



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA SARAMPION Y
RUBEOLA EN ADOLESCENTES INMUNIZADOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUIMICA FARMACEUTICO BIOLOGA

P R E S E N T A :

PATRICIA ORDUÑA ESTRADA



MEXICO, D. F.,



ABRIL 2005

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

m. 343642



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

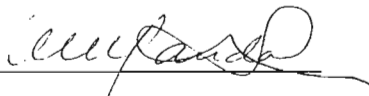
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado


Presidente	María Dolores Lastra Azpilicueta
Vocal	Aída Navas Pérez
Secretario	Yolanda López Vidal
1er suplente	Constantino III R. López Macías
2º suplente	Rocío G. Tirado Mendoza

Trabajo realizado en:

Programa de Inmunología Molecular Microbiana
Facultad de Medicina, UNAM



Asesor
Dra. Yolanda López Vidal



Supervisor Técnico
Dr. Mauricio Castañón Arreola



Sustentante
Patricia Orduña Estrada

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el tiempo, el apoyo y la asesoría otorgada por la Dra. Yolanda López Vidal, jefa del Programa de Inmunología Molecular Microbiana, quien siempre estuvo al pendiente de la realización de éste proyecto. Así como al Dr. Mauricio Castañón Arreola por enriquecer mi trabajo con sus aportaciones.

A las personas que colaboraron en este trabajo: Dr. Héctor Fernández Varela, Director de la Dirección General de Servicios Médicos quién con su inquietud y perspectiva concibió el presente estudio con el apoyo incondicional de la Dra. Marcela González de Cossío, Subdirectora de Investigación y Desarrollo Humano de esta dirección, Dr. Joaquín López Bárcena, Secretario Académico de la Facultad de Medicina; Dr. Samuel Ponce de León, Subdirector de Infecciones Hospitalarias del INCMNSZ. Con un agradecimiento muy especial a los participantes de las dependencias Escuela Nacional de Enfermería y Obstetricia, Escuela Nacional Preparatoria, Facultad de Medicina y Facultad de Química de la UNAM.

Al Dr. José Narro Robles, director de la Facultad de Medicina que apoyó la realización y el financiamiento de este proyecto de Salud.

Finalmente, agradezco la beca otorgada por la Fundación UNAM- Pronabes a lo largo de mi carrera.

DEDICATORIAS

Este trabajo lo dedico de manera especial a todas las personas que me apoyaron y creyeron en mí, aún cuando alcanzar esta meta parecía difícil.

A mis padres

Por construir la base de lo que soy, porque con sus enseñanzas aprendí a esforzarme para conseguir mis metas y por su apoyo infinito.

A mis hermanas, Nancy y Marisol

Por escucharme, por estar a mi lado en todo momento y porque con sus locuras logran hacerme reír y olvidar por un instante mis presiones académicas.

A mis amigos, Ale, Azalia, Javier, Lety, Bety y Gerardo

Por estar conmigo de manera incondicional compartiendo los buenos y malos momentos a lo largo de estos cuatro años.

A mis compañeros del laboratorio

Por aceptarme en su grupo de trabajo, ayudarme en la realización de este proyecto y por brindarme su amistad.

Y a todas aquellas personas que de alguna u otra forma mostraron interés a lo largo de mi formación profesional.

RESUMEN

El sarampión y la rubéola son enfermedades que presentan un alto índice de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, ambas son prevenibles por vacunación. El objetivo del estudio es determinar la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM contra Sarampión e IgG contra Rubéola en adolescentes inmunizados y en población infantil.

A cada uno de los participantes en el estudio se le tomó una muestra de sangre para la obtención de suero y se le determinó el título de anticuerpos IgM e IgG contra sarampión e IgG contra rubéola, utilizando la técnica de ELFA, empleando el sistema automatizado MiniVidas.

El promedio de edad en la población de adolescentes y adultos jóvenes fue de 18 años (14-26). Los resultados obtenidos muestran un 76.6% de seropositividad para sarampión y un 90.4% para rubéola. En el caso de la determinación de IgM para Rubéola únicamente dos sujetos presentaron marginalmente una respuesta positiva.

Mientras, en la población infantil se obtuvo una seropositividad del 61% para sarampión y del 47% para rubéola. Esta población tiene un promedio de edad de 2.3 años (0-6).

En éste estudio, la seropositividad a Sarampión es menor a la de Rubéola en adolescentes y adultos jóvenes, considerando sexo, edad y escuela de procedencia. Lo que sugiere una mayor exposición al virus de la Rubéola. En el grupo de 14-15 años se observó una menor seroprevalencia de anticuerpos contra Sarampión y Rubéola, lo cual sugiere que éste grupo de edad es el más susceptible a ser infectada por éstos virus.

INDICE

Resumen.....	IV
Antecedentes.....	1
Sarampión	
- Generalidades	3
- Epidemiología Mundial del Sarampión.....	4
- Epidemiología del Sarampión en México.....	7
- Patología.....	8
- Inmunidad.....	10
- Vacunación.....	12
- Vacunación en México.....	16
Rubéola	
- Generalidades.....	18
- Epidemiología. Mundial de la Rubéola.....	19
- Epidemiología de la Rubéola en México.....	21
- Patología.....	22
- Inmunidad.....	24
- Vacunación.....	24
- Vacunación en México.....	27
Justificación.....	29

Objetivos.....	30
- Objetivos particulares, primera fase.....	30
- Objetivos particulares, segunda fase.....	30
 Metodología	
- Población de estudio.....	31
- Toma y tratamiento muestra.....	32
- Determinación de IgG e IgM(sarampión, rubéola).....	32
- Determinación de IgG1, IgG4 (sarampión).....	35
- Análisis estadístico.....	36
 Resultados	
- Adolescentes y Adultos jóvenes.....	37
- Población Infantil.....	42
- Adolescentes y adultos jóvenes revacunados.....	45
- Serotipos IgG1, IgG4.....	46
 Discusión de Resultados.....	48
 Conclusiones.....	56
 Bibliografía.....	57

ANTECEDENTES

La inmunización ha mejorado la salud infantil en todo el mundo, previniendo millones de muertes cada año y reduciendo el riesgo de causar inestabilidad en los sistemas de salud por enfermedades infecciosas. Hoy en día la vacunación es una de las medidas de prevención más costo-efectivas para mejorar la salud [37].

El virus del Sarampión causa hoy en día más muertes que cualquier otra enfermedad prevenible por vacunación, principalmente en países en vías de desarrollo. En el 2000, un tercio (777,000 muertes) de todas las muertes causadas por enfermedades prevenibles por vacunación en niños fueron atribuidas al sarampión (Figura 1) [37].

Por otro lado, la rubéola cuando es contraída durante el embarazo temprano, causa en 90 % de los casos muerte fetal o deshabilitades múltiples asociadas al Síndrome de Rubéola Congénita (SRC) y se estima mundialmente en 100 000 el número de casos anuales de éste síndrome [37].

El sarampión y la rubéola son enfermedades virales que poseen una alta morbilidad a nivel mundial (Figura 2). Sin embargo, el índice de casos reportados para estas enfermedades disminuyó significativamente después de la introducción de vacunas contra estos virus y la implementación de programas masivos de vacunación [14].

Muertes ocasionadas por enfermedades prevenibles por vacunación en niños, 2000

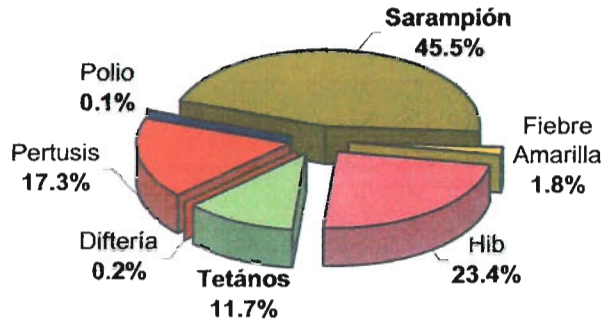


Figura 1.

Representación del porcentaje de muertes ocasionadas por enfermedades prevenibles por vacunación reportadas a la Organización Mundial de la Salud en el 2000.

Reporte mundial anual de la incidencia de sarampión y cobertura, 1980-2003

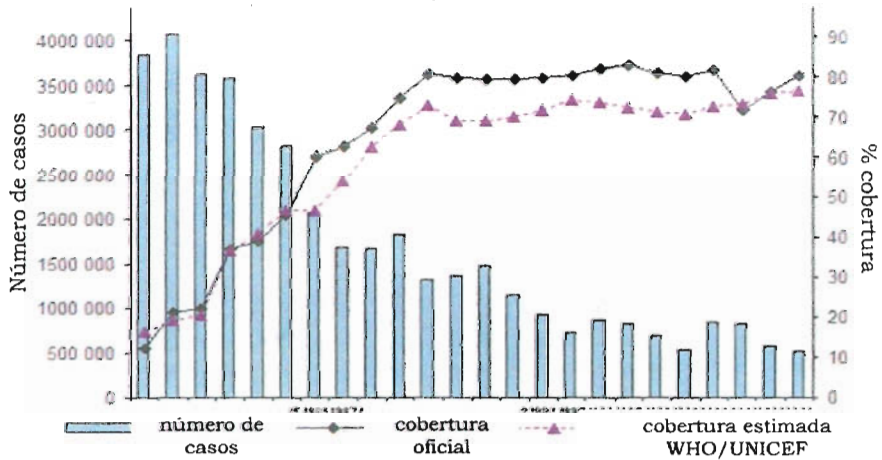


Figura 2.

La gráfica muestra la incidencia (barras) y la cobertura de vacunación estimada por la WHO/UNICEF(triángulos) así como la reportada oficialmente por cada país (rombos) para el sarampión, entre los años 1980 y 2000.

Sarampión

Generalidades

El sarampión es una enfermedad altamente contagiosa producida por una infección viral, la cual afecta principalmente a niños y se manifiesta por la presencia de tos, coriza, fiebre y una erupción macopapular que es crítica en los días posteriores a los síntomas iniciales.

El virus del sarampión pertenece al género *Morbillivirus* de la familia *Paramixoviridae*. Los viriones son pleomórficos, con un diámetro de 100 - 250 nm y contienen una nucleocápside protéica en forma de hélice espiral que envuelve un RNA monocatenario de polaridad negativa (Figura 3) [13,40].

El virus esta compuesto por seis proteínas estructurales, tres de las cuales forman complejos con el RNA: la nucleoproteína (N), la proteína de la polimerasa (P) y la proteína larga (L); y tres más que se encuentran asociadas a la envoltura viral (M, H, F). La proteína M o de matriz es una proteína glicosilada que se encuentra en la membrana, mientras que la glicoproteína H es responsable de la adsorción del virus en los receptores de las células del hospedero y, la glicoproteína F es responsable de la fusión de la membrana viral a las células del hospedero, además de la penetración del virus a la célula y de la hemólisis.

El virión del sarampión es un agente muy lábil sensible a los ácidos, a las enzimas proteolíticas, a la luz y a la "sequedad" [13,40].

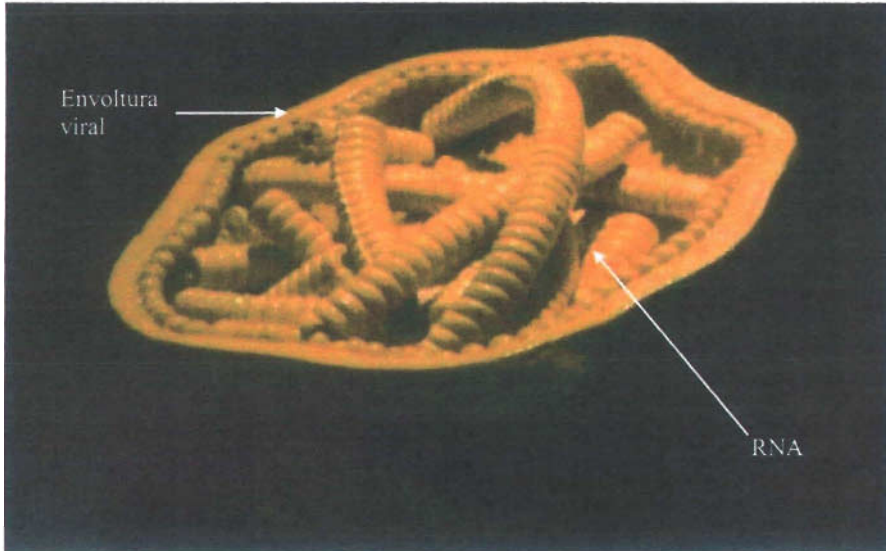


Figura 3.

Virus del Sarampión. Esquema del virus del sarampión donde se observa la envoltura viral y la cadena de RNA que lo constituyen.

Epidemiología Mundial del Sarampión

En la primera mitad del siglo XIX las epidemias de sarampión duraban de 3 a 4 meses, con la predicción de que ocurrirían cada 2-5 años. A partir del desarrollo y utilización de la vacuna en países como Estados Unidos (E.U.) y España, estos experimentaron una reducción significativa en la incidencia de la enfermedad. En E.U. se reportaban entre 200,000 y 500,000 casos anuales de sarampión y a partir de la autorización de la vacuna en el año 1963, en éste país el número de casos disminuyó hasta en un 99% para los años noventa [13].

Con la implementación de campañas masivas de vacunación a nivel mundial y después de los acuerdos establecidos por los países participantes en la 42ava

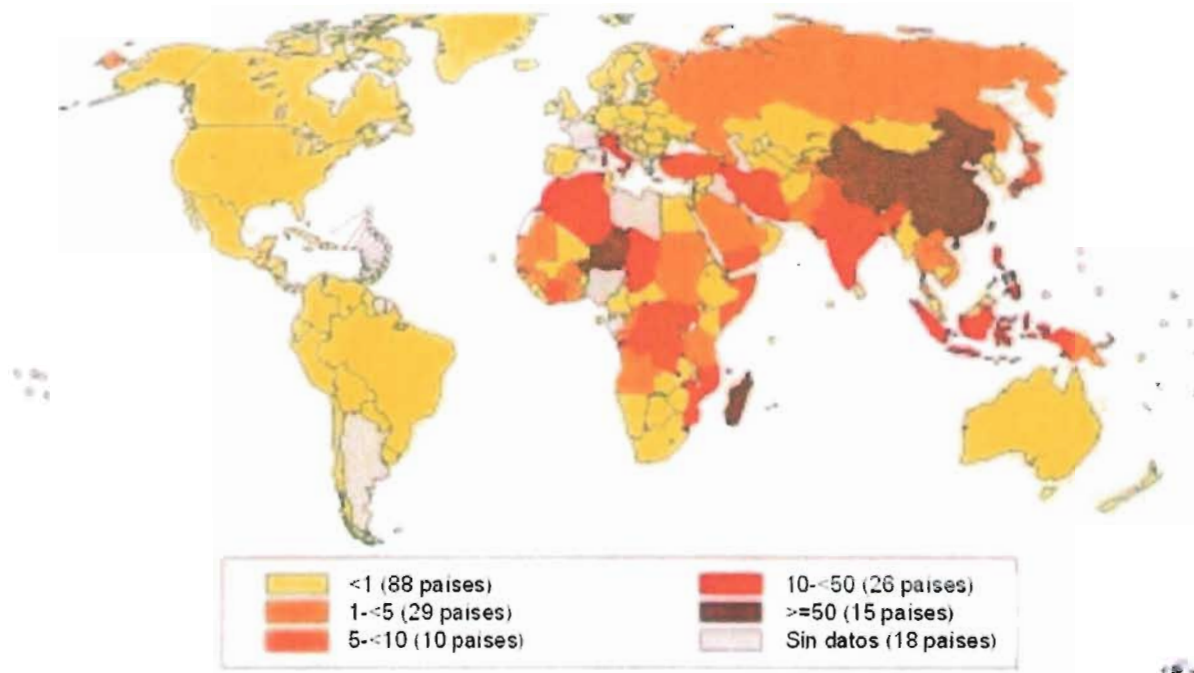
Asamblea Mundial de la Salud (1989), se estableció la meta de alcanzar una cobertura de vacunación contra el sarampión mayor al 90 %. Así, el número de casos reportados a nivel mundial disminuyó casi 40 % entre 1990 y 1999. Para 1998 el número de casos y de muertes estimados en el mundo decreció a 31 millones y 875 000, respectivamente. También, se estimó que el 98 % de las muertes atribuibles al sarampión ocurren en países en desarrollo [37].

En el continente Americano se registraron 2,109 casos de sarampión en 1996, para 1997 se registró un incremento en el número de casos (42,000) debido a un brote en Brasil y para el año 1999 se logró obtener una disminución de casos (2,828 casos registrados) [11].

En los últimos años, en el continente Americano, en Australia, Mongolia, Nueva Zelanda, las Islas del Pacífico, las Filipinas y en algunos países de la región Este del Mediterráneo y Europa se han presentado muy pocos casos de sarampión (Figura 4) [37].

La organización Mundial de la Salud estableció como metas eliminar la circulación del virus del sarampión para el 2000 en América, para el 2007 en Europa y para el 2010 en la Región Este del Mediterráneo. Por lo que respecta a América, en el año 2000, solamente se confirmaron 1,747 casos, continuando una transmisión limitada en República Dominicana y Haití [14].

Reporte de la incidencia de Sarampión por 100, 000 habitantes, 2003



Fuente: Base de datos de OMS, 2004

Figura 4.

Incidenca mundial de sarampión, reportada en el 2003 por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Epidemiología del Sarampión en México

En México, a mediados del siglo XIX se consideraba al sarampión como una enfermedad endémica, con altas tasas de morbilidad y mortalidad. Antes de 1970, el promedio anual de casos registrados fue de aproximadamente 35,000 [32].

A principios de la década de los setenta, con la introducción de la vacunación contra el sarampión, se logró una disminución drástica en el número de casos registrados, principalmente entre 1973 y 1975. A finales de los setenta se observó un repunte importante de la enfermedad, presentándose más de 20,000 casos anuales y epidemias cada tres a cuatro años [31,26].

En 1989 y 1990 se presentó una epidemia (parte de la pandemia) en la que se registraron más de 100,000 casos y 6,000 defunciones. Ésta epidemia fue seguida por una disminución en el número de casos registrados anualmente y en 1996 se presentaron los últimos dos casos autóctonos de sarampión. Entre 1997 y 1999 no se presentaron casos de sarampión en el territorio nacional sin embargo, en el 2000 se reportaron 30 casos de sarampión, y 3 más en el 2001; la mayoría de ellos atribuibles a la infección con cepas virales importadas. En el 2003 se registraron 44 casos de sarampión y en 2004 los casos fueron 64 (Figura 5), siendo la población más susceptible los sujetos de entre 15 y 25 años de edad [31, 26, 32].

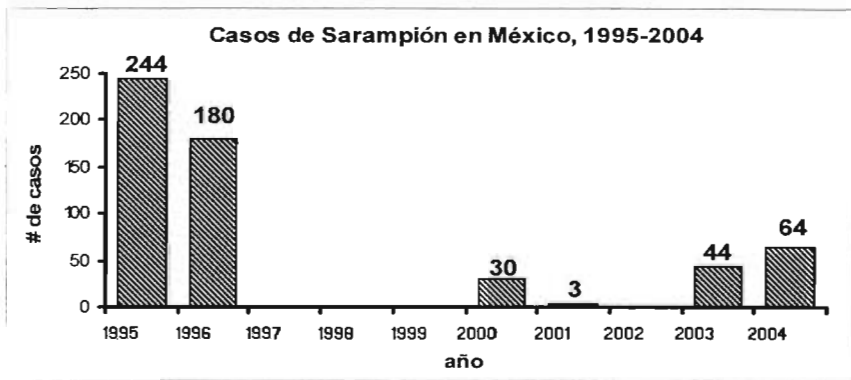


Figura 5.

Incidencia de Sarampión en México, 1995-2004

Número de casos de sarampión reportados por la Secretaría de Salud durante el periodo de 1995 al 2004 en el territorio nacional. Fuente: Secretaría de Salud.

Patología

El sarampión es una infección aguda transmitida principalmente por vía aérea o por contacto directo a través de gotas secretadas por personas infectadas. Los pacientes con sarampión son más contagiosos durante la fase prodrómica tardía de la enfermedad, caracterizada por la presencia de tos y coriza [13].

El virus del sarampión infecta el epitelio respiratorio. Algunos estudios en modelos de ratón y monos, sugieren que la multiplicación local del virus en la mucosa respiratoria conduce a una viremia primaria durante la cual éste se disemina a través del sistema linfoide. Posteriormente, debido a la necrosis de las células infectadas del retículo endotelial se incrementan los virus libres y como consecuencia ocurre una reinvasión de los leucocitos que se denomina viremia

secundaria. A partir de la viremia secundaria, en la mucosa respiratoria se manifiesta clínicamente la infección [13,40].

El período de incubación del virus del sarampión es de 10 a 14 días y frecuentemente se incrementa en los adultos. Este período de incubación es seguido de una fase prodrómica (sintomática) que dura de 3 a 4 días. Esta fase probablemente coincide con la viremia secundaria y se caracteriza por fiebre, anorexia, conjuntivitis y síntomas respiratorios como tos y coriza. Para el final de la fase prodrómica aparecen la erupción en piel y las manchas de Koplik (manchas gris azuladas presentes sobre una base roja) en la garganta, que son características de la enfermedad y corresponden a la fase aguda de la misma [13, 40].

La erupción dura aproximadamente 5 días, usualmente comienza sobre la cara y se extiende hacia abajo del cuerpo, incluyendo las palmas y las plantas de los pies; es eritematosa, macopapular y en algunos casos llega a ser confluyente principalmente sobre la cara y el cuello.

Las complicaciones más comunes ocasionadas por la infección con sarampión incluyen las del tracto respiratorio como la bronquitis y la neumonía; las del sistema nervioso central (SNC) como la esclerosis múltiple (EM), el lupus eritematoso sistémico (LES) y la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE), además, se incrementa la susceptibilidad a infecciones secundarias debido a la inmunosupresión ocasionada por el virus. En el caso de la neumonía, ésta es responsable del 60% de las muertes de niños ocasionadas por el sarampión [17,13].

La SSPE es la complicación más grave, esta es una enfermedad neurológica crónica degenerativa que ocurre o aparece después de algunos años de la infección sintomática por sarampión en los dos primeros años de edad. La patología es

extremadamente compleja y es atribuida a la combinación de los factores del hospedero y al fenómeno de replicación viral [13,24].

En algunos de los sujetos infectados se reportan casos de sarampión modificado, en el los síntomas son variables y en algunas ocasiones la infección puede ser subclínica. En estos casos el período de incubación puede ser muy prolongado y la erupción puede o no estar presente.

Otra complicación que se presenta es el sarampión atípico, que fue descrito en personas expuestas al virus silvestre que previamente fueron vacunadas con el virus muerto de sarampión. Los pacientes con éste tipo de sarampión desarrollan manifestaciones inusuales como fiebre alta, edema en las extremidades, infiltrados pulmonares intersticiales y hepatitis, seguidas por la aparición de títulos séricos extremadamente altos para sarampión.

El sarampión también es asociado a daños en el feto, cuando la infección es adquirida durante los primeros meses del embarazo sus repercusiones pueden ser abortos espontáneos y nacimiento prematuro [4].

Inmunidad

El virus del sarampión fue aislado por primera vez por Enders y Peebles en 1954. Actualmente, el sarampión afecta principalmente a niños de edad preescolar, algunos de los cuales fueron vacunados durante los siete y doce meses de edad [13,40].

La inmunidad contra el virus del sarampión desarrollada durante la infección sintomática natural dura de por vida. La respuesta inmune es principalmente

humoral sin embargo también se presenta la respuesta celular que ha sido poco estudiada. En un estudio realizado por Mubarak se describió la cinética de la presencia de Inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA secretoria (IgAs) (Figura 6); en ésta se presentan tanto la IgM como la IgAs durante el primer mes de infección, siendo mayor el título de la IgM comparada con la IgAs. A partir de la 5ª semana los títulos de IgAs e IgM disminuyen paulatinamente mientras se incrementa el título de IgG, alcanzando su máximo a los 2 meses, el cual se mantiene hasta los 23 meses. En cuanto a las subclases de IgG, éstas presentan variación, siendo para la IgG1 los niveles más altos, en cuanto a la IgG3 presenta niveles altos durante tres meses y posteriormente inicia su disminución. Finalmente para la IgG4 sólo se describen niveles bajos que muestran un incremento a partir del año y los niveles de IgG2 permanecen sin variación [18,22].

En el caso de la vacunación, la inmunidad medida por los anticuerpos es elevada y se especula que permanece de por vida en la mayoría de los individuos. Sin embargo, esto se infiere de manera hipotética a partir de los estudios de seguimiento realizados hasta 33 años después de la vacunación. [7,5].

A pesar de la inmunidad generada por la primoinfección se sabe que puede ocurrir la reinfección, la cual casi siempre es asintomática y en la mayoría de los casos sólo puede ser detectada por un incremento en el título de anticuerpos contra el virus [13].

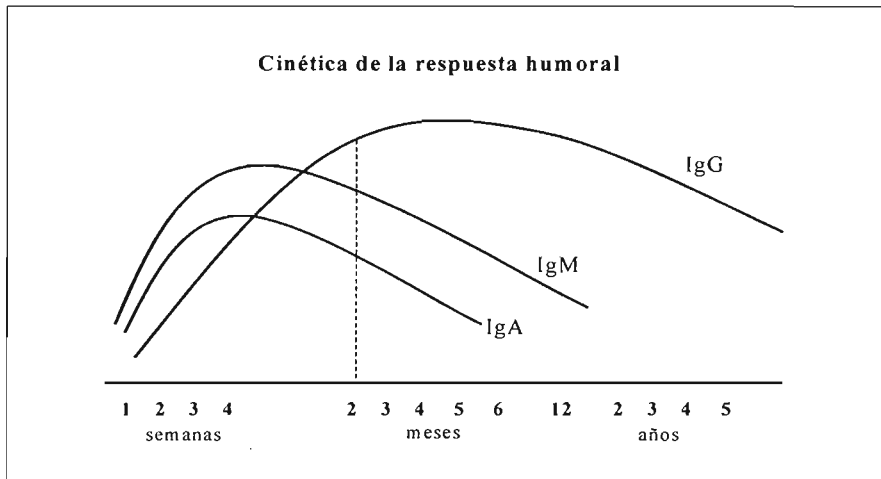


Figura 6.

Cinética de respuesta humoral.

Descripción de la cinética de la respuesta humoral contra sarampión (Mubarak y col).

Vacunación

La inmunización activa contra el sarampión se inició a principios de los 60's. Las primeras vacunas, con el virus vivo atenuado (en cultivos de pollo) o muerto (inactivado con formalina), fueron aplicadas en 1963. La vacuna fabricada con el virus muerto fue retirada del mercado en 1967 después de la aparición de casos de sarampión atípico en los sujetos inmunizados con ésta vacuna.

Debido a las reacciones adversas que se presentaron al vacunar con el virus muerto, se desarrollaron nuevas vacunas que contienen el virus vivo atenuado. La primera vacuna de virus vivo atenuado contenía la cepa Edmoston B, posteriormente se desarrollaron otras como la Scharwz (atenuada en cultivos de embrión de pollo) y la Attenuvax (cepa Enders, hiperatenuada en tejidos de embrión de pollo). La incidencia de reacciones adversas en los sujetos inmunizados

con éstas vacunas fue baja y se presentaron únicamente entre el 5 y 15 % de los niños vacunados [13]. Sin embargo, existen reportes de reacciones de hipersensibilidad en personas alérgicas a las proteínas del huevo [13,40,27].

Debido al descenso de casos obtenido después de la aplicación de la vacuna contra el sarampión, desde 1976 se recomienda la administración de una dosis de la vacuna a los 12 meses de edad dentro de los programas de salud [4,28].

En estudios realizados en población abierta se observó que a partir de los 15 días de la vacunación se detectaron anticuerpos IgG, IgA, e IgM en el suero y secreciones nasales del 95 % de los sujetos vacunados, con una eficacia protectora del 90 al 95 %. Sin embargo, la vacuna tiene fracasos primarios y secundarios. Los primarios se deben a una falta de seroconversión en los sujetos inmunizados y los secundarios a la disminución en el título de anticuerpos detectados después de la inmunización [13, 23, 24].

La ventaja más importante que presenta la vacunación es su relación costo-beneficio; el costo por cada dosis de la vacuna es de tres pesos (\$0.26 dólares, incluyendo el costo del equipo de administración segura) que es muy bajo comparado con el costo que implica la hospitalización de niños enfermos y/o con complicaciones por la infección. Estudios preliminares sugieren que el costo por vida-año ganada por la expansión de la cobertura de vacunación (del 50 al 80 %) fue de \$28.00 (veinte y ocho pesos, US\$2.53) en áreas con una alta incidencia de la enfermedad y altas tasas de mortalidad para el sarampión [37].

A través de diferentes observaciones realizadas por la OMS se estableció que la cobertura de vacunación necesaria para erradicar el virus del sarampión debe ser mayor al 95 % y debe de mantenerse por lo menos durante 10 años [37].

La estrategia para la erradicación del sarampión planteada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) comprende principalmente tres etapas: i) campañas de vacunación contra sarampión con coberturas mayores al 95 %, ii) mantenimiento de la cobertura de vacunación alcanzada durante 10 años y iii) seguimiento periódico de las campañas de vacunación.

El seguimiento de éste propuesta llevó a una disminución en el número de casos, ya que para el año 2000, solamente se confirmaron 1,747 casos en el continente Americano [2,7].

A nivel mundial, la OMS reportó que en 1999 doce países de África (Burkina Faso, Burundi, Camerún, Congo, Gabón, Guinea Bissau, Liberia, Nigeria, Madagascar, Senegal y Togo) y tres más de la Región Este del Mediterráneo (Afganistán, Djibouti y Somalia) tenían coberturas menores al 50 % (Figura 7) [14,11].

Cobertura de vacunación contra Sarampión en infantes, 2003

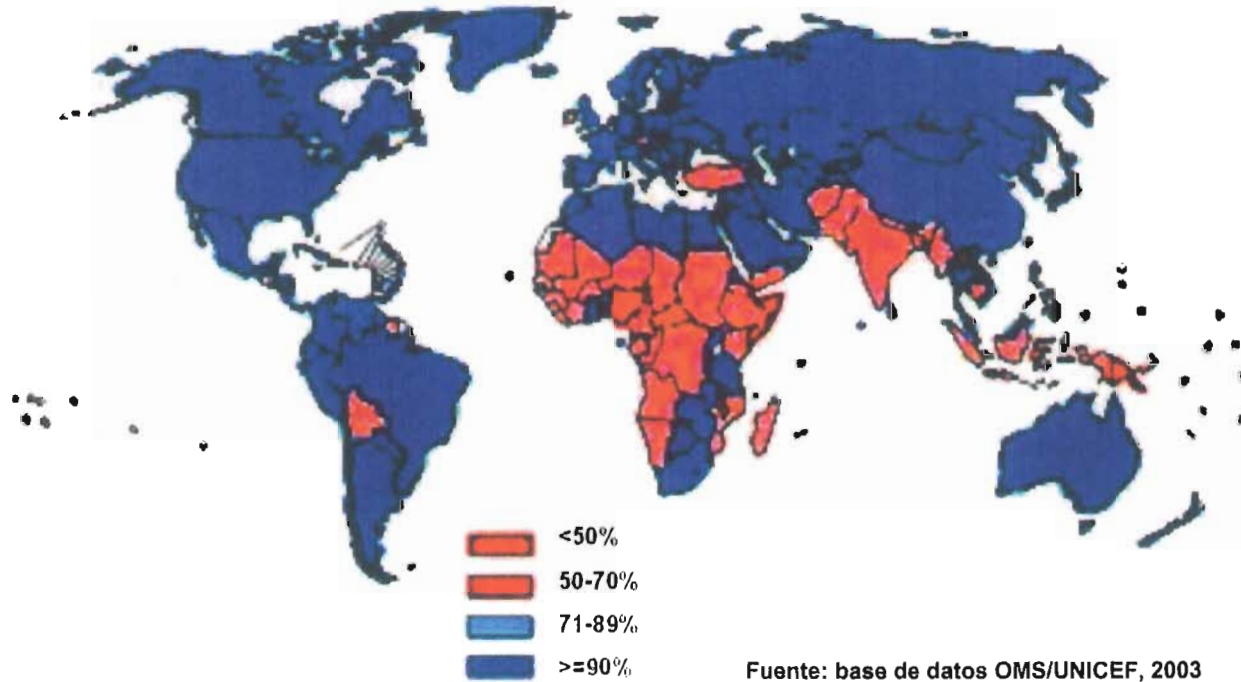


Figura 7. Cobertura de vacunación mundial contra el sarampión, durante el 2003.

Vacunación en México

En México, la vacuna de sarampión se comenzó a aplicar en 1969. En 1970 el Instituto Nacional de Virología inició la producción de la vacuna tipo Schwarz y en 1978 se cambió la cepa Schwarz por la Edmoston-Zagreb.

Antes de la introducción de la vacuna el sarampión fue endémico y causaba elevadas tasas de morbilidad y mortalidad. La enfermedad se presentaba en menores de 5 años de edad como brotes epidémicos cada dos años. Con el inicio de la vacunación masiva, se logró una reducción drástica en el número de casos registrados, principalmente entre 1973 y 1975, seguida de un importante repunte en la segunda mitad de los años setenta. La última epidemia, que se registró en México fue durante la pandemia de los años 1989 y 1990 con 20,381 y 68,782 casos, respectivamente (Figura 8) [31].

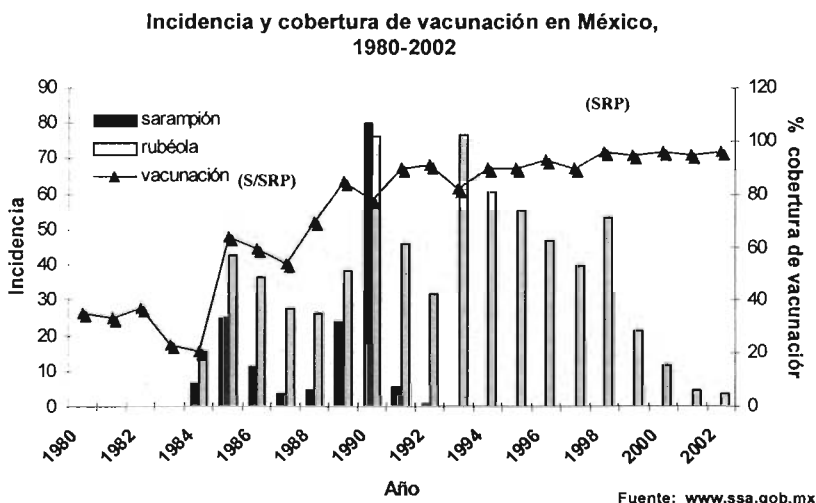


Figura 8.

Incidencia y cobertura de vacunación contra Sarampión y Rubéola en México, reportada a la Organización Mundial de la Salud de 1980 al 2002.

A partir de ésta epidemia, en 1991 se decidió cambiar el esquema de vacunación incluyéndose un refuerzo de la vacuna a los seis años o al ingresar a la educación básica, ya que anteriormente sólo se aplicaba una dosis de la vacuna al año de vida. Con la implementación del refuerzo se originó una reducción de casos a partir de 1991 y la ausencia total de casos autóctonos desde 1997 [31, 32, 26].

La reducción de casos de sarampión en los últimos años se debe al mantenimiento de coberturas de vacunación mayores al 90%, al fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica y la consecuente disminución de sujetos susceptibles [26].

En 1998 se sustituyó la vacuna monovalente de sarampión al introducir al esquema nacional de vacunación la vacuna triple viral contra Sarampión,-Rubéola y Parotiditis (SRP) con la finalidad de proteger también a los niños contra la rubéola y la parotiditis. A partir del 2001 se considera la aplicación de un refuerzo de sarampión entre los 10 y 19 años de edad [26,31].

Actualmente, la NOM-036, que regula la Aplicación de Vacunas establece la aplicación de dos dosis de la vacuna SRP (vía subcutánea), la primera dosis a los doce meses de edad y la segunda a los seis años o al ingresar a la escuela. La norma también establece que la vacuna puede contener las siguientes cepas del virus: la Edmoston-Enders, la Edmoston-Zagreb y la cepa Schwarz. Además, se maneja la aplicación de la vacuna doble viral (SR) y la vacuna de sarampión en casos de riesgo epidemiológico [20].

Rubéola

Generalidades

La rubéola normalmente ocurre como una enfermedad de erupción moderada (exantemática) que afecta principalmente a niños menores de 5 años. La enfermedad clínica es caracterizada por sarpullido, fiebre y linfadenopatías, algunas de las infecciones ocasionadas por el virus son subclínicas. La infección contraída durante el embarazo es una causa potencial de infección fetal dando como resultado defectos al nacimiento y varias formas de artritis.

El virus de la rubéola se clasifica dentro de la familia *Togaviridae*, en base a su genoma de RNA de polaridad positiva, su cápside eicosaédrica y su envoltura lipoproteína (Figura 9). El virus presenta tres polipéptidos, dos proteínas transmembranales denominadas E1, E2 y la proteína C que forma la cápside que envuelve el RNA del virion [13,40].

El virus es relativamente inestable y puede ser inactivado por solventes lipídicos, tripsina, formalina, luz ultravioleta, condiciones extremas de pH y temperatura y puede ser inhibido por la amantadina [13].

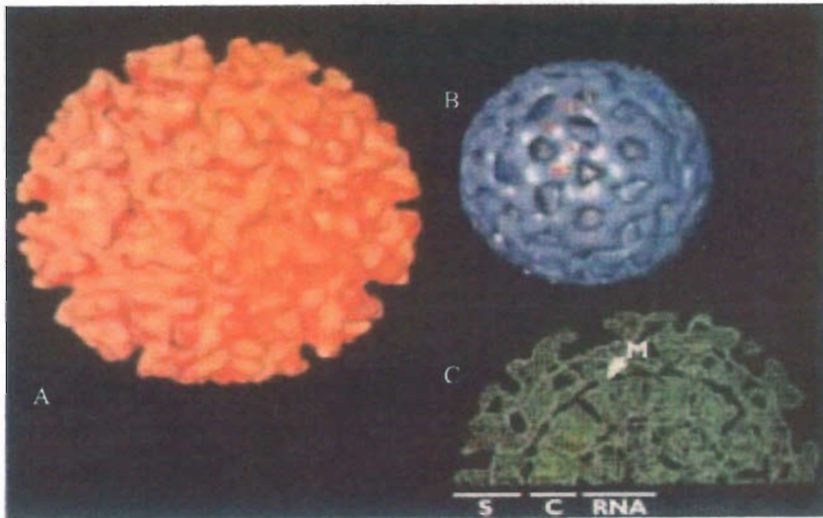


Figura 9.

Esquemática del virus de la Rubéola. En A y B se observa la capa externa que constituye al virus de la rubéola y en C se pueden apreciar las diferentes capas del virus (genoma, cápside, envoltura).

Epidemiología Mundial de la Rubéola

Antes de la introducción de la vacuna contra la rubéola en 1969, la enfermedad se distribuía uniformemente en todo el mundo y se presentaba en epidemias menores cada 6 a 9 años, alternando con otras mayores en intervalos de 30 años. En regiones templadas, la incidencia fue por lo general más alta a finales del invierno y a principios de la primavera. En Estados Unidos, la mayor epidemia se produjo en 1964 y afectó a 12, 500, 000 personas [13,40].

Para 1969 se autorizó la administración de la vacuna elaborada con virus vivos atenuados, pero ésta se comenzó a aplicar principalmente en países desarrollados, por lo que se presentaron epidemias subsiguientes en los países donde no se

utilizó. No obstante, se reportan brotes localizados, principalmente en escuelas e instituciones militares [40, 27].

Recientemente, se estableció que la incidencia de casos clínicos de rubéola es más alta en primavera y es reconocida como la más común en niños de 6-9 años de edad. En una revisión de los registros de casos de rubéola en el continente americano se encontró que cada año nacen más de 200 000 niños con Síndrome de Rubéola Congénita (SRC), aunque no se presenten epidemias mayores (Figura 10) [3].

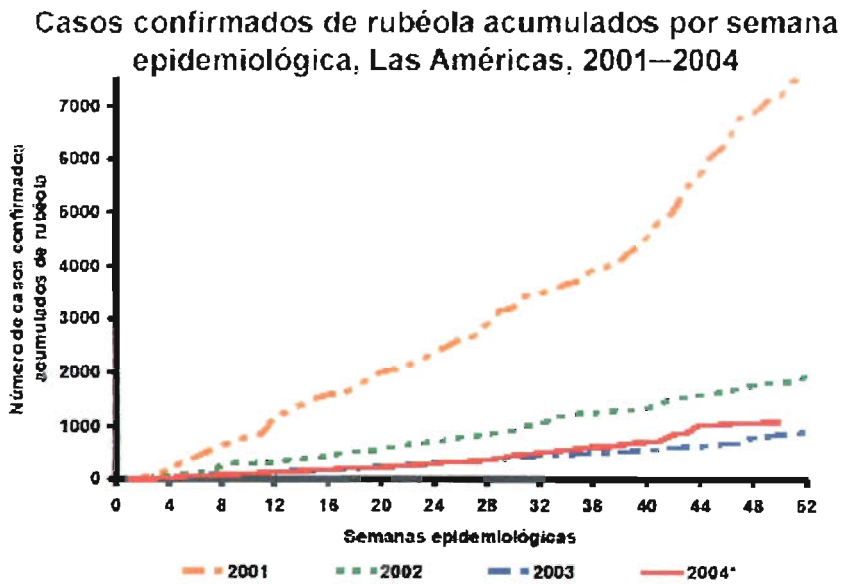


Figura 10.

Número de casos de Rubéola reportados en el continente americano por la Organización Panamericana de la Salud entre los años 2001 al 2004.

Epidemiología de la Rubéola en México

En la década de los 60's y 70's, la rubéola fue una enfermedad endémica que afectaba principalmente a niños de edad escolar y uno de cada cinco casos se presentaba en mujeres en edad reproductiva. En la década de los ochenta se presentaban brotes epidémicos cada tres o cuatro años [27, 31].

De 1990-1992 se notificaron un promedio de 40,000 casos anuales de rubéola como consecuencia de la vigilancia epidemiológica en éste período. De 1993 a 1998, la incidencia disminuyó en un 24 % (de 76.7 casos en 1993 a 53.9 casos en 1998). Previo a la introducción de las vacunas SRP en 1998 y SR en el 2000, anualmente se registraban varios brotes de rubéola, predominantemente en el primer semestre de cada año. En 1996 se notificaron brotes en 50 municipios, en 1997 en 89 municipios y durante 1998 en 56 municipios (Figura 7) [27].

A pesar de la disminución en la incidencia de casos de rubéola, las encuestas seroepidemiológicas sugieren que en México existe una tasa relativamente elevada de mujeres en edad fértil susceptibles a rubéola (20 %), lo que representa una población de alto riesgo [31].

El comportamiento de la rubéola congénita por el contrario, no fue determinado en México puesto que el 40 % de los casos fueron asintomáticos. El registro de los casos de SRC inició a partir de 1998. En ese mismo año y en 1999, el 44 % de las mujeres embarazadas detectadas en 19 entidades federativas del país por el sistema nacional de salud, fueron IgM positivas para rubéola; de éste grupo de mujeres se registraron 64 niños con confirmación diagnóstica de rubéola, de los cuales 49 presentan alteraciones compatibles con el SRC [31].

En encuestas sero-epidemiológicas en población abierta se demostró que a los 15 años de edad, aproximadamente el 80 % de la población tuvo contacto con el virus de la rubéola. Así mismo, sólo del 10 al 15 % de las mujeres sexualmente activas son susceptibles a desarrollar la enfermedad. En el Valle de México en 1996 se determinó que el 92 % de las mujeres embarazadas son seropositivas a rubéola [22].

Patología

El virus causante de la rubéola es transmitido a través de gotas de secreciones respiratorias provenientes de personas infectadas. La fase más contagiosa se da cuando aparece el salpullido, aunque el virus está presente desde 10 días antes de su aparición hasta 15 días después. Las personas que presentan la enfermedad subclínicamente también pueden transmitir la infección [13,40].

El período de incubación del virus en el hospedero es en promedio de 18 días (puede presentarse desde los 12 hasta los 23 días). Durante la enfermedad se presenta una viremia primaria y una secundaria. La erupción aparece como consecuencia de la inmunidad celular producida por la infección lo cual sugiere que la erupción está mediada inmunológicamente [13,40].

La edad es el factor más importante para determinar la severidad de la rubéola, la infección postnatal es generalmente inocua, pero en el feto es de alto riesgo debido a que se puede desarrollar una rubéola severa con secuelas a largo plazo si la infección ocurre durante los primeros meses del embarazo.

Los niños generalmente no experimentan una fase prodrómica, pero los adultos pueden presentarla con fiebre y anorexia en los días críticos. Los síntomas de la

rubéola son las adenopatías que pueden durar semanas y la erupción que comienza sobre la cara y se extiende hacia abajo en el cuerpo. La infección es macopapular pero no confluyente, puede descamarse durante la convalecencia y en algunos casos está ausente. La erupción puede acompañarse de una coriza media y conjuntivitis y, usualmente dura de 3 a 5 días. En algunos casos, se puede presentar fiebre durante el día en que aparece la erupción [13,40].

La rubéola puede confundirse con otras enfermedades exantemáticas como el sarampión, aunque se considera moderadamente contagiosa en comparación con éste.

Entre las complicaciones ocasionadas por la infección con el virus de la rubéola se encuentran la superinfección bacteriana, la artritis o artralgia (niños y hombres), las manifestaciones hemorrágicas (1/3000 casos) y raramente la encefalitis [13, 40, 27].

La complicación más severa de ésta enfermedad es el síndrome de rubéola congénita (SRC), el cual se presenta cuando la infección se contrae durante los primeros meses del embarazo causando muerte fetal, parto prematuro y/o una serie de defectos congénitos. La incidencia de éste síndrome en una población es muy variable, depende del número de individuos susceptibles, de la circulación del virus en la comunidad y recientemente, del uso de la vacuna [13].

Los síntomas del SRC generalmente se clasifican en: i) temporales, como bajo peso al nacer; ii) permanentes, como la sordera; y iii) progresivos, como la miopía. Las manifestaciones más comunes son la sordera, las cataratas o glaucomas, las enfermedades del corazón, y el retraso mental [13, 40].

Si la infección se contrae durante los primeros dos meses de gestación, la probabilidad de que el feto contraiga la enfermedad es de 40-60 %, con la consecuencia de que presente múltiples defectos congénitos y/o se de un aborto espontáneo. Para el tercer mes de vida fetal el riesgo fetal de adquirir la infección disminuye al 30-35 %, en el cuarto mes la probabilidad disminuye al 10 % y ocasionalmente hay daño si la rubéola se presenta después de las 20 semanas de gestación [13].

Inmunidad

Después de contraer la infección con el virus de la rubéola la protección que se origina contra la enfermedad puede durar de por vida en la mayoría de las personas. En el caso de las personas vacunadas la persistencia de anticuerpos específicos IgG fue demostrada hasta 15 años después de la inmunización [13,6].

Sin embargo, la reinfección con el virus de la rubéola puede ocurrir y generalmente es más común en sujetos vacunados que en los que contrajeron la rubéola naturalmente. Las reinfecciones fueron documentadas por detección de un aumento en los títulos de anticuerpos contra rubéola en personas con una reexposición previa al virus, ya que en la mayoría de las personas tienen un curso asintomático [13].

Vacunación

El virus de la rubéola fue aislado en 1962 y atenuado en 1966, la primera vacuna con el virus vivo atenuado fue autorizada para su uso en 1969. Las cepas vacunales HPV-77 y la Cendehill fueron las primeras en introducirse, mientras que la cepa

Wistar RA 27/3, que se utiliza actualmente, fue autorizada para su uso en 1979 [13, 40, 6].

La vacuna que contiene la cepa Wistar RA 27/3 se obtiene a través de varios cultivos del virus en células humanas. Ésta vacuna fue ampliamente utilizada en Europa y es más inmunogénica que las vacunas utilizadas previamente, HPV 77 DE5 y Cendehill [13,27].

La administración de la vacuna tiene como objetivo prevenir el Síndrome de Rubéola Congénita (SRC) y la rubéola postnatal sin embargo, puede causar viremia y presentarse complicaciones como fiebre, adenopatías, artritis y artralgia. Las complicaciones son más comunes en adultos que en niños, y en mujeres mayores a los 25 años [3].

La inmunización con la vacuna Wistar RA 27/3 produce seroconversión en el 95 % al 100% de los sujetos y protección contra la enfermedad clínica en el 90 al 95 % de los mismos. La vacuna induce la producción de anticuerpos IgM e IgG, así como anticuerpos IgA secretorios en la nasofaringe. Se ha estimado que La protección conferida por la vacuna tiene una duración mínima de 18 años, prolongándose probablemente durante toda la vida. Diferentes estudios reportan que los títulos de anticuerpos producidos en sujetos vacunados son menores que los obtenidos en personas que se infectaron naturalmente (virus silvestre) [27].

En un estudio de seguimiento en el que se evaluó la cinética de anticuerpos contra rubéola producida por la vacuna MMR se encontró una seroprevalencia del 99 al 100% en los distintos grupos estudiados 15 años después de la administración de la vacuna. La vacuna se aplicó en dos dosis, en el primer grupo al año y a los 6 años, y, en el segundo, a los 6 y entre los 11 a 13 años de edad [6].

Los estudios costo-beneficio de vacunación contra rubéola en países desarrollados y en vías de desarrollo que tienen coberturas de vacunación mayores al 80%, mostraron beneficios que exceden el costo, particularmente cuando la vacuna para la rubéola fue combinada con la del sarampión [37].

A nivel mundial se estableció como grupo primario para la vacunación contra la rubéola a las mujeres en edad fértil (15-40 años); ésta estrategia puede idealmente ser combinada con la inmunización en la infancia (Figura 11). Sin embargo, la vacunación de niños contra rubéola a gran escala solo se recomienda cuando se alcanza una cobertura de vacunación de al menos el 80 %, ya que cuando es menor o no sostenida la reducción en la circulación del virus puede ocasionar una variación en la incidencia de la enfermedad para los grupos de edad mayores, incrementando el riesgo en la mujeres en edad de embarazo [37].

Actualmente, la mayoría de los países desarrollados incluyen la vacuna contra la rubéola en sus programas de inmunización, administrada usualmente en el segundo año de vida en una vacuna combinada (SRP). Además, en algunos países dan una segunda dosis de la vacuna SRP en niños con edad escolar y otras estrategias incluyen la vacunación selectiva de mujeres adolescentes con la vacuna monovalente para rubéola [37].

Vacunación en México

La aplicación de una vacuna contra la rubéola en México es muy reciente, ya que se incluyó en el esquema nacional de vacunación en 1998 al introducir la vacuna triple viral (SRP). En el 2000 se consideró la aplicación de la vacuna doble viral SR como refuerzo en adolescentes y adultos.

Actualmente, la NOM-036, publicada en el 2002, establece la aplicación de la vacuna triple viral (SRP) a los doce meses y seis años de edad y, la aplicación de un refuerzo con la vacuna monovalente (cepa Wistar RA 27/3) entre los seis y catorce años de edad como medida preventiva del SRC [20].

Países que incluyen la vacuna contra rubéola dentro de su esquema de vacunación, 2003

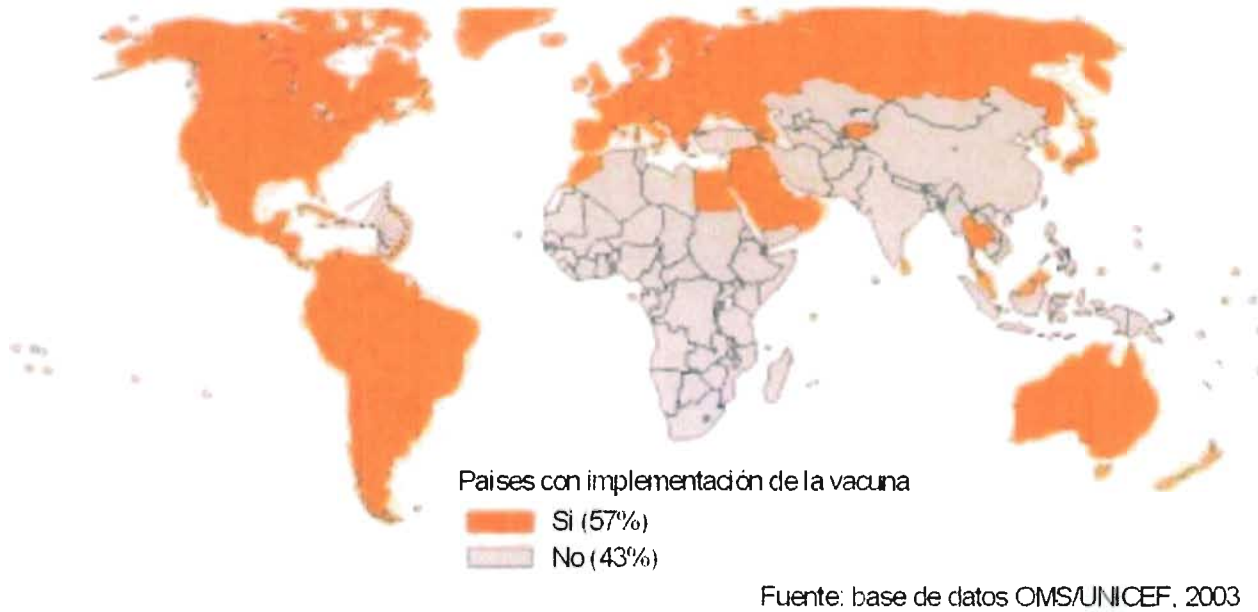


Figura 11.

En el mapa se observan en color amarillo los países que incluyen la vacuna contra rubéola dentro de su esquema de inmunización según datos reportados por la OMS en el 2003.

JUSTIFICACIÓN

Los programas de vacunación en México han disminuido la incidencia de Sarampión y Rubéola en los últimos años. Sin embargo, durante los años 2003 y 2004 se presentaron brotes de sarampión que afectaron principalmente a la población de 15 a 25 años de edad, por lo que es necesario determinar la prevalencia de anticuerpos contra Sarampión y Rubéola en éste grupo de edad.

OBJETIVO

Determinar la prevalencia de anticuerpos contra Sarampión y Rubéola en niños y adolescentes inmunizados.

Objetivos particulares

Primera fase

- Obtención de muestras de suero de alumnos inscritos en la UNAM y de población infantil.
- Determinación del índice de IgG contra sarampión.
- Determinación del nivel IgG e IgM contra Rubéola.

Segunda fase

- Determinación del índice de IgG contra sarampión en individuos revacunados.
- Determinación del nivel de IgG1 e IgG4 contra sarampión en individuos seronegativos *vs* seropositivos post vacunación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población

Población Infantil

Se estudió un total de 101 sueros de niños (55 hombres y 46 mujeres) de entre 0 y 76 meses de edad (de 0 a 6.3 años) provenientes de la guardería del Instituto Nacional de Pediatría obtenidos de la colección de sueros del Programa de Inmunología Molecular Microbiana

Adolescentes y adultos jóvenes

En el estudio participaron 450 alumnos inscritos en dependencias de la UNAM, distribuidos como se muestra en la tabla 1. A cada uno de los participantes se le pidió su consentimiento informándoles previamente sobre las características y objetivos del estudio. En el caso de los menores de 18 años, se solicitó el consentimiento informado firmado por el padre o tutor.

Tabla 1. Distribución y características de la población en estudio.

Población	n	Edad media (años)	Mujeres %	Hombres %
Niños	101	2.3 (0-6)	46	54
Adolescentes*	450	19 (14-26)	68	32
Escuela de procedencia*				
ENP	183	16	64	36
ENEO	172	21	80	20
Facultad Medicina	51	18	63	37
Facultad de Química	44	22	43	57

Toma y tratamiento de Muestra

A cada uno de los participantes en el estudio se le tomó la muestra de sangre (aproximadamente 10 mL) por punción venosa (Sistema Vacutainer®). Posteriormente se obtuvo el suero de la muestra por centrifugación a 2,500 rpm (4°C) durante 10 minutos y se almacenó a -70°C hasta realizar las pruebas establecidas.

En caso de los adolescentes y adultos jóvenes que resultaron seronegativos, se les aplicó un refuerzo con la vacuna monovalente para sarampión (Vacuna anti-sarampión, viva atenuada, Instituto de Sueros de la India®) y se tomó la segunda muestra seis semanas después de la aplicación de la misma.

Determinación de anticuerpos IgG e IgM

A las muestras séricas obtenidas, de adolescentes y niños, se les determinó el índice de anticuerpos IgG para sarampión e IgG, IgM para rubéola, empleando el sistema automatizado MiniVidas (bioMérieux®, Francia) siguiendo cada una de las especificaciones indicadas por el fabricante. Mientras, en el caso de los sujetos revacunados únicamente se les determinó el índice de anticuerpos IgG para sarampión empleando el mismo sistema.

Sistema Automatizado MiniVidas®

El principio de la determinación se basa en el método inmunoenzimático de sándwich en dos etapas y de la presencia de anticuerpos por la detección final del desdoblamiento de un sustrato por fluorescencia (ELFA). En la figura 12 se puede observar el equipo.

El sistema consiste de tiras de pozos individuales de polietileno en donde se encuentran los reactivos utilizados para la prueba y un cono de un solo uso, que sirve a su vez de soporte y sistema de pipeteo (Figura 13).

En el caso de la determinación de IgG para sarampión y rubéola, se incuba la muestra diluida 1:100 con el antígeno (Ag) unido al soporte, posteriormente se elimina el Ag no adherido con lavados y la muestra se incuba con anticuerpo (Ac) anti-IgG conjugado con fosfatasa alcalina, finalmente se revela con el sustrato (4-metil-umbeliferona) y se determina el índice de fluorescencia a 450nm. El valor de la señal de fluorescencia es proporcional a la concentración de IgG presente en la muestra. El equipo calcula automáticamente, el índice de Ac en base a una curva estándar grabada. La interpretación de los resultados obtenidos se muestra en las tablas 2 y 3.

Tabla 2.
Interpretación para Sarampión IgG

Valor de la prueba (VT)	Interpretación
<0.50	Negativo
≥ 0.50 a <0.70	Dudoso
≥ 0.70	Positivo

VT: valor de la prueba, índice calculado a partir de una curva.

Tabla 3.
Interpretación para Rubéola IgG

Título (UI/mL)	Interpretación
<10	Negativo
$10 \leq a < 15$	Dudoso
≥ 15	Positivo

UI/mL: Unidades Internacionales por mililitro.

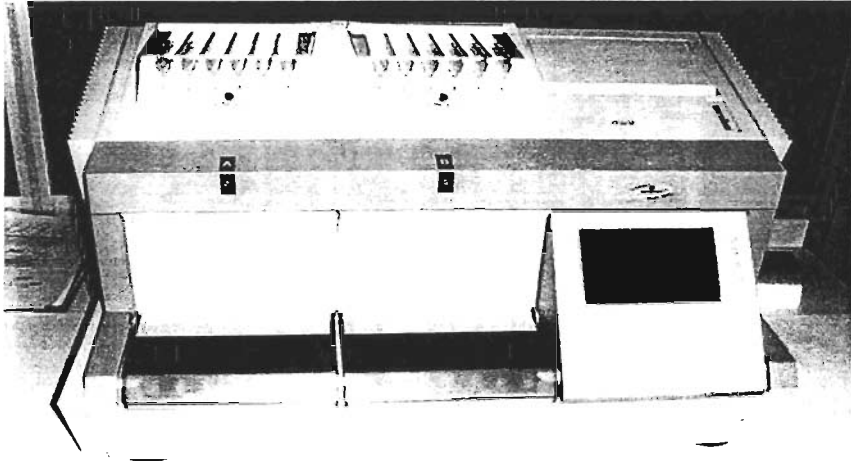


Figura 12.
Fotografía de sistema automatizado MiniVidas.

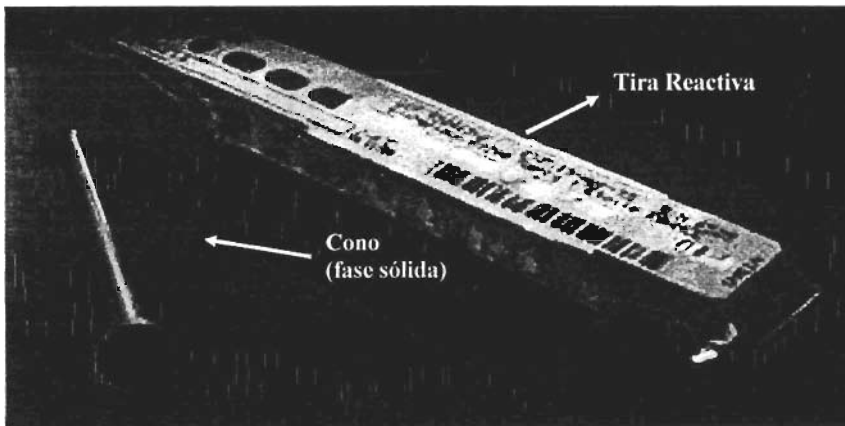


Figura 13.
Cono de un solo uso y tira reactiva del equipo.

Para la determinación de IgM contra Rubéola, el soporte se encuentra unido a los anticuerpos anti-IgM. La muestra diluida 1:100 se incuba en el soporte, se eliminan los Ac no reactivos mediante lavados y se incuba con el Ag de la rubéola. Éste último es detectado por el revelado con Ac monoclonal anti-rubéola conjugado con fosfatasa alcalina (conjugado), el conjugado obtenido se incubó con el sustrato y se midió la fluorescencia a 450 nm. Finalmente, el equipo calculó el índice de anticuerpos en base a una curva de calibración grabada previamente en el equipo (Tabla 4).

Tabla 4.
Interpretación para Rubéola IgM

Índice (i)	Interpretación
$i < 0.8$	Negativo
$0.80 \leq i < 1.20$	Dudoso
$i \geq 1.20$	Positivo

i: índice calculado a partir de una curva grabada en el equipo.

Determinación de los subtipos IgG1 e IgG4 para sarampión

El nivel de los subtipos IgG1 e IgG4 de las muestras pre y post-vacunación se determinó por medio de ensayos inmunoenzimáticos (ELISA).

En la técnica realizada en las micro placas de ELISA (Maxisorp, NUNC) se sensibilizaron con Ag de sarampión (vacuna monovalente liofilizada de la India), en dilución 1:10 y se incubaron toda la noche a temperatura ambiente. Al finalizar, las micro placas se incubaron a 37°C con BSA al 1 % por 30 minutos, y se realizaron 3 lavados con PBS (Tween 0.5 %). Posteriormente, se incubó la micro placa con el

suero diluido 1:100 por una hora a 37°C y enseguida con el anticuerpo monoclonal anti- IgG1 o anti-IgG4 (laboratorios ZYMED) a una concentración final de 2µg/mL por 1 hora a 37°C. Por último, se le adicionó anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa diluido 1:4000 (laboratorios Dako Corporation) y se incubó por una hora a 37°C, éste se reveló con el substrato OPD (Sigma) y se determinó la absorbancia a 492 nm. Es importante destacar que entre cada paso se realizaron tres lavados con PBS (adicionado con Tween).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba de hipótesis para proporciones (estadístico z), con un nivel de significancia de 0.05. Los resultados utilizados para el análisis corresponden al número de sujetos positivos y negativos para cada una de las pruebas realizadas.

RESULTADOS

Adolescentes y adultos jóvenes

A los 450 sujetos participantes en el estudio se les determinó el nivel de anticuerpos IgG para sarampión y rubéola. En el caso de sarampión se obtuvo el 76 % (343/450) de seropositividad, mientras que para rubéola el porcentaje obtenido fue del 90 % (407/450) (Figura 14), siendo la diferencia entre éstos porcentajes estadísticamente significativa ($p < 0.0002$).

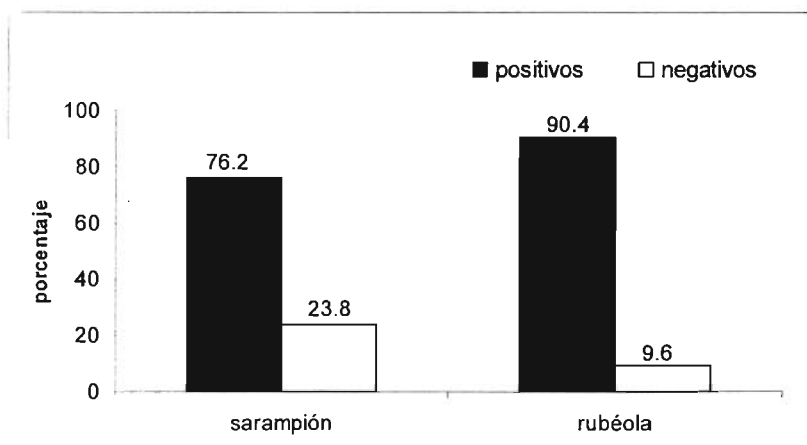


Figura 14.

Seropositividad de IgG para Sarampión y Rubéola. Prevalencia de anticuerpos IgG para sarampión y rubéola en adolescentes y adultos jóvenes ($n = 450$), mostrada en porcentajes de sujetos con títulos positivos y negativos.

Al analizar la población por escuela de procedencia se obtuvieron diferencias en los porcentajes de seropositividad obtenidos para sarampión y rubéola. Los porcentajes más bajos para ambos virus se presentaron en la Facultad de Medicina y los más altos en la Escuela Nacional de Enfermería y Obstetricia (ENEO). En la tabla 5 se muestran los porcentajes de seropositividad obtenidos por entidad participante.

Tabla 5.

Porcentaje de sujetos seropositivos para sarampión y rubéola (IgG), en adolescentes y en la población infantil.

Población	% Positivos	
	Sarampión	Rubéola
Niños	61.4 (62/101)	46.5 (47/101)
Adolescentes	76.2 (343/450)	90.4 (407/450)
ENP	71.0 (130/183)	89.1 (163/183)
ENEO	87.8 (151/172)	94.2 (162/172)
Fac. Medicina	58.8 (30/51)	82.4 (42/51)
Fac. Química	72.7 (32/44)	90.9 (40/44)

En relación a los resultados obtenidos para rubéola y sarampión se observó que el 71 % de individuos presentó títulos positivos de anticuerpos contra ambos virus, mientras que sólo un 4 % fue negativo para ambas pruebas. El 19 % de los adolescentes presentaron títulos positivos para rubéola, pero negativos para sarampión (Figura 15).

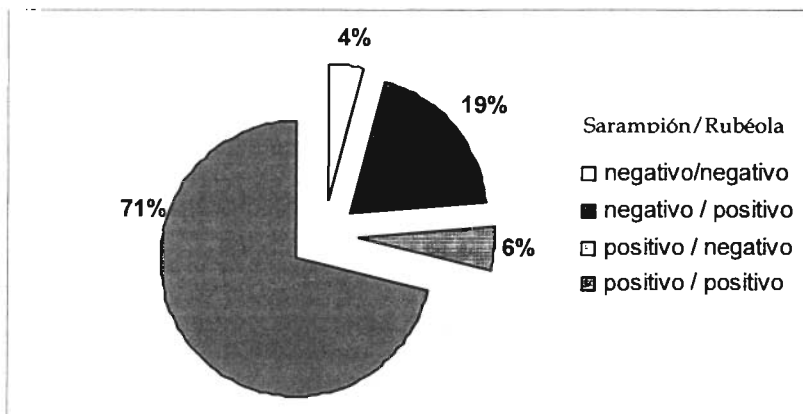


Figura 15.

Relación entre la prevalencia de anticuerpos para sarampión y rubéola (n=450), dividiendo la muestra de acuerdo a su positividad a una o ambas pruebas.

En el caso del sarampión (tabla 6), los resultados no mostraron diferencias significativas al analizarlos por género. Sin embargo, al analizar los datos por edad se encontraron diferencias significativas entre el grupo de 14-15 años (62 %) y el de 20- 21 años (89 %, $p < 0.0002$), así como entre en el grupo de 16-17 (77 %) y el de 20-21 años de edad (89 %, $p < 0.0174$).

En los resultados presentados por el índice de anticuerpos, en los sujetos positivos a la prueba encontramos un mayor número de personas con índices entre 1.0 -1.99 (43 %), mientras que un número menor de sujetos se ubicaron en el intervalo de 2.0 a 2.99 (27 %).

Tabla 6.
Resultados de sarampión agrupados por género,
edad e índice de anticuerpos

Característica	%Positivos	
Sexo		
Mujeres	77.3	(238/308)
Hombres	74.7	(106/142)
Edad (años)	%Positivos	
14-15	62.4	(53/85)
16-17	77.3	(58/75)
18-19	72.4	(84/116)
20-21	89.4	(84/94)
22-23	81.8	(45/55)
24-26	80.0	(20/25)
Título	%	
0.7-0.99	13.4	(46/344)
1.0-1.99	43.4	(149/344)
2.0-2.99	27.4	(94/344)
3 o más	15.7	(54/344)

Los porcentajes se calcularon en base al número de sujetos positivos (343/450). *Diferencias estadísticamente significativas.

En los resultados de seropositividad contra rubéola (tabla 7) se presentaron diferencias estadísticamente significativas al analizarlos por género ($p < 0.0107$), con un 93 % de seropositividad para mujeres y un 86 % para hombres. En el análisis realizado por grupo edad se observó una alta prevalancia de anticuerpos anti-rubéola en el grupo de 20-21 años edad (96 %) en contraste con el grupos de 14-15 años (86 %, $p < 0.0099$). En general, todos los grupos de edad presentaron una

mayor seroprevalencia que la encontrada para sarampión. En relación a los títulos de anticuerpos para rubéola se detectó un alto porcentaje de sujetos seropositivos en el intervalo de 101-200 UI/mL (32 %). Además el 28 % presentó títulos mayores a las 400 UI/mL; en la misma población.

Tabla 7.

Resultados de rubéola agrupados por género, edad y título de anticuerpos

Característica	%Positivos	
Sexo		
Mujeres	92.5	(285/308)
Hombres	85.9	(122/142)
Edad (años)	%Positivos	
14-15	85.9	(73/85)
16-17	92.0	(69/76)
18-19	88.8	(103/116)
20-21	95.7	(90/94)
22-23	90.9	(50/55)
24-25	88.0	(22/25)
Título(UI/mL)	%	
15-100	20.6	(84/407)
101-200	31.5	(128/407)
201-300	19.2	(78/407)
>300	28.7	(117/407)

Los porcentajes se calcularon en base al número de sujetos positivos (407/450). *Diferencias estadísticamente significativas $P < 0.05$.

Al realizar los ensayos para la detección de IgM contra rubéola solamente se encontraron dos individuos con títulos considerados positivos, y al interrogatorio mencionaron que recientemente habían recibido la vacuna doble viral (Sarampión-Rubéola).

Población infantil

Al realizar la determinación de IgG para sarampión y rubéola en los sueros de los niños se encontró el 61 % (62/101) de seropositividad para sarampión y el 47 % (47/101) para rubéola (Figura 16), encontrándose una diferencia significativa entre ambos valores ($p < 0.023$)

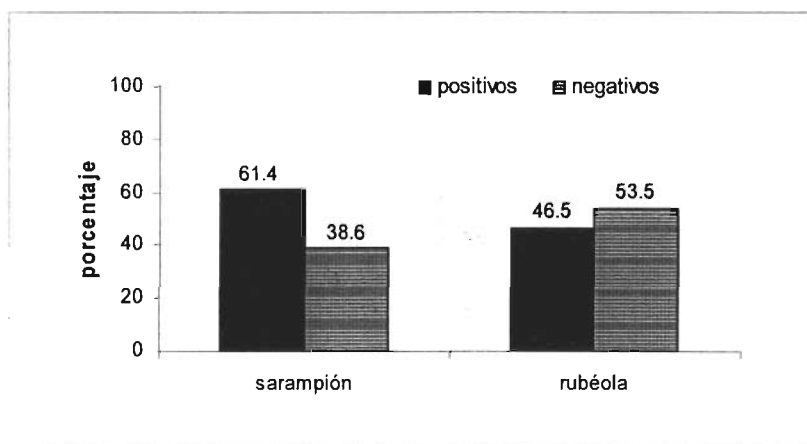


Figura 16.

Prevalencia de anticuerpos IgG para sarampión y rubéola en niños. Los porcentajes representan el número de niños positivos y negativos a la prueba de IgG.

Los resultados muestran un bajo porcentaje de sujetos positivos a la prueba de rubéola en comparación a los obtenidos en adolescentes (tabla 5).

Al analizar los resultados por género (tablas 8 y 9), se obtuvo un mayor porcentaje de prevalencia de anticuerpos IgG contra sarampión en ambos sexos (60 % en hombres y 63 % en mujeres), en comparación con los encontrados para rubéola (38 % y 57 %, en hombres y mujeres, respectivamente). Al comparar el porcentaje de seropositividad para sarampión en hombres (60 %, 33/55) con la de las mujeres (63 %, 29/46) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. En el caso de la rubéola se encontraron diferencias significativas ($p < 0.025$) al compararse la seropositividad de IgG en hombres (38 %, 21/55) con el de mujeres (57 %, 26/46).

Tabla 8 (izquierda) y Tabla 9 (derecha).

Resultados de sarampión y rubéola por género, edad e índice o título de anticuerpos.

Sarampión

Característica	%Positivos	
Sexo		
Mujeres	63.0	(29/46)
Hombres	60.0	(33/55)
Edad (meses)	%Positivos	
0-12	18.5	(5/27)
13-24	75.0	(15/20)
25-36	85.0	(17/20)
37-48	73.9	(17/23)
49-x	72.7	(8/11)
Título	%	
0.7-0.99	21.0	(13/62)
1.0-1.99	43.5	(27/62)
2.0-2.99	11.3	(7/62)
3 o más	24.2	(15/62)

Rubéola

Característica	%Positivos	
Sexo		
Mujeres	56.5	(26/46)
Hombres	38.2	(21/55)
Edad (meses)	%Positivos	
0-12	11.1	(3/27)
13-24	15.0	(3/20)
25-36	80.0	(16/20)
37-48	73.9	(17/23)
49-x	72.7	(8/11)
Título(U/mL)	%	
15-100	17.4	(8/47)
101-200	4.3	(2/47)
201-300	12.8	(6/47)
>300	66.0	(31/47)

Los porcentajes se calcularon en base al número de sujetos seropositivos, 62 para sarampión y 47 para rubéola, a la prueba para IgG total. *Diferencias estadísticamente significativas, $p < 0.05$.

En los resultados analizados por intervalo de edad se obtuvieron diferentes porcentajes de seropositividad de IgG contra sarampión (tabla 8 y 9). La seropositividad a sarampión y rubéola fue muy baja de los cero a los doce meses de edad (19 % y 11 %, respectivamente).

Una tendencia similar fue encontrada para sarampión y rubéola, la seroprevalencia de anticuerpos IgG aumentó al incrementarse la edad de los niños, hasta alcanzar un nivel máximo, a partir del cual el nivel de anticuerpos comenzó a disminuir. El nivel máximo se alcanzó entre los 13 y 24 meses de edad (75%) en el caso del sarampión, mientras que para rubéola fue entre los 25 y 36 meses (80%). (Figura 17).

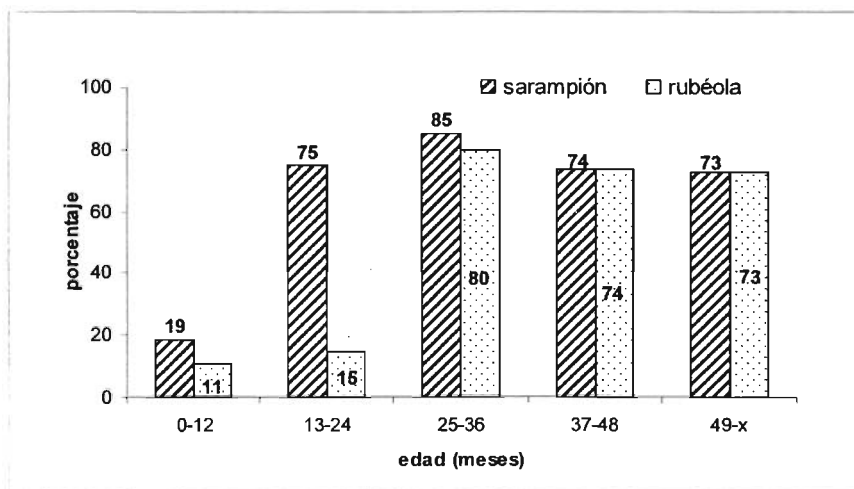


Figura 17.

Resultados de la prevalencia de anticuerpos IgG para sarampión y rubéola, por grupo de edad, en la población infantil (n=101).

Adolescentes y adultos jóvenes revacunados

De los sujetos revacunados con la vacuna monovalente contra sarampión, únicamente se obtuvieron 28 muestras de suero a las seis semanas después de la vacunación. El 68 % de las muestras corresponde a mujeres (19) y el 32 % a hombres (9) con una edad promedio de 18.7 años.

El índice de anticuerpos anti-sarampión obtenidos post vacunación varió de 0.7 a 5 (Figura 18). En el 46 % de los sujetos revacunados se encontraron índices de 1.6-2.5, en el 29 % se ubicaron dentro de índices bajos (0.7-1.5) y tan solo el 25 % de ellos presentó índices altos (2.6-5.0).

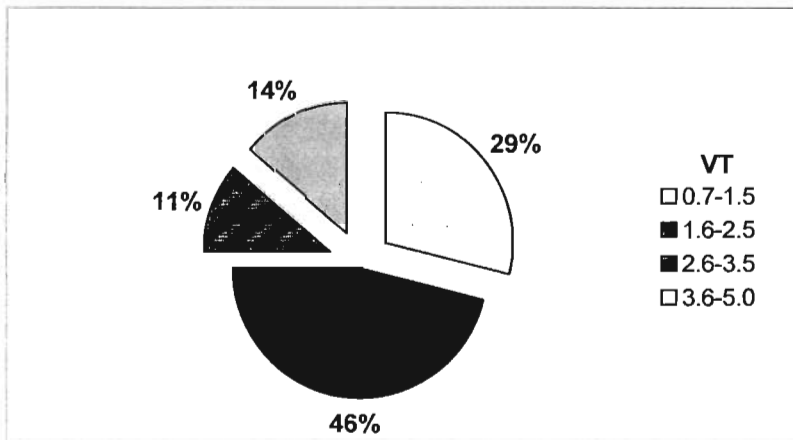


Figura 18.

La gráfica muestra el nivel de anticuerpos anti-sarampión en los adolescentes revacunados a las 6 semanas, dividido en intervalos de acuerdo al índice reportado para la interpretación de los resultados de IgG para sarampión.

En los intervalos de títulos bajos (0.7-2.5) se encuentran la mayoría de los adolescentes revacunados de 14-15 años (6/8); también se observó que las mujeres revacunadas presentan títulos más bajos que los hombres. Todos los hombres (9/9) se ubican dentro del intervalo de títulos altos, 2.6-5.0.

Serotipos IgG1 e IgG4

Para la determinación de los niveles de anticuerpos IgG1 e IgG4 contra sarampión se seleccionaron 13 muestras de los sujetos revacunados.

En el caso del nivel de anticuerpos IgG1 (Figura 19) se pudo observar una tendencia similar en todos los sueros, marcado por el incremento en la cantidad de IgG1 en los sujetos revacunados aunque estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

Los niveles de anticuerpos del isotipo IgG4 (Figura 20) fueron muy bajos en comparación con los obtenidos para el isotipo IgG1. Entre los sujetos pre y post-vacunados no se encontraron diferencias en cuanto a la presencia (cantidad) de éste isotipo.

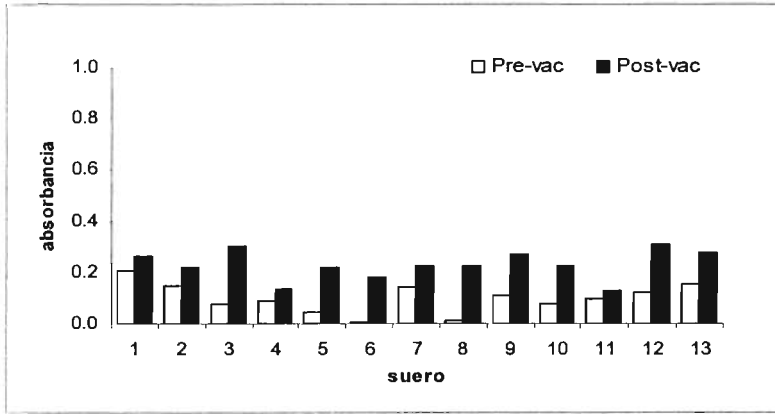


Figura 19. Nivel de anticuerpos IgG1, en sujetos seronegativos a la prueba de sarampión (pre-vacunados) y en sujetos revacunados (post-vacunados), determinado mediante ELISA.

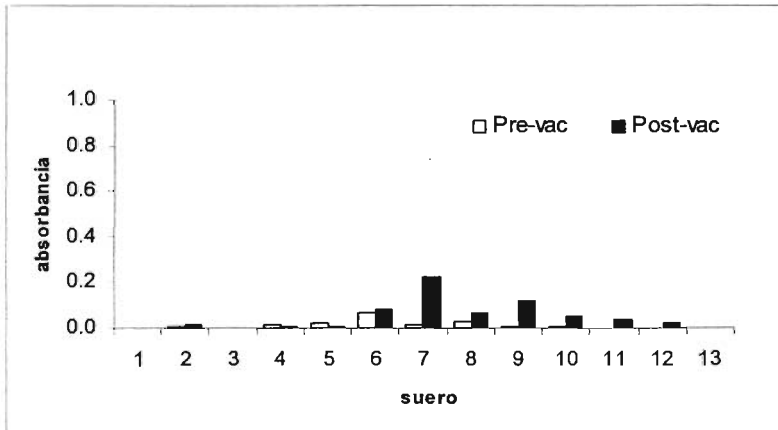


Figura 20. Niveles de anticuerpos IgG4, en adolescentes seronegativos a la prueba de sarampión (pre-vacunados) y en sujetos revacunados (post-vacunados), determinado por ELISA.

DISCUSIÓN

En un estudio realizado en Canadá, en el cual se comparo el título de anticuerpos contra sarampión por ELISA con los ensayos de neutralización en placa que son considerados el estándar de oro en la determinación de la inmunidad contra sarampión, se encontró que la ELISA tiene una especificidad del 100 % y una sensibilidad del 99 % [19]. Para determinar del índice de IgG para Sarampión y del título IgG para Rubéola, en este estudio utilizamos un ensayo inmunoenzimático con sustrato fluorescente (ELFA), el cual en estudios previos demostró una mayor sensibilidad [36].

En la población de adolescentes y adultos jóvenes estudiada encontramos un 76 % de seropositividad para Sarampión. Sin embargo, nosotros esperábamos una mayor seropositividad, considerando la cobertura de vacunación reportada por la secretaria de salud en nuestro país y la predicción de que existe la exposición al virus silvestre.

En la literatura nacional no existen reportes publicados con los cuales comparar los resultados obtenidos en éste estudio, ya que los estudios realizados en población Mexicana en años recientes no incluyen a esta población.

En estudios de seropositividad realizados a alumnos de secundaria y a residentes del Centro Médico Nacional siglo XXI se encontró que los alumnos de secundaria tienen una susceptibilidad para sarampión de 21.4 % (seropositividad del 78.6 %), lo cual representó un valor mayor de protección comparado con el 62 % de seropositividad encontrado en nuestra población de 14-15 años. En el segundo estudio se obtuvo un 99 % de seropositividad para sarampión, sin embargo, el grupo de residentes estudiado poseen un promedio de edad de 29 años y es

considerada una población de alto riesgo al trabajar en la especialidad pediatría de un hospital [9,38].

En el caso de Rubéola, encontramos una seroprevalencia del 90 %, lo cual sugiere que la inmunidad que posee esta población se debe a la exposición a virus silvestres ya que se trata de una enfermedad exantémica cuyo diagnóstico es difícil y rara vez se recurre al laboratorio clínico para diferenciarla del sarampión, la rubéola y de otras enfermedades exantemáticas; además de que la vacuna contra la rubéola comenzó a aplicarse en 1998 y la población de estudio fue vacunada entre 1980-1991. Es importante recordar que la enfermedad puede presentarse como subclínica y hasta hace algunos años (<1998) la enfermedad presentaba un alto índice de morbilidad en México [31].

Al analizar la seropositividad de acuerdo a escuela de procedencia de los sujetos incluidos se observó una menor seroprevalencia de anticuerpos para sarampión y rubéola en los estudiantes de la Facultad de Medicina, mientras que en los estudiantes de la ENEO se obtuvo el mayor porcentaje de seropositividad para ambas pruebas. Esta diferencia no tiene una explicación clara ya que, a pesar de que el promedio de edad en éstos grupos fue diferente (18 años en Medicina, 21 en la ENEO) esto no explica las diferencias observadas, sugiriendo que estas son efecto del ambiente en el cual se desarrollan los estudiantes, ya que la población de la ENEO ha incursionado en actividades hospitalarias, mientras que los estudiantes de medicina, aun son población cautiva en el campus universitario y, al tamaño de muestra estudiado en cada caso (183 en la ENEO y 51 en la Facultad de Medicina).

Al analizar las poblaciones estudiadas por género se observaron diferencias entre la seroprevalencia para rubéola, sin embargo no se encontró lo mismo para sarampión. Lo anterior nos indica que el género puede influir en la respuesta

generada contra el virus de la rubéola. Resultados similares se encontraron en Austria (1999), donde la población de seroprevalencia para rubéola en mujeres fue del 93 % y en hombres del 85 % [29].

En el caso del análisis realizado por grupo de edad, llama la atención el hecho de que los adolescentes de 14 y 15 años son los que presentaron una menor seropositividad para sarampión (62 %) y rubéola (85 %), lo cual indica que, éste es el grupo de edad que más susceptible a infectarse con éstos virus.

En el grupo de 20-21 años se obtuvo la mayor seroprevalencia para Sarampión (89 %) y Rubéola (96 %), lo cual seguramente se debe a la suma de la inmunidad producida por la vacuna y la producida por exposición al virus silvestre, considerando que en esta población la cobertura de vacunación reportada por la Secretaría de Salud fue del 40% (www.salud.gob.mx). Lo anterior sugiere que las poblaciones estudiadas han estado expuestas al virus del sarampión y al de la rubéola ya sea por enfermedad, infección subclínica o vacunación.

En algunos estudios se reportó que en los adolescentes la inmunidad generada contra estos virus puede ser menor debido al fracaso secundario de la vacuna, el cual puede deberse a una mala administración de la misma, a la edad de inmunización, o la cepa con la cual se vacunó, entre otras causas [25, 23,24].

Es importante destacar que aunque las pruebas de IgG para sarampión y rubéola sean negativas, la mayoría de los sujetos reportados como seronegativos presenta un índice de anticuerpos menor al punto de corte, lo cual nos hace pensar que ya tuvieron un contacto previo con el virus del sarampión y la rubéola.

En cuanto al índice de anticuerpos determinados para sarampión y el título determinado para rubéola, la mayoría de los adolescentes se agruparon en los

valores intermedios. Lo cual resulta predecible ya que, después de una exposición al virus silvestre o a la cepa vacunal, el nivel de anticuerpos disminuye a través del tiempo [34]. Se ha documentado que la inmunidad contra el sarampión inducida por vacunación puede permanecer con títulos protectores hasta por 33 años después [35,34]. En el caso de rubéola se han encontrado títulos de anticuerpos protectores hasta por 15 años después de la vacunación [6].

En la población infantil los resultados se relacionaron con algunas de las tendencias observadas en la población de adolescentes, como las diferencias por género, donde también se encontró una mayor seroprevalencia de anticuerpos para rubéola en mujeres (57 %) en comparación con la obtenida en hombres (38 %).

En los niños sin embargo, se encontró una mayor seroprevalencia para sarampión (61 %) que para rubéola (47 %), lo opuesto a lo obtenido en adolescentes, lo cual se debe a que en los niños la exposición al virus de la rubéola fue menor que en los adolescentes. La baja seroprevalencia observada para ambos virus, se debe a que la población de estudio se incluyeron niños de 0 a 12 meses de edad, que aún no recibían la vacuna de sarampión. Hay que tomar en cuenta que en los años en los que ésta población fue vacunada únicamente se administraba la vacuna monovalente (S) contra el sarampión.

Al observar el comportamiento de la seropositividad por grupo de edad se encontró que durante los primeros doce meses de edad prácticamente no hay presencia de inmunidad contra el virus (19 %) y, en los niños que se presenta, esta puede deberse a la presencia de anticuerpos neutralizantes adquiridos de la madre, como ya ha sido descrito en diversos estudios [28, 10].

Entre los trece y 24 meses de edad se observa un incremento (del 19 % al 75 %) sustancial en la seroprevalencia de anticuerpos, debida a la aplicación de la

vacuna, alcanzando su máximo al tercer año de edad (85 %) y posteriormente una ligera disminución. Esto último concuerda con estudios previos en los cuales se observó que después de desarrollar anticuerpos contra el virus, éstos disminuyen al pasar el tiempo [5,9,15,23].

Si consideramos que, en los años en que éstos niños fueron vacunados (1990-1995) la Secretaría de Salud reportó una cobertura de vacunación superior al 90 %, la inmunización falla en más del 5 % de los casos. La premisa anterior puede atribuirse al fracaso primario de la vacuna (fracaso en seroconversión), que puede deberse entre otros factores a la aplicación incorrecta de la vacuna, fallas en el mantenimiento de la cadena fría durante su transporte o a la edad de inmunización de los niños [28].

En el estudio realizado en México entre 1987 y 1990, se encontró una prevalencia de anticuerpos contra sarampión del 69 % en niños de entre los 12-24 meses de edad y del 84 % en el intervalo entre los 48 a los 59 meses. Estos resultados concuerdan con los que nosotros encontramos, sobre todo si consideramos que en la población estudiada la cobertura de vacunación fue mayor comparada con los niños que participan en este estudio. En éste estudio también se estableció que la oportunidad de estar protegido contra el sarampión aumentó al incrementarse la edad de los niños [35].

En el caso de la rubéola se encontró una tendencia similar. La única diferencia fue durante el primer y el segundo año de vida, edad en la cuál los niños prácticamente no presentaron inmunidad contra el virus de la rubéola (11 y 15 %, respectivamente). Al tercer año de edad se observó el máximo de seropositividad para rubéola (80 %) después de lo cuál presentó una pequeña disminución. En estos casos la inmunidad contra el virus seguramente fue adquirida naturalmente; ya que a éstos niños no se les administró una vacuna contra rubéola, al

considerarse únicamente el esquema de vacuna monovalente (S) contra el sarampión [31].

En cuanto al título de anticuerpos IgG para sarampión en el estudio realizado por Gans y colaboradores en niños de 6, 9 y 12 meses de edad se observó que éste fue proporcional a la edad de vacunación, lo cual coincidió con la madurez del sistema inmune [10].

Al determinar los índices de IgG para sarampión en los adolescentes revacunados, todos los individuos seroconvirtieron y en la mayoría de ellos los niveles de anticuerpos fueron intermedios (1.5-2.5). Estos resultados sugieren que estos sujetos ya habían estado expuestos al virus silvestre o a la cepa vacunal y que quizás la revacunación activó a la respuesta inmune de memoria, sin embargo, el que los niveles de anticuerpos solo hayan alcanzado el nivel de intermedio cuestiona si esta preexposición existía.

El hecho de que todos los sujetos vacunados generen una respuesta contra el virus se relaciona con la eficacia de la vacuna para generar una respuesta inmune a corto plazo, ya que como se ha reportado, después de la administración de la vacuna se alcanzan títulos altos de anticuerpos a partir de la tercera semana post-vacunación, los cuales alcanzan un nivel máximo y posteriormente comienza a disminuir el índice de anticuerpos sin alcanzar títulos negativos [18, 41].

En un estudio realizado en México, en adultos revacunados se encontró un incremento importante del título de anticuerpos (mucho mayor a 1:120) después de la segunda semana post-vacunación [41].

Finalmente, en las pruebas realizadas para determinar la presencia de isótopos IgG1 e IgG4 en sueros pre y post-vacunación, no se encontraron diferencias

importantes entre ambas poblaciones, aunque si se observó un pequeño incremento de estos isotipos en los individuos post-vacunados.

La presencia de la IgG1 indicó protección a corto plazo contra el virus y la IgG4 se relacionó con la respuesta de memoria. El encontrar un título mayor de IgG1 que de IgG4 puede deberse a las concentraciones de éstos en el suero, ya que la IgG1 corresponde al 70 % de IgG serica total y la IgG4 corresponde a <10 % [17,2].

La presencia de éstos serotipos en los individuos seronegativos se debe, probablemente, a que éstos han estado expuestos al virus y por lo tanto presentan una respuesta humoral sin tener títulos positivos en el momento de la determinación, ya que en la mayoría de las pruebas realizadas en éstos individuos el valor obtenido en el ensayo fue de 0.1 a 0.69.

En diferentes trabajos ya se ha determinado la presencia de isotipos de IgG contra sarampión después de la vacunación y de la infección natural. En estos se observó que tres semanas después de estar en contacto con el virus, los isotipos predominantes son IgG1 e IgG3 y a través del tiempo el nivel de anticuerpos IgG1 disminuye paulatinamente, mientras que el de IgG3 disminuye drásticamente [12,18].

En el artículo publicado por Isa y cols se sugirió el uso del nivel de IgG4 para diferenciar la inmunidad a largo plazo adquirida naturalmente (infección) de la adquirida por vacunación; en el primer caso la prevalencia de estos anticuerpos fue del 86%, mientras que, para los sujetos vacunados se presentó en alrededor del 6 % de los casos [12]. Debido a que nosotros no contamos con la información documentada sobre si los sujetos participantes en este estudio estuvieron expuestos al virus silvestre, asumimos que lo más probable es que la inmunidad sea debida a la vacunación y a la exposición al virus.

A pesar de que en este estudio el 24 % de los sujetos fueron seronegativos para sarampión, nosotros no recomendamos la aplicación de un tercer refuerzo de la vacuna como medida general para prevenir la enfermedad, ya que el beneficio obtenido no compensa el costo de vacunar a toda la población adolescente, sobre todo si consideramos que la mayoría de ésta población al ser expuesta nuevamente al virus no va a desarrollar síntomas clínicos de la enfermedad.

CONCLUSIONES

- La seroprevalencia para Sarampión fue menor comparada con Rubéola en adolescentes y adultos jóvenes.
- En las mujeres la seroprevalencia para rubéola fue significativamente mayor.
- La menor seroprevalencia para Sarampión y Rubéola fue en el grupo de 14-15 años. Un tercio de la población estudiada fue seronegativa para sarampión.
- En la población infantil la seroprevalencia encontrada fue similar a los patrones reportados previamente.

BIBLIOGRAFIA

1. Bellanti J, Zeligs B, Mendez-Inocencio J, García L, *et al.* Immunologic studies of specific mucosal and systemic immune responses in Mexican school children after booster aerosol of subcutaneous immunization with measles vaccine. *Vaccine* 2004;22:1214-1220.
2. Benjamini E, Leskowitz S. *Immunology: a short course*. 2a edición. Wiley-Liss. USA, 1994. Pág. 70-72
3. Castillo-Solórzano C, Cuadros C. Control acelerado de la rubéola y prevención del síndrome de rubéola congénita en las Américas. *Rev Pan Salud Pub* 2002;11(4):273-276.
4. Chiba M, Saito M, Nobuaki S, Honda Y, *et al.* Measles infection in pregnancy. *J Infect* 2003;47:40-44.
5. Christenson B, Bottiger M. Measles antibody: comparison of long-term vaccination titres, early vaccination titres and naturally acquired immunity to and booster effects on the measles virus. *Vaccine* 1994;12(2):129-133.
6. Davidkin I, Peltola H, Leinikki P, Valle M. Duration of rubella immunity induced by two-dose measles, mumps and rubella (MMR) vaccination. A 15-year follow-up in Finland. *Vaccine* 2000;18:3106-3112.
7. Dine MS, Hutchins SS, Thomas A, Williams I, *et al.* Persistence of vaccine-induced antibody to measles 26-33 years after vaccination. *J Infect Dis* 2004;189 Suppl 1:123-130.
8. Estadística de sarampión. Sector Salud en Costa Rica. En: www.netsalud.sa.cr/ms/estdaist/enferme/saramp.htm
9. Fajardo A, Yáñez LB, López M, Yamamoto L. Susceptibilidad a sarampión en la población adolescente del Distrito Federal. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México* 1990;47(9):636-644.
10. Gans H, De Hovitz R, Forghani B, Beeler J. Measles and mumps vaccination as a model to investigate the developing immune system: passive and active immunity during the first year of life. *Vaccine* 2003;21:3398-3405.

11. Hersh B, Tambini G, Nogueira A, Carrasco P, *et al.* Review of regional measles surveillance data in the Americas, 1996-99. *Lancet* 2000;355:1943-48.
12. Isa M, Martínez L, Giordano M, Passeggi C, *et al.* Comparison of Immunoglobulin G Subclass Profiles Induced by Measles Virus en Vaccinated and Naturally Infected Individuals. *Clin Diag Lab Inmun* 2002;9(3):693-697.
13. Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and Practice of Infection Diseases. Tomo 2. 4a edición. Churchill Livingstone. USA, 1995. Pág. 1459-1463, 1519-1524.
14. Measles: mortality reduction and Regional Elimination. Strategic Plan 2001-2005. en: www.who.int/vaccines-documents/, and www.unicef.org
15. Miller C. Live measles vaccine: a 21 year follow up. *Brit Med J* 1987;295(6589):22-24.
16. Moreno J. Respuesta Inmune y Mecanismos de Autoinmunidad. Editorial Limusa. México, 1996. Pág. 23-25.
17. Moss W, Ota M, Griffin D. Measles: immune supression and immune responses. *Intern J Biochem Cell Biol* 2004;36:1380-1385.
18. Mubarak HS, Ibrahim SA, Vos HW, Mukhtar MM, *et al.* Measles Virus Protein-Specific IgM, IgA, and IgG Subclase Responses during the Acute Convalescent Phase of Infection. *J Med Virol* 2004;72:290-298.
19. Neumann PW, Weber JM, Jessamine AG, O'Shaughnessy MV. Comparasion of Measles Antihemolysin Test, Enzyme-Linked immunoabsorbent Assay, and hemagglutination inhibition Test with Neutralization Test for Determination of Immune Status. *J Clin Microb* 1985;22(2):296-298.
20. Norma Oficial Mexicana: NOM-036-SSA2-2002. Prevención y control de enfermedades. Aplicación de vacunas, toxoides, sueros, antitoxinas e inmunoglobulinas en el humano. Diario Oficial de la Federación, 2003. Tomo DXCVIII, No. 13.
21. Ovsyannikova I, Jacobson R, Vierkant R, Pankratz VS, *et al.* Associations between human leukocyte antigen (HLA) alleles and very high levels of measles antibody following vaccination. *Vaccine* 2004;22:1914-1920.

22. Ovsyannikova I, Reid K, Jacobson R, Oberg AL, *et al.* Citokine production patterns and antibody response to measles vaccine. *Vaccine* 2003;21:3946-3953.
23. Pannuti C, Morillo L, Casio J, Pires S, *et al.* Identification of Primary and Secondary Measles Vaccine Failures by Measurement of Immunoglobulin G Avidity in Measles Cases during the 1997 Sao Paulo Epidemic. *Clin Diagn Lab Immun* 2004;11(1):119-122.
24. Paunio M, Hedman K, Davidkin I, Peltola H. IgG avidity to distinguish secondary from primary measles vaccination failures: prospects for a more effective global measles elimination strategy. *Exp Opin Pharmacother* 2003;4(8):1-11.
25. Paunio M, Hedman K, Valle M, Heinonen O, *et al.* Secondary measles vaccine failures identified by measurement of IgG avidity: high occurrence among teenagers vaccinated of young age. *Epidemiology and Immunology* 2000. 124:263-271.
26. Prevención y vigilancia epidemiológica del sarampión en México. Instituto de Salud del Estado de México. En: www.salud.edomexico.gob.mx/html/progepid/sarampion
27. Programa de actualización de Vacunas. Asociación Española de Pediatría. www.aeped.es/vacunas/pav/modulo2/Modulo2_6.htm
28. Putz M, Bouche F, Swart R, Muller C. Experimental vaccines against measles in a world of changing epidemiology. *Intern J Parasit* 2003;33:525-545.
29. Ringler M, Göbel G, Möst J, Weithaler J. Fully vaccinated children are rare: immunization coverage and seroprevalence in Austrian school children. *Eur J Epidemiol* 2003;18:161-170.
30. Roodbari F, Roustai M, Mostafaie A, Soleimanjdahi H, *et al.* Development of an Enzyme-Linked Immunoabsorbent assay for Immunoglobulin M Antibodies against Measles Virus. *Clin Diagn Lab Immun* 2003;10(3):439-442.
31. Santos JI. El Programa Nacional de Vacunación: orgullo de México. *Rev Fac Med* 2002;45(3):142-153
32. Santos JI, Nakamura MA, Godoy MV, Kuri P, *et al.* Measles in Mexico, 1941-2001: Interruption of Endemic Transmission and Lessons Learned. *J Infect Dis* 2004;189(Suppl 1):s243-s251.

33. Sarampión. Organización Mundial de la Salud. En: www.who.int/topics/measles
Vigilancia de vacunas. Organización Mundial de la Salud. En:
www.who.int/vaccines-surveillance/graphics.htm
34. Sarampión. Organización Panamericana de Salud. En: www.paho.org
35. Sepúlveda J, Tapia-Conyer R, Valdespino JL, Quiroz G, *et al.* Seroepidemiología del sarampión en México. *Salud Pública de Mex* 1992;34(2):148-156.
36. Shekarchi IC, Sever JL, Nerurkar L, Fuccillo D. Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with Enzyme-Linked Fluorescence Assay with Automated Readers for Detection of Rubella Virus Antibody and Herpes Simplex Virus. *J Clin Microbiol* 1985;21(1):92-96.
37. State of the World's Vaccines and Immunization. WHO. Suiza, 2003.
38. Villasís-Keever M, Peña L, Miranda-Novales G, Alvarez T, *et al.* Prevalence of Serological Markers against Measles, Rubella, Varicella, Hepatitis B, Hepatitis C, and Immunodeficiency Virus among Medical Residents in Mexico. *Preventive Medicine* 2001;32:424-428.
39. Virtanen M, Peltola H, Paunio M, Heinonen OP. Day-to-Day Reactogenicity and the Healthy Vaccine Effect of Measles-Mumps-Rubella Vaccination. *Pediatrics* 2000;106(5):1-6.
40. Wolfgang KJ, HP Willet, DB Amos. *Zinsser Microbiología*. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina, 1998. Pág. 789-794.
41. Wong-Chew RM, Beeler J, Audet S, Santos JI. Cellular and Humoral Immune Responses to Measles Immune Adults Re-immunized with Measles Vaccine. *J Med Virol* 2003;70:276-280.