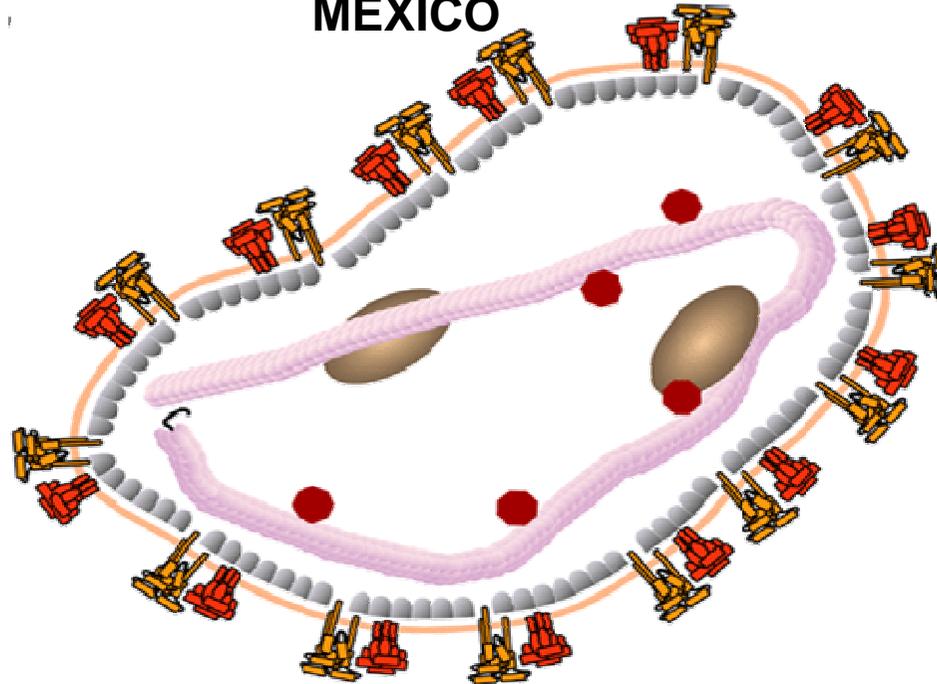




**SALUD**

## SEROLOGIA Y VIGILANCIA VIROLOGICA DEL SARAMPION EN MEXICO



**Dra. Celia Alpuche Aranda**  
**INDRE, Departamento de Virología, Laboratorio de EFES**

**26 de Julio de 2011**



SALUD

## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION
- ¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION
- NUEVOS ESTUDIOS



SALUD

## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION
- ¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION
- NUEVOS ESTUDIOS

## ANTECEDENTES HISTORICOS



SALUD

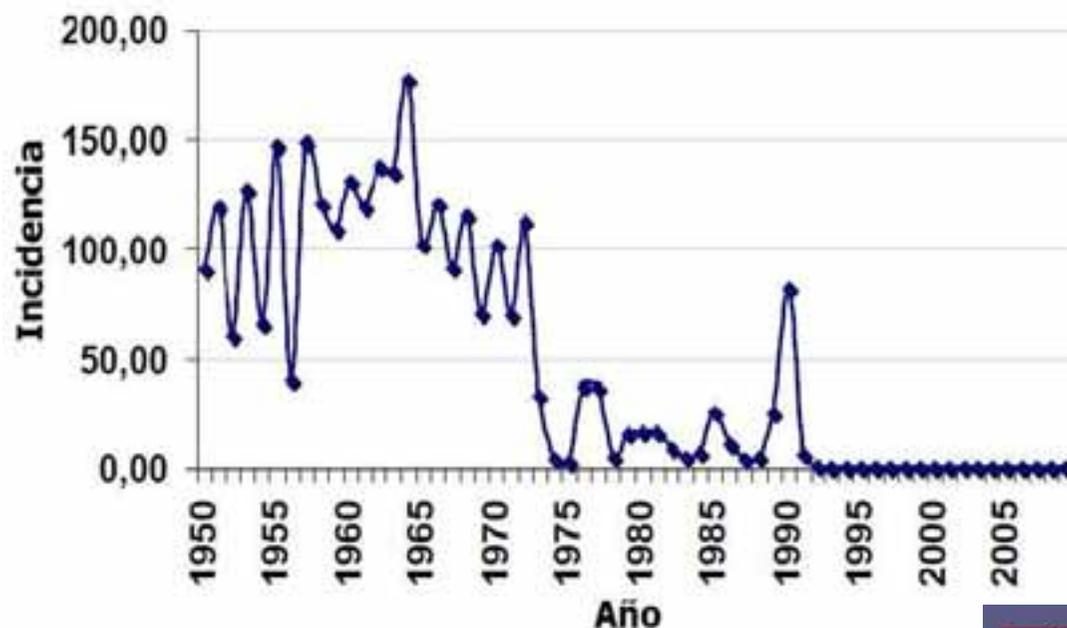
- Décadas de los 50s´ principal causa de morbilidad y mortalidad, reportes 35,000 casos por año
- 1989 a 1990 epidemia nacional vinculada a una pandemia, 68,782 casos en México
- 1995 último reporte de una defunción por sarampión en México (femenina de 1 año en el DF)
- 1996 se reportaron 2 casos autóctonos (reporte epidemiológico), posteriormente 4 años sin casos
- 2000 se reintrodujo el virus de sarampión con casos importados, 30 casos en 4 entidades federativas
- 2001 se detectaron únicamente tres casos importados, el primero de ellos con antecedente de exposición al virus en Estado Unidos de un enfermo de origen Asiático.
- 2003 Se registraron dos brotes (en el Estado de México y el Distrito Federal). El primero de ellos entre abril y los primeros días de julio, con 22 casos, el segundo brote desde finales de julio, con 7 casos para el Estado de México.

# Continua ANTECEDENTES HISTORICOS



**SALUD**

**Incidencia\* anual de Sarampión en México 1950-2009,  
y Distribución de casos de Sarampión 1990-2009.**



Año	Casos confirmados de Sarampión en México
1990	68,782
1991	5,077
1992	846
1993	172
1994	128
1995	12
1996	2
1997-1999	0
2000	30
2001	3
2002	0
2003	44
2004	64
2005	6
2006	22
2007-2009	0

\*Incidencia x 100mil habitantes Fuente: Secretaría de Salud de México / Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica

- A finales del 2006 identificados 23 casos  
Posteriormente 5 años sin la circulación  
del virus en México

AÑO	No. muestras	Serología Positiva	RT-PCR diagnóstico	Aislamientos Positivos Confirmados
2003	1804	44	0	5
2004	5062	64	15	13
2005	1726	6	2	0
2006	291	20	1	5
Total	8883	134	16	23

Tabla 1. Resultados de serología, aislamiento viral y RT-PCR diagnóstico de sarampión durante 2003-2006



**SALUD**

# •2011 identificación de un caso importado, positivo por serología y biología molecular

<b>No. Muestra</b>	2790
<b>Fecha de Nacimiento</b>	18/10/09
<b>sexo</b>	femenino
<b>Edad</b>	1 año 9 meses
<b>Domicilio actual en Mexico</b>	San Pedro de los Pinos, Delegación Álvaro Obregón
<b>Lugar de Procedencia</b>	Saint Antonine Sur de Francia
<b>Antecedente vacunal para sarampión</b>	No presenta
<b>Fecha de inicio de exantema</b>	11/07/11
<b>Fecha de recepción de muestra al InDRE</b>	18/07/11
<b>Fecha de toma de la muestras Suero, exudado faríngeo, orina</b>	15/07/11
<b>Sintomatología</b>	Fiebre 39°C, exantema maculo-papular en cara y tronco, tos, coriza, conjuntivitis, adenomegalias retroauriculares, ataque al estado general, diarrea

Diagnóstico	Resultados			
	IgM	Valor de Corte	IgG	Valor de Corte
Sarampión DADE BEHRING	<b>0.682 positivo</b>	Negativo < 0.100 Indeterminado 0.100-0.200 Positivo >0.200	0.07UI/ml Negativo	0.038UI/ml
Rubéola DADE BEHRING	0.076 Negativo	Negativo < 0.100 Indeterminado 0.100-0.200 Positivo >0.200	1.48UI/mL Negativo	6.36UI/mL
Parvovirus B-19 NOVAGNOST	1.787 U Negativo*	Negativo< 8.5U Indeterminado 8.5-11.5U Positivo>11.5U	4.51U Negativo*	Negativo< 8.5U Indeterminado 8.5-11.5U Positivo>11.5U
PCR tiempo real Exudado Faríngeo	<b>21.5 CT Positivo</b>	PCR tiempo real Orina	<b>30.5 CT Positivo</b>	



SALUD

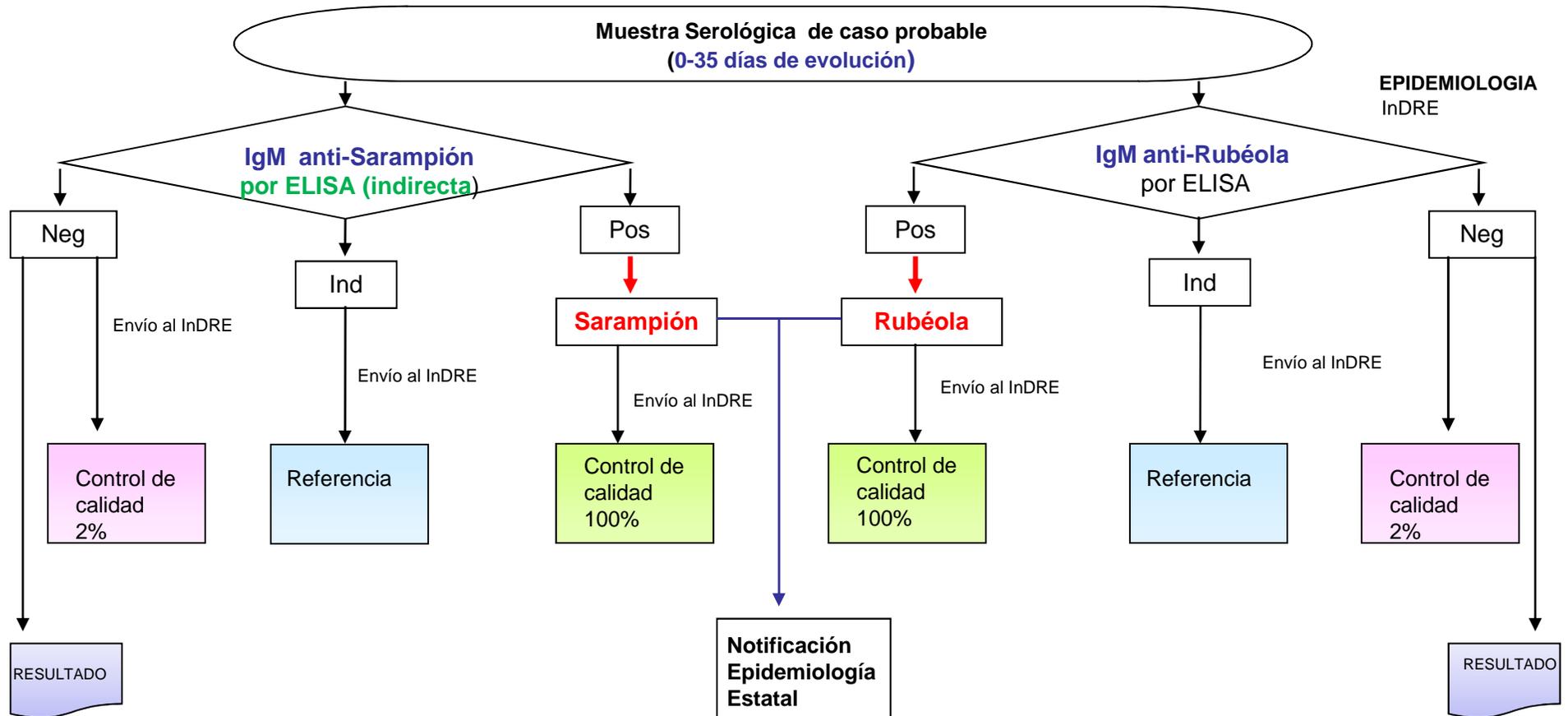
## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION
- ¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION
- NUEVOS ESTUDIOS

# Algoritmo Laboratorios Estatales



SALUD



NORMATIVIDAD  
NOM-017 PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA  
NOM-031 PARA ATENCION A LA SALUD DEL NIÑO

RESULTADOS 4 DIAS  
DIAG. DIF. 7 DIAS

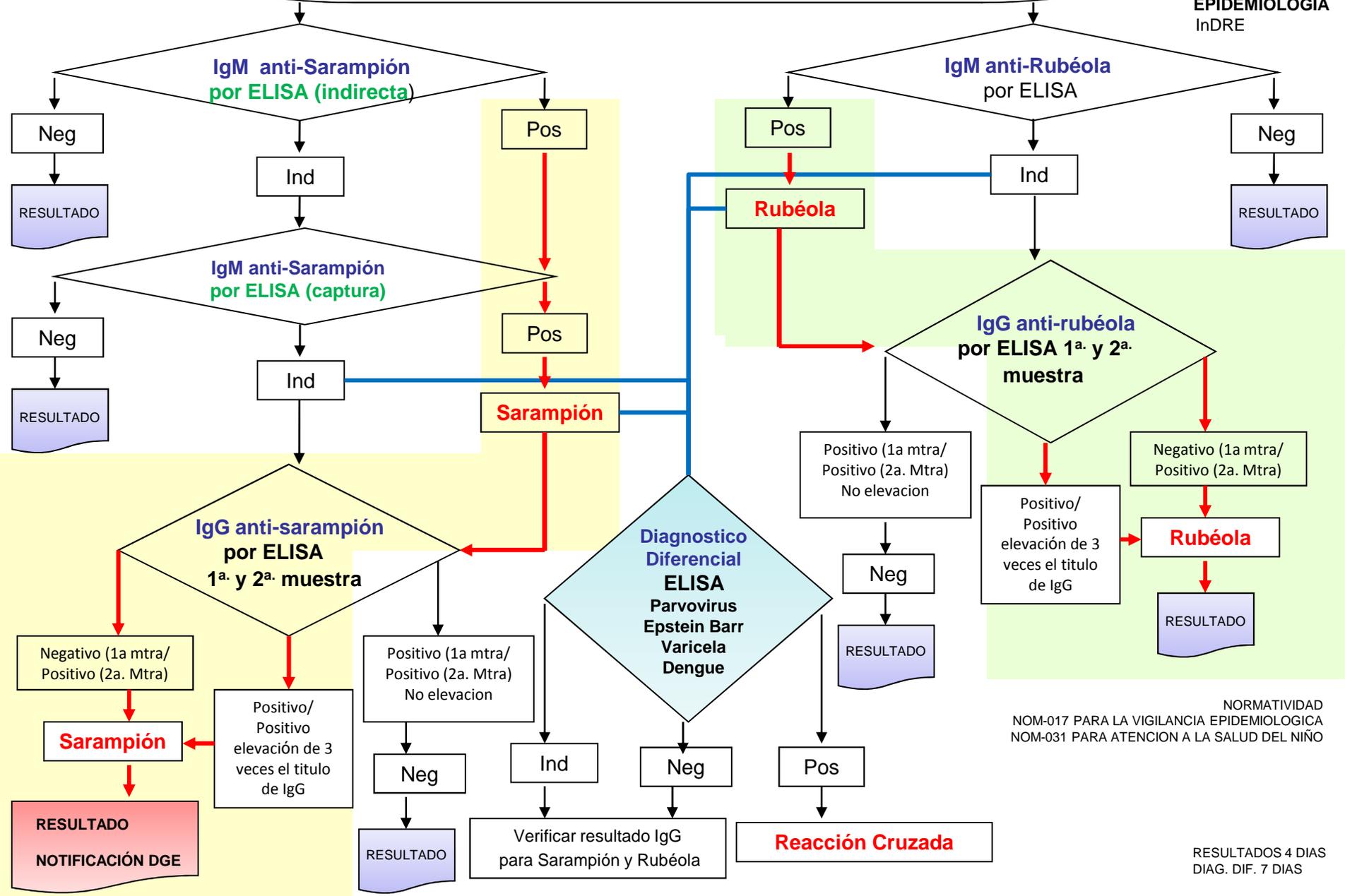
ALGORITMO PARA EL DIAGNOSTICO DE ENFERMEDAD FEBRIL EXANTEMATICA



SALUD

EPIDEMIOLOGIA  
InDRE

Muestra Serológica de caso probable de EFE  
(0-35 días de evolución)



NORMATIVIDAD  
NOM-017 PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA  
NOM-031 PARA ATENCION A LA SALUD DEL NIÑO

RESULTADOS 4 DIAS  
DIAG. DIF. 7 DIAS

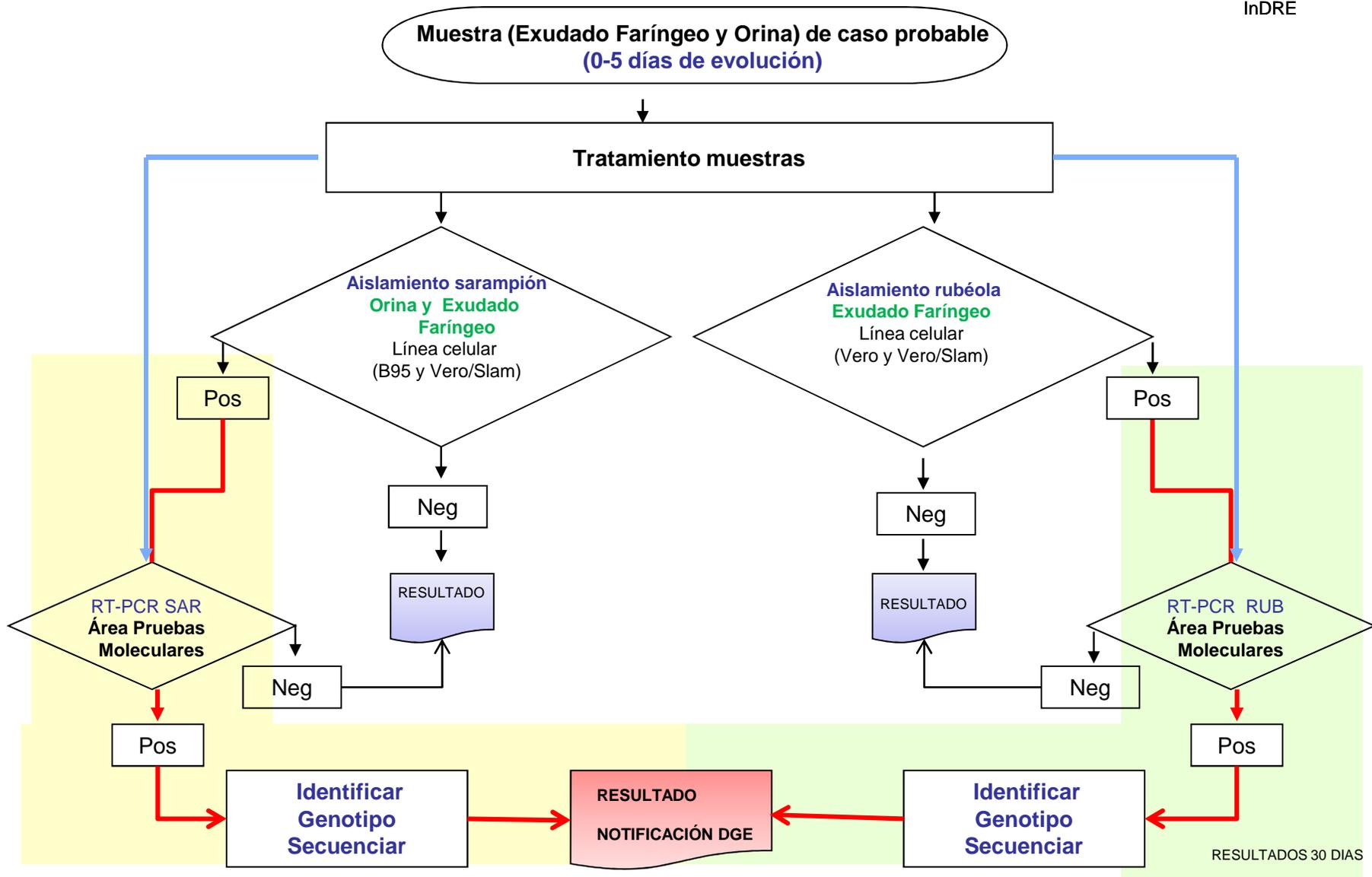
# Departamento de Virología Laboratorio de EFES



SALUD

EPIDEMIOLOGIA  
InDRE

## Algoritmo de Aislamiento viral para sarampión y rubéola (Referencia)





SALUD

## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION
- ¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION
- NUEVOS ESTUDIOS



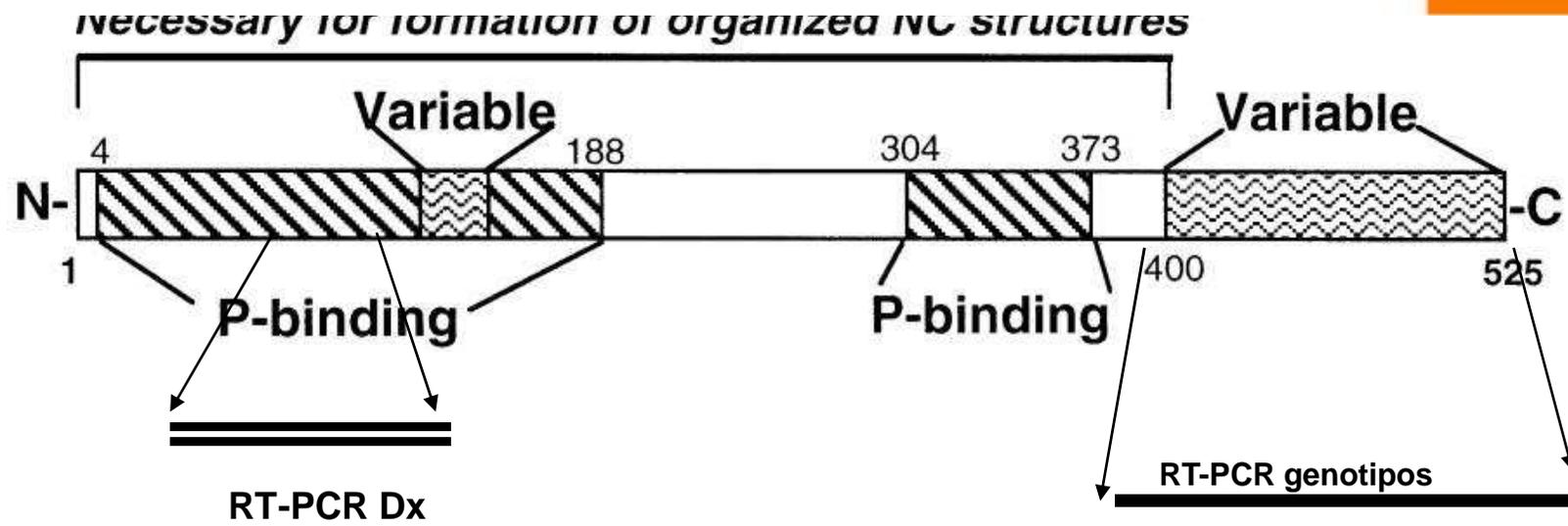
SALUD

- Identificación de Anticuerpos IgM, IgG (Se solicita segunda muestra en caso de positivos e indeterminados)
- Diagnostico para otras EFES (para descartar o confirmar casos de sarampión)
- Aislamiento viral ( Muestras exudados faríngeos y Orinas)
- RT-PCR en punto final
- Genotipificación
- Envío de muestras positivas al CDC como parte del control de calidad (se envían muestras negativas, positivas e indeterminadas total 20 muestras para cada diagnostico) y se reciben paneles de eficiencia para serología.
- Elaboración de paneles de eficiencia por parte de lab. De EFES (sólo serología) para la red nacional de LESP (31 estados).
- Cursos de entrenamiento en las técnicas serologicas e información para el proceso de eliminación del sarampión en el continente americano (LESP y laboratorios de apoyo al SINAVE)

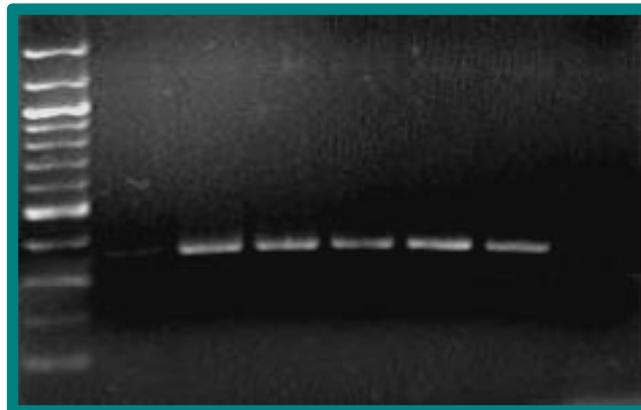




SALUD



Mpm 1 2 3 4 5 C+ C-



348pb gen N





## Sarampión

### Serología

Año	No. Muestras procesadas	Positivas	Negativas
2008	2988	0	2988
2009	1572	0	1572
2010	1416	0	1416
2011	1055	1	1054



## Aislamiento viral

Año	Muestras procesadas Sarampión
2008	1652
2009	1272
2010	1435
2011	1018

# Departamento de Virología Laboratorio de EFES

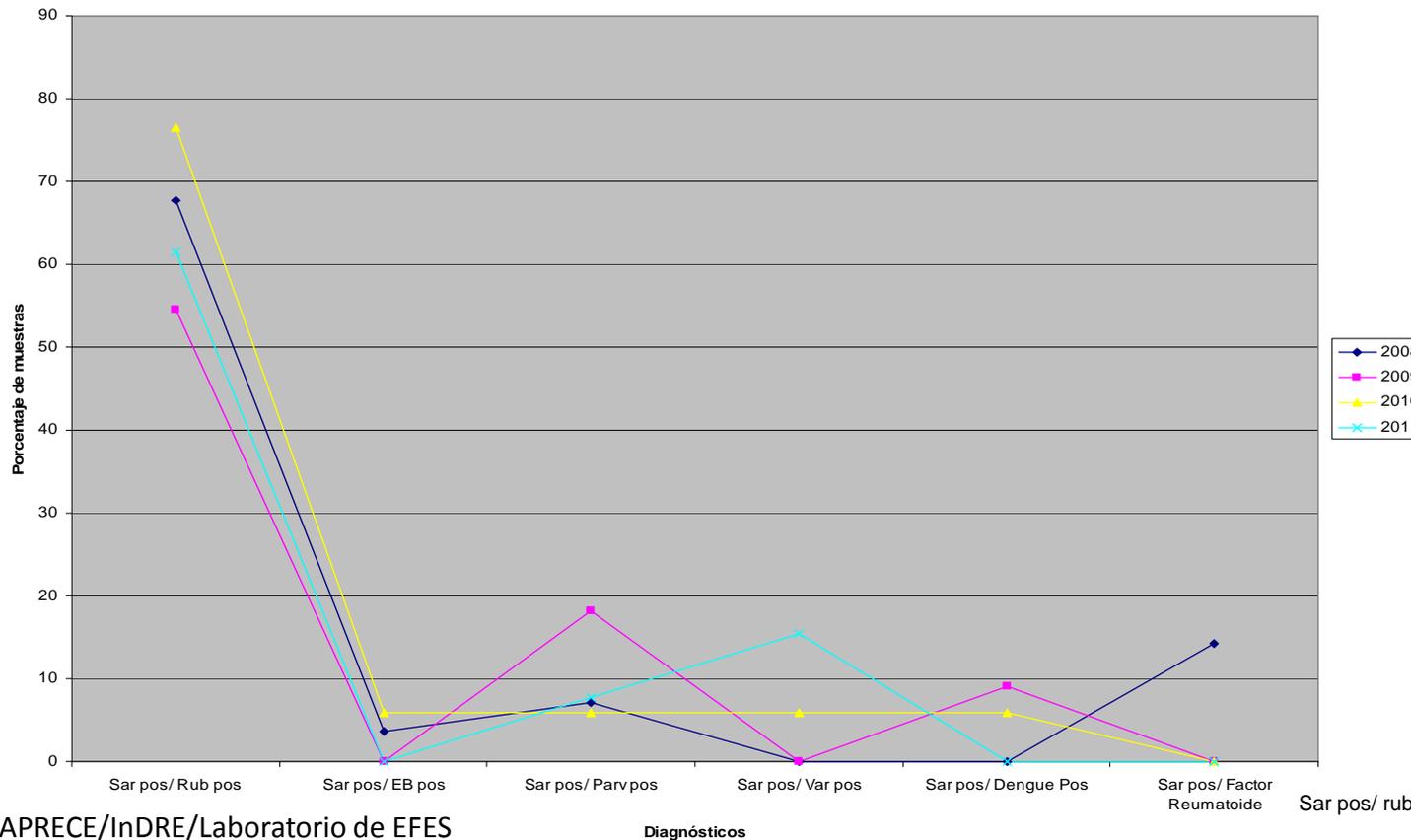


SALUD

EPIDEMIOLOGIA  
InDRE

La prevalencia baja de la enfermedad induce pérdida de valor predictivo del diagnóstico serológico aún con especificidad > 90%

Reacciones cruzadas durante 2008-2011



Sar pos/ rub pos= postvacunal

Fuente: SS/CENAPRECE/InDRE/Laboratorio de EFES



SALUD

## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- **ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION**
- ¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION
- NUEVOS ESTUDIOS



- Los estudios de Epidemiología molecular son el componente clave en la verificación para a eliminación de sarampión
- **Un criterio par la verificación de la eliminación es la ausencia de genotipos endemicos por año.**
- Los datos genéticos en combinación con la información epidemiológica se puede utilizar para rastrear los patrones de transmisión e identificar las fuentes de infección

## ¿Qué datos de vigilancia virológica nos hablan acerca de los patrones de transmisión del sarampión



SALUD

La transmisión endémica del sarampión: la variación en la secuencia de nucleótidos (no idénticos; linajes distintos) se observan en el genotipo endémico

- Eliminación del sarampión:
  - Son pocos los casos
  - No hay un patrón geográfico o temporal de casos esporádicos
  - Varios genotipos importados sin el genotipo endémico
- Reintroducción interrupción de la transmisión de los siguientes: propagación rápida del virus del sarampión idénticos o casi idénticos (difieren en aproximadamente 1 de nucleótidos, gen N)



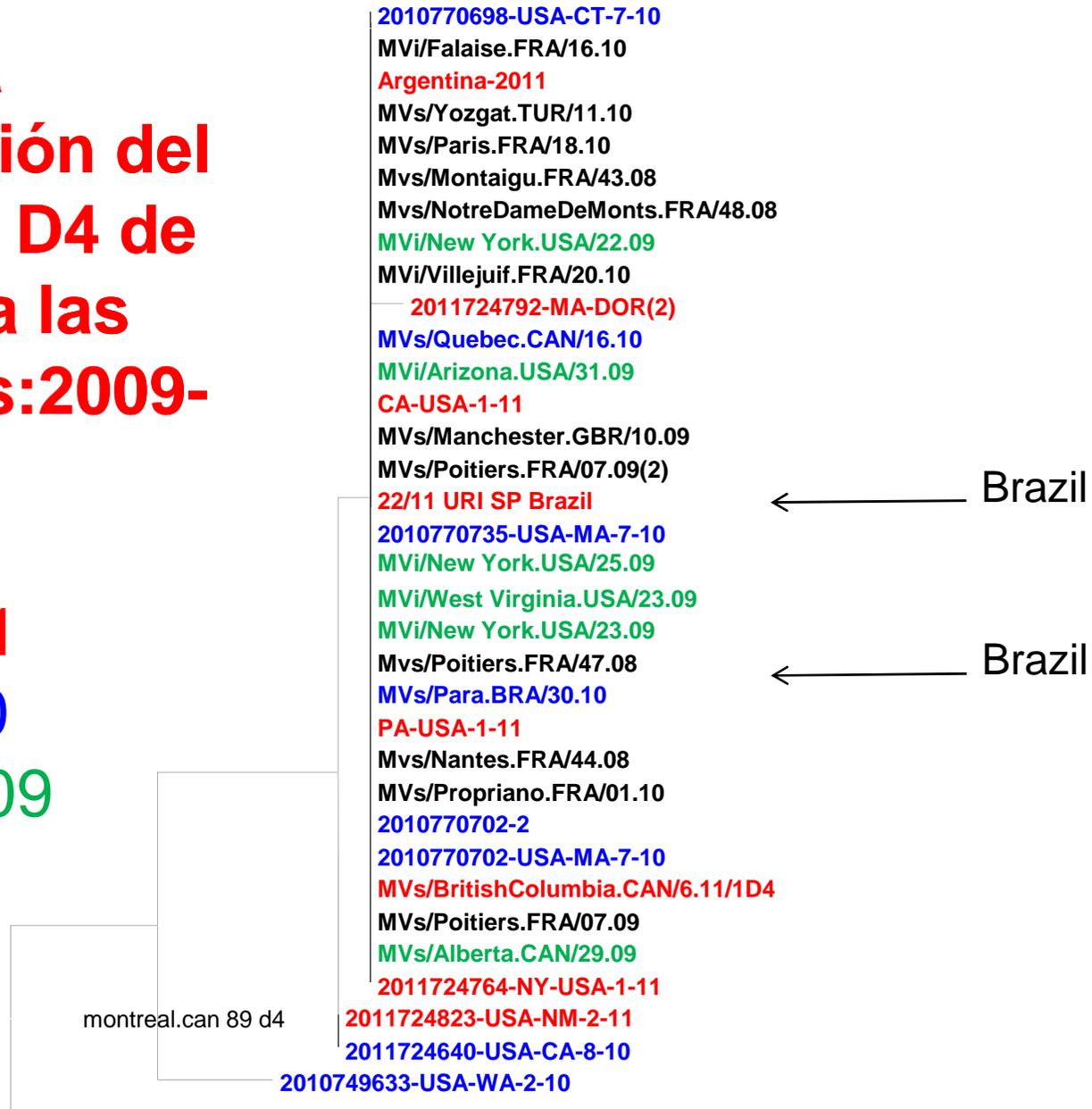
SALUD

## Breve Resumen: América

- El último brote endémico ocurrió en 2001 en Venezuela con el genotipo D9.
- Los datos moleculares apoyan la evidencia de que la fuente era fuera del continente americano.
- Genotipo D9 es endémico en algunos países del sudeste asiático.
- Existen datos epidemiológicos recopilados entre 2001 y 2010 que documentan la ausencia de un genotipo endémico en el continente Americano.

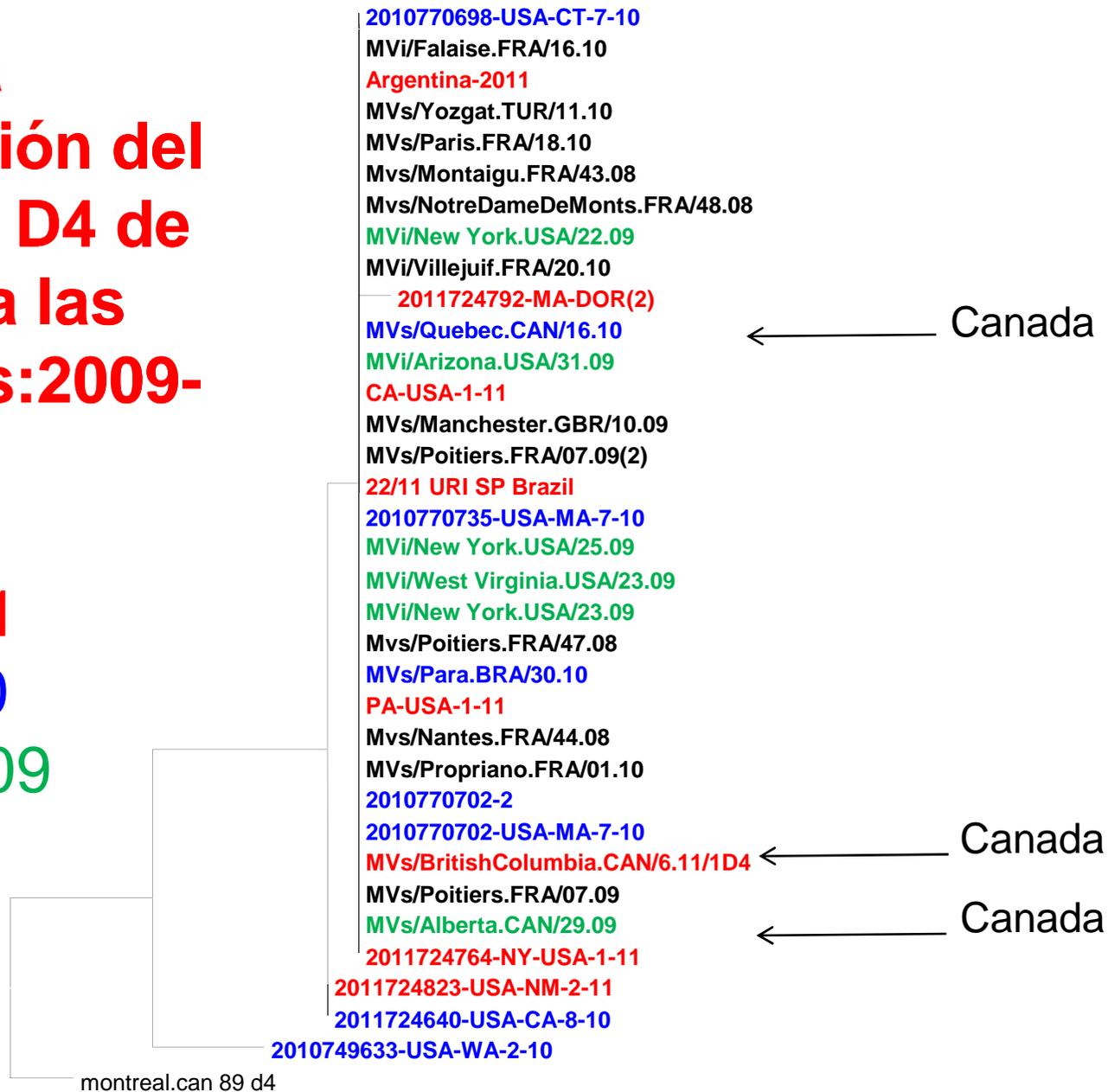
# Continua Importación del genotipo D4 de Europa a las Americas:2009- 2011

Rojo-2011  
azul-2010  
verde-2009



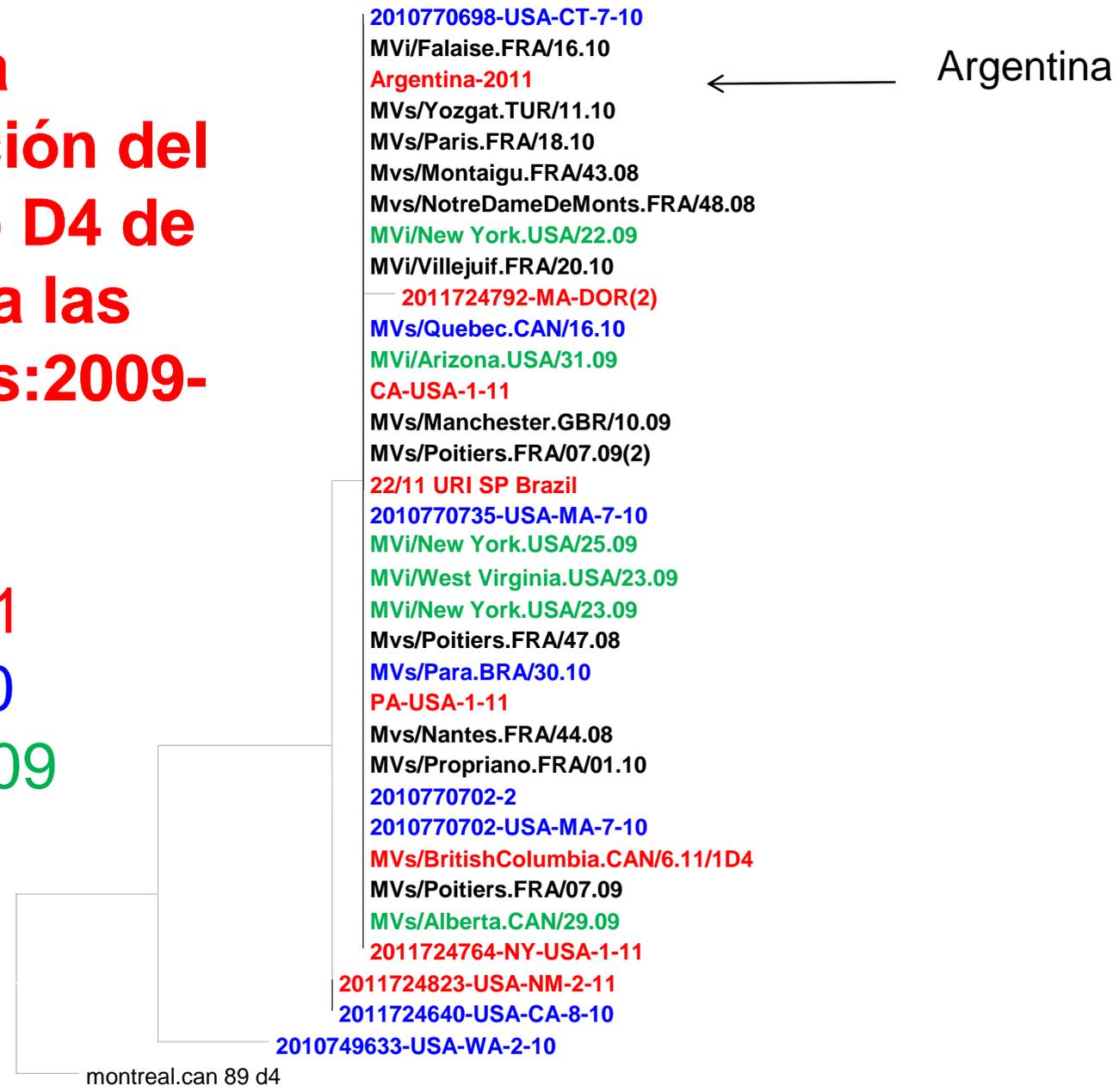
# Continua Importación del genotipo D4 de Europa a las Americas:2009- 2011

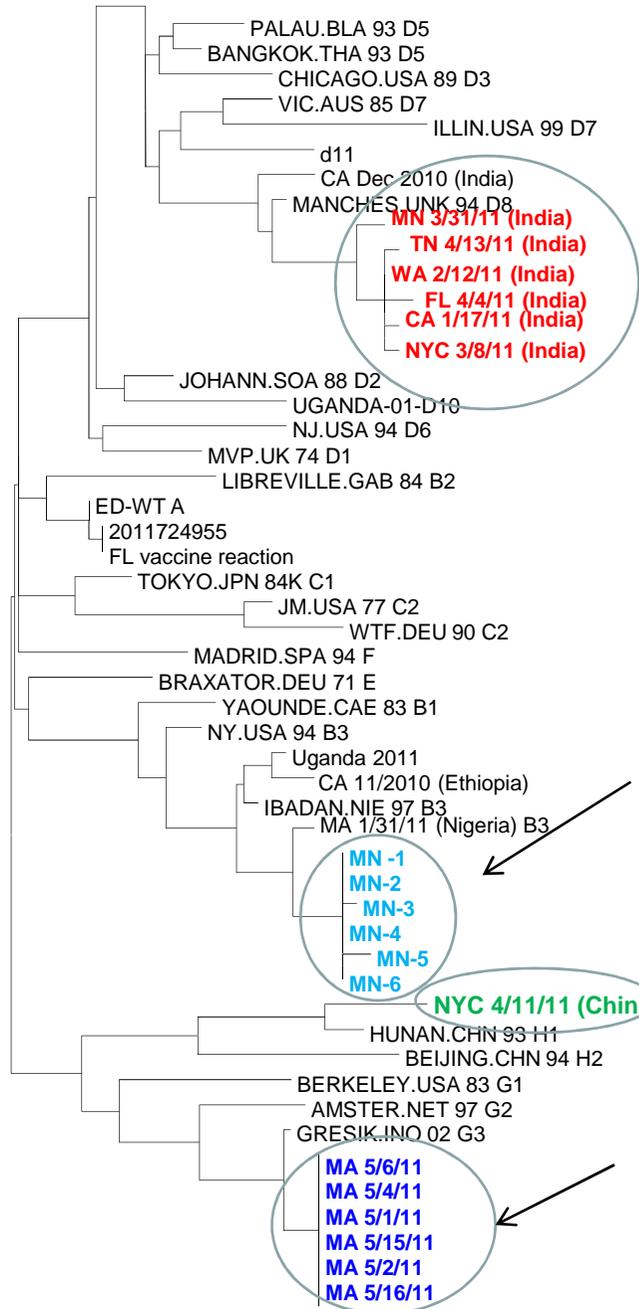
Rojo-2011  
azul-2010  
verde-2009



# Continua Importación del genotipo D4 de Europa a las Americas:2009- 2011

Rojo-2011  
azul-2010  
verde-2009





D8 de India

Brote en Minnesota, Feb-Abr, B3, de Kenya

1 importado de China en NYC, H1

6 casos en Massachusetts in May, 2011  
La fuente es desconocida, G3

**Genotipos D8, B3, H1 y G3 fueron también detectados en EU en 2011**



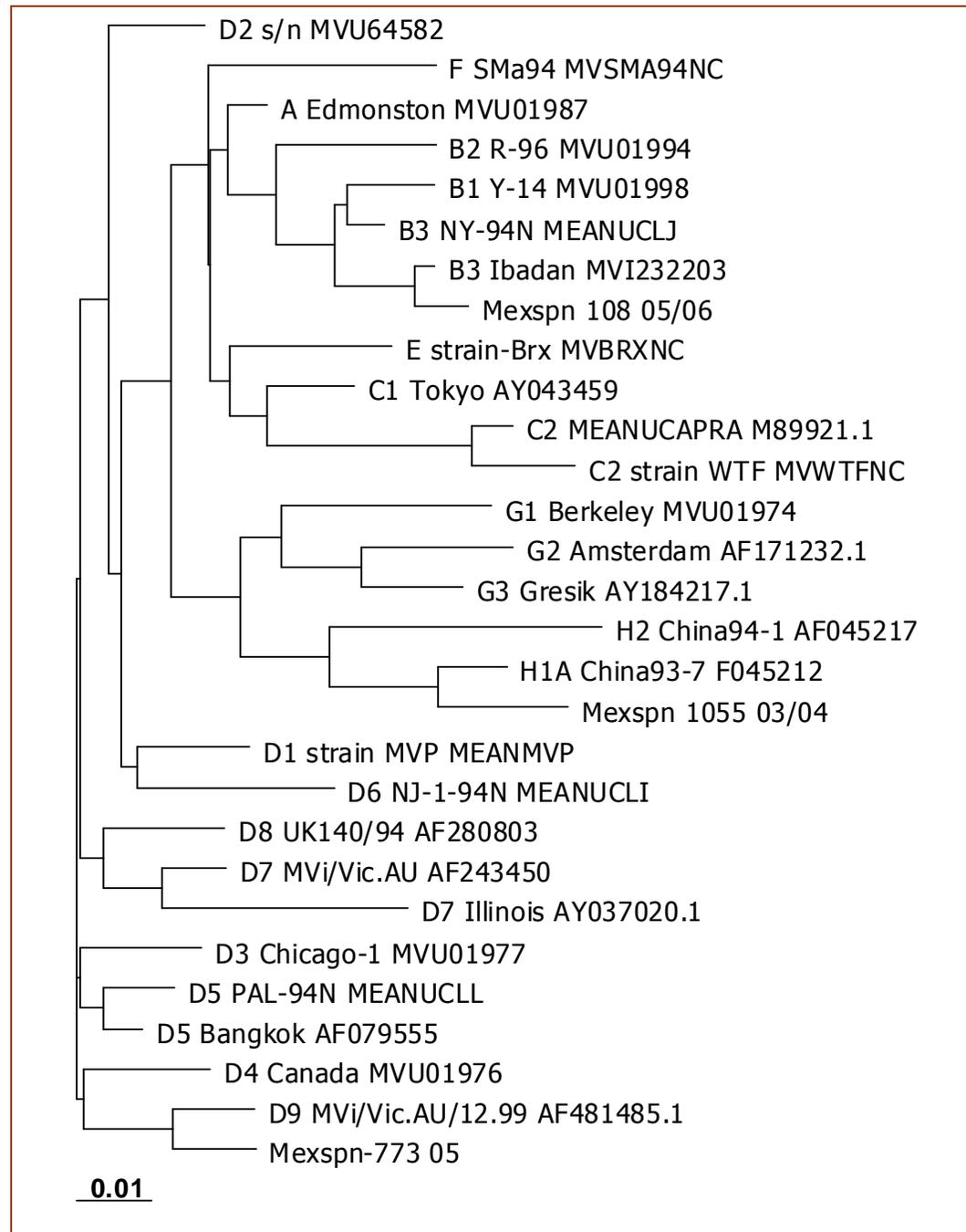
## Genotipos circulante de Sarampión en México 2000-2011

Año	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Casos	30	3	0	44	64	6	23	0	0	0	0	1
Genotipo	* D6	----	----	H1	H1	D9 y B3	B3	---	---	---	---	D4

Fuente: SS/Cenaprece/DGE/InDRE/Laboratorio de EFES/Laboratorio de Genoma de patogenos

\*Identificado en CDC de Atlanta

Relación filogenética entre las cepas de sarampión circulantes en 2003-2006 y las cepas de referencia establecidas por la OMS: El árbol filogenético esta basado en la región 3' del gen N.





# Análisis de Identidad en el NCBI

Nucleotide sequence (634 letters)

Query ID: 0112887  
 Description: Para  
 Nucleotide type: nucleic acid  
 Query length: 634

Database Name: F7  
 Description: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, UDS, unsequenced samples or phase 4, 1 or 2 HTGS sequences)  
 Program: BLASTN 2.2.30+ (rc2020)

Other reports: Search Summary (Taxonomy reports) | Download links of results



Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
HM196167.1	Measles virus strain MVs/Yozgat.TUR/11.10/04 nucleoprotein gene, parts	1083	1083	92%	0.0	99%	
U012146.1	Measles virus nucleocapsid protein (N) gene, partial cds	1080	1080	91%	0.0	99%	
U012120.1	Measles virus strain MVs/Pyrgos.GRC/9.10[04] nucleocapsid protein gene	1080	1080	91%	0.0	99%	
AF148725.1	Measles virus partial gene for Nucleocapsid protein, isolate 240709331, ge	1080	1080	91%	0.0	99%	
U012105.1	Measles virus strain MVs/Thess.GRC/4.10 nucleoprotein (N) gene, partial s	1064	1064	91%	0.0	99%	
U012110.1	Measles virus strain MVs/Pyrgos.GRC/19.10[04] nucleocapsid protein gen	1062	1062	91%	0.0	99%	
U012133.1	Measles virus strain MVs/Crete.GRC/17.10[04] nucleocapsid protein gene	1062	1062	91%	0.0	99%	
U012124.1	Measles virus strain MVs/Pyrgos.GRC/13.10/2[04] nucleocapsid protein g	1062	1062	91%	0.0	99%	
U012123.1	Measles virus strain MVs/Pyrgos.GRC/13.10/1[04] nucleocapsid protein g	1062	1062	91%	0.0	99%	
U012122.1	Measles virus strain MVs/Pyrgos.GRC/13.10/3[04] nucleocapsid protein g	1062	1062	91%	0.0	99%	
U012121.1	Measles virus strain MVs/Amakada.GRC/12.10[04] nucleocapsid protein g	1062	1062	91%	0.0	99%	
U012107.1	Measles virus strain MVs/Istanbul.TUR/20.10/04 nucleoprotein gene, part	1059	1059	91%	0.0	99%	
U012128.1	Measles virus strain MVs/Athens.GRC/23.10/3[04] nucleocapsid protein g	1057	1057	91%	0.0	99%	
U012129.1	Measles virus strain MVs/Athens.GRC/23.10/2[04] nucleocapsid protein g	1057	1057	91%	0.0	99%	
U012127.1	Measles virus strain MVs/Athens.GRC/23.10[04] nucleocapsid protein gen	1057	1057	91%	0.0	99%	
AF481086.1	Measles virus genome: RNA, complete genome, strain: Y11va-23	1038	1038	100%	0.0	99%	
AF481087.1	Measles virus genome: RNA, complete genome, strain: Y11va6	1038	1038	100%	0.0	99%	
AF481088.1	Measles virus genome: RNA, complete sequence of Ichinose-Vero strain, v	1038	1038	100%	0.0	99%	
U012108.1	Measles virus strain MVs/Thess.GRC/1.10 nucleoprotein (N) gene, partial s	1033	1033	91%	0.0	99%	
U012132.1	Measles virus isolate D-VII, complete genome	1027	1027	100%	0.0	99%	
U012131.1	Measles virus isolate D-VI, complete genome	1027	1027	100%	0.0	99%	
U012130.1	Measles virus isolate David87, complete genome	1027	1027	100%	0.0	99%	
U012129.1	Measles virus isolate D-CEP, complete genome	1027	1027	100%	0.0	99%	
U012128.1	Measles virus isolate D-V/S, complete genome	1027	1027	100%	0.0	99%	
U012127.1	Measles virus Canada strain, nucleoprotein gene, complete cds	1027	1027	99%	0.0	99%	
U012126.1	Measles virus strain MVs/Pers.RNA/30.10 nucleoprotein (N) mRNA, partial	1024	1024	87%	0.0	100%	
U012097.1	Measles virus mRNA for nucleoprotein (partial MVs/Thess.GRC/19.10)	1009	1009	81%	0.0	97%	
U012106.1	Measles virus strain MVs/Abdis Arabia.ETH/23.03 nucleocapsid protein gen	1008	1008	87%	0.0	99%	

```
>|qb|HM196167.1| Measles virus strain MVs/Yozgat.TUR/11.10/D4 nucleoprotein gene,
partial cds
Length=591
Score = 1083 bits (586), Expect = 0.0
Identities = 588/589 (99%), Gaps = 0/589 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 5      GCTATGCCATGGGAGTAGGAGTGGAACTTGAAAACTCCATGGGAGGTTTGAACCTTTGGTC 64
Sbjct 3      GCTATGCTATGGGAGTAGGAGTGGAACTTGAAAACTCCATGGGAGGTTTGAACCTTTGGTC 62

Query 65     GATCTTACTTTGATCCAGCATATTTAGATTAGGGCAAGAGATGGTGAGGAGGTCAGCTG 124
Sbjct 63     GATCTTACTTTGATCCAGCATATTTAGATTAGGGCAAGAGATGGTGAGGAGGTCAGCTG 122

Query 125    GAAAGGTCAGTTCACATTGGCATCTGAACTCGGTATCACTGCCGAGGATGCAAGGCTTG 184
Sbjct 123    GAAAGGTCAGTTCACATTGGCATCTGAACTCGGTATCACTGCCGAGGATGCAAGGCTTG 182

Query 185    TTTCAGAGATTGCAATGCATACTACTGAGGACAGGATCAGTAGAGCGGTTGGACCCAGAC 244
Sbjct 183    TTTCAGAGATTGCAATGCATACTACTGAGGACAGGATCAGTAGAGCGGTTGGACCCAGAC 242

Query 245    AAGCCCAAGTGTCAATTTATACACGGTGTCAAAGTGAAAATGAGCTACCAGGATTGGGGG 304
Sbjct 243    AAGCCCAAGTGTCAATTTATACACGGTGTCAAAGTGAAAATGAGCTACCAGGATTGGGGG 302

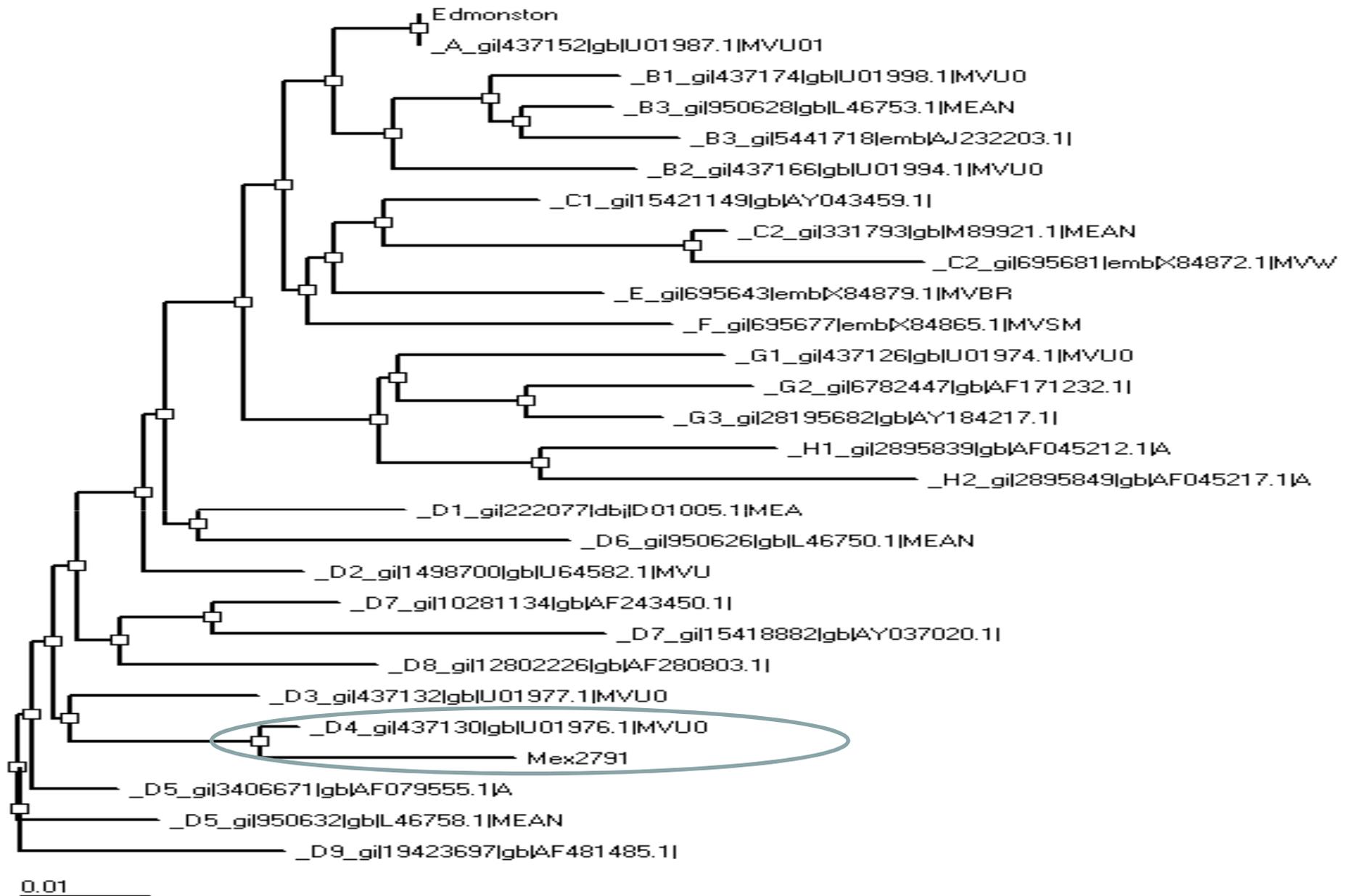
Query 305    GCAAGGAAGATAGGAGGGTCAAACAGGGTCCGGGGGAAGCCAGGGAGAGCTACAGAGAAA 364
Sbjct 303    GCAAGGAAGATAGGAGGGTCAAACAGGGTCCGGGGGAAGCCAGGGAGAGCTACAGAGAAA 362

Query 365    CCGGATCCAGTAGAGCAAGTGATGTGAGAGCTGCCCATCTTCCAATCAGCACTCCCCTAG 424
Sbjct 363    CCGGATCCAGTAGAGCAAGTGATGTGAGAGCTGCCCATCTTCCAATCAGCACTCCCCTAG 422

Query 425    ACGTTGACACTGCATCAGAGTCAGGCCAAGATCCGCAGGACAGTCGAAGGTCAGCTGACG 484
Sbjct 423    ACGTTGACACTGCATCAGAGTCAGGCCAAGATCCGCAGGACAGTCGAAGGTCAGCTGACG 482

Query 485    CCCTGCTCAGGTTGCAGGCCATGGCAGGAATCTTGAAGAACAAGGCTCAGATACAGACA 544
Sbjct 483    CCCTGCTCAGGTTGCAGGCCATGGCAGGAATCTTGAAGAACAAGGCTCAGATACAGACA 542

Query 545    TCTCTCGGGTGTACAATGACAAAGATCTTCTAGACTAGGTGCGGAGAGGC 593
Sbjct 543    TCTCTCGGGTGTACAATGACAAAGATCTTCTAGACTAGGTGCGGAGAGGC 591
```



Análisis Filogenético con las cepas de Referencia de la OMS. Se señala la secuencia Mex2791 la cual se agrupa al genotipo D4



SALUD

## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION
- **¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?**
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION



SALUD

## InDRE/RLESP

- Diagnóstico serológico completo EFES, pero al mismo tiempo realización de RT-PCR en tiempo real
- Utilización de pruebas de avidéz (sarampión/rubeola IgG)
- Pruebas de microneutralización
- Secuenciación (Genotipificación) RED
- Diagnóstico serológico IgM tanto para sarampión como para rubeola
- RT-PCR en tiempo real



SALUD

## AGENDA

- ANTECEDENTES HISTORICOS
- ALGORITMOS DE LABORATORIO
- ¿Cómo HACEMOS LA VIGILANCIA VIROLOGICA?
- ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION
- ¿Cuál ES LA NUEVA PROPUESTA DEL ALGORITMO DE LABORATORIO ?
- ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA PARA SARAMPION



SALUD

Una de las estrategias para la eliminación del sarampión y la rubeola es realizar estudios de seroprevalencia que muestren la susceptibilidad de la población mexicana a la infección, así como el impacto de las campañas de vacunación.

el objetivo principal de este estudio es conocer la seroprevalencia de Sarampión y Rubéola en población mexicana de 2 a 60 años durante el año 2011. Para ello el estudio contempla: 2474 muestras

1. La determinación de los niveles de seroprotección contra el virus de sarampión utilizando la prueba de Neutralización por Reducción de Placas (NRP) en población vacunada contra Sarampión y
2. La determinar niveles de seroprotección contra el virus de Rubéola utilizando la prueba de ELISA en población vacunada contra Rubéola.



SALUD

## **Conclusiones:**

### **•La vigilancia virológica-epidemiológica del virus del sarampión y la Epidemiología molecular**

Permite la verificación de la eliminación en región de América

Mejora de la vigilancia virológica, la presentación oportuna de la información del genotipo

La incorporación de nuevas técnicas son fundamentales para la identificación del sarampión

Fortalecer los esfuerzos para obtener muestras virológicas tempranamente, incluyendo el uso de tipos de muestras recientemente validadas por los centros de colaboración de la OMS (manchas de sangre seca, saliva)

Estudios de seroprevalencia que apoyen de los programas de vacunación contra la rubéola/sarampión



SALUD

GRACIAS



- Laboratorio de EFES, Departamento de Virología
- Laboratorio de Pruebas moleculares, Departamento de Virología
- Laboratorio de genoma de patógenos, Departamento de Biología Molecular y Validación de técnicas.
- Red de Epidemiólogos del País
- Red de Laboratorios de Salud Pública del País