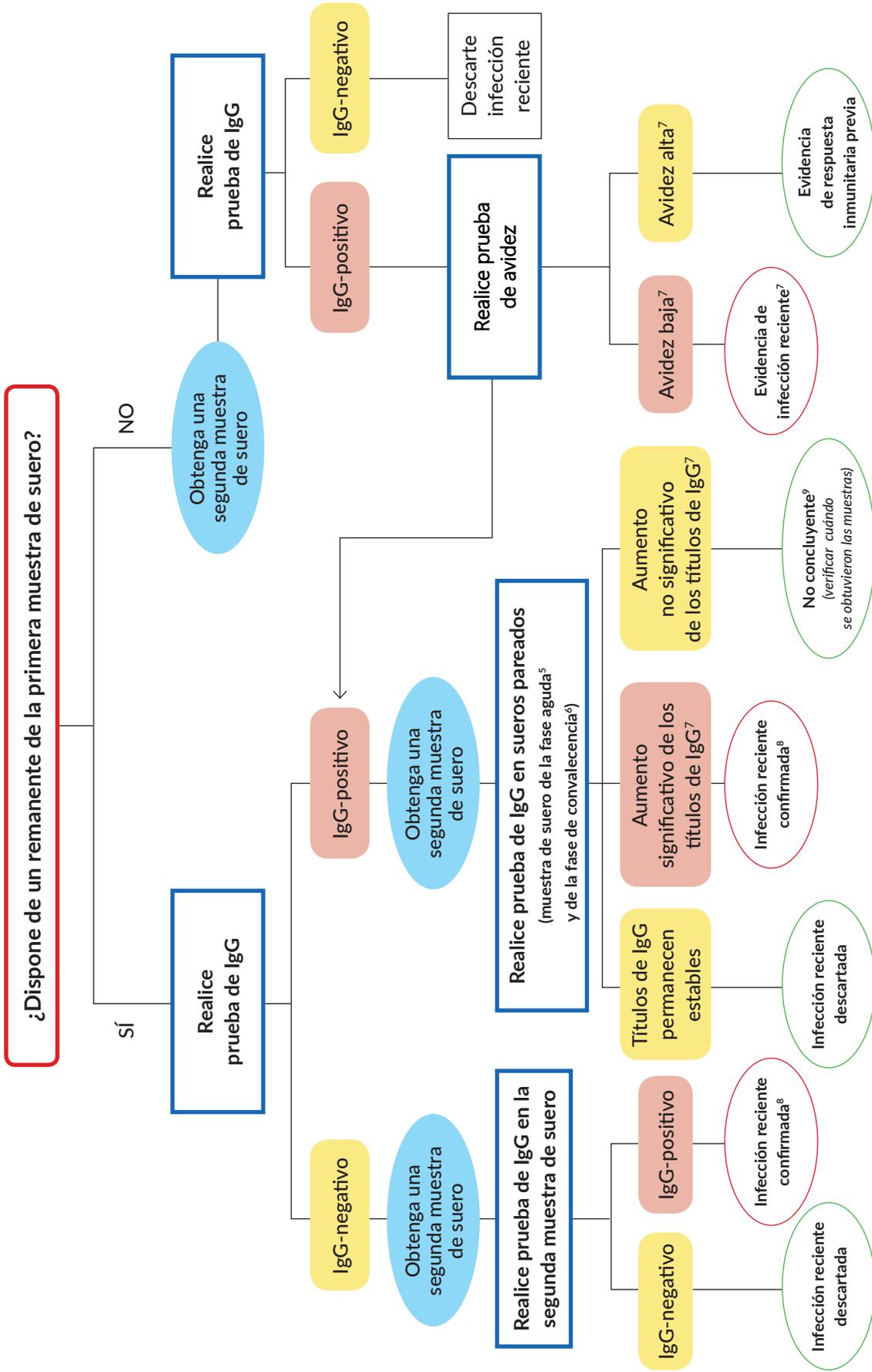
NOTA: Debe considerarse la posible conveniencia de realizar pruebas para otros virus que producen enfermedades eruptivas, como el dengue y otros arbovirus, el parvovirus B19, el herpesvirus humano 6 (HHV-6) o el HHV-7 (roséola)

Anexo 6. Algoritmo de rutina para el análisis de caso sospechoso de sarampión o rubéola



1 Obtener una muestra de suero adecuada en un plazo no mayor a los 30 días de la aparición de la erupción.
 2 Obtener una muestra de vías respiratorias dentro de los 3 días después de la aparición de la erupción y en no más de 10 días.
 3 En un contexto de eliminación, todo resultado IgM-indeterminado de debe considerarse como IgM-positivo. Las pruebas virológicas son recomendadas.
 4 Analizar la IgG en la primera muestra de suero y solicitar la obtención de una segunda muestra para realizar pruebas adicionales. Las pruebas virológicas son recomendadas.

Anexo 7. Algoritmo complementario para el análisis serológico de muestras con un resultado inicial IgM-positivo o indeterminado



⁵ Obtener una muestra de suero adecuada dentro los 7 días de la aparición de la erupción.

⁶ Obtener una muestra de suero adecuada de la fase de convalecencia a los 14-21 días después de la muestra de la fase aguda.

⁷ Seguir los criterios de interpretación del análisis.

⁸ Evidencia indicativa de una infección (ya sea de tipo salvaje o una cepa vacunal).

⁹ Correlacionar con los resultados de avidez de la IgG.

Anexo 9. Número total de muestras respiratorias y de orina procesadas y RT-qPCR positivas según su procedencia y la fecha de obtención de la muestra*

Semana Epi	SE1		SE2		SE3		SE4		SE5		SE6		SE7		SE8		SE9		SE10		SE11		SE12		
	Rec	RT-qPCR+	Rec	RT-qPCR+	Rec	RT-qPCR+	Rec	RT-qPCR+																	
Procedencia																									
Estado A																									
Municipio A1																									
Municipio A2																									
Municipio A3																									
Municipio A4																									
Municipio A5																									
Total Estado A																									
Estado B																									
Municipio B1																									
Municipio B2																									
Municipio B3																									
Municipio B4																									
Municipio B5																									
Total Estado B																									
Estado C																									
Municipio C1																									
Municipio C2																									
Municipio C3																									
Municipio C4																									
Municipio C5																									
Total Estado C																									
Total A + B + C																									

Rec = Recibidas

Proc = Procesadas por RT-qPCR

RT-qPCR+ = RT-qPCR positivas

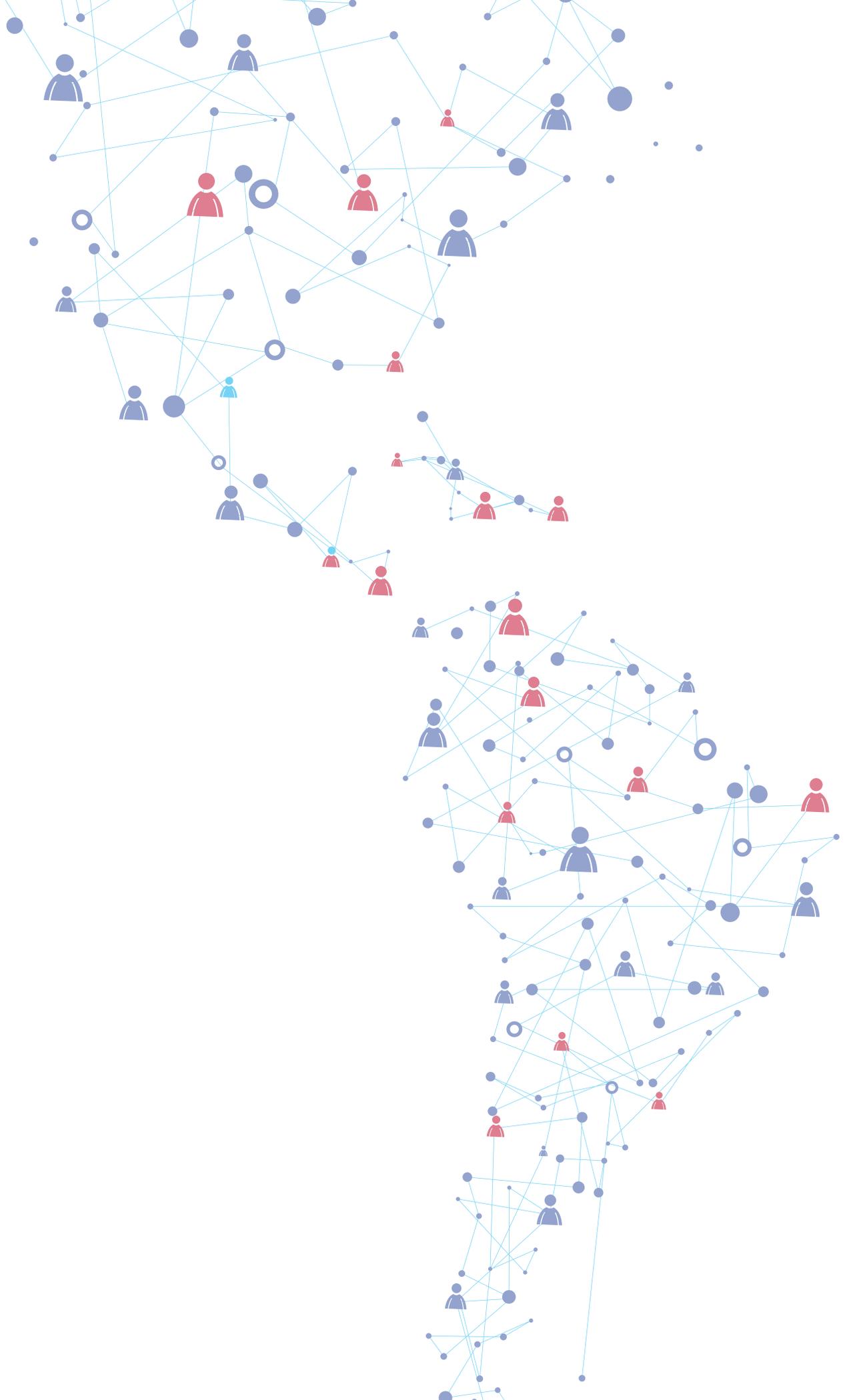
*NOTA: La semana epidemiológica deberá corresponder a la semana en que el caso inició la erupción.

Anexo 10. Genotipos identificados y cantidad de secuencias detectadas según la procedencia y la fecha de obtención*

	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Estado A												
Municipio A1	B3 (5)**		B3 (3)		B3 (8)							
Municipio A2												
Municipio A3												
Municipio A4												
Municipio A5												
Total Estado A	B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)							
Estado B												
Municipio B1		B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)						
Municipio B2												
Municipio B3												
Municipio B4												
Municipio B5												
Total Estado B		B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)						
Estado C												
Municipio C1						B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)		
Municipio C2												
Municipio C3												
Municipio C4												
Municipio C5												
Total Estado C												
Total A + B + C	B3 (5)	B3 (5)	B3 (3)	B3 (3)	B3 (8)	B3 (13)		B3 (3)		B3 (8)		

* = El mes deberá corresponder al mes en que el caso inició la erupción.

** B3 (5) = B3 genotipo, (5) cinco secuencias detectadas



www.paho.org/inmunizacion



**Organización
Panamericana
de la Salud**



**Organización
Mundial de la Salud**

OFICINA REGIONAL PARA LAS **Américas**

525 Twenty-third Street, N.W.
Washington, D.C. 20037

ISBN: 978-92-75-31997-0

