



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

RUBEOLA: INVESTIGACIONES DE ANTICUERPOS  
EN MUJERES MEXICANAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
MARIA DEL CARMEN BASUALDO SIGALES

MEXICO, D. F.

1973



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.

LAS 1555  
ADE 1933 N. 31.  
FECNA \_\_\_\_\_  
PROG. \_\_\_\_\_  
\* \_\_\_\_\_



QUÍMICA

PRESIDENTE	Profra. Q.F.B. MAGDALENA ACOSTA SEGURA
VOCAL	Profra. Q.F.B. ERNESTINA BALLESTEROS R.
SECRETARIO	Profra. Q.F.B. SOCORRO CAO ROMERO MTZ.
1er.SUPLENTE	Profra. Q.F.B. CARMEN REYNA BORDES
2o.SUPLENTE	Profra. Q.F.B. DEA CORONADO PERDOMO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

C.H. 20 DE NOVIEMBRE. I.S.S.S.T.E.

NOMBRE DEL SUSTENTANTE:

MA. DEL CARMEN BASUALDO SIGALES

NOMBRE DEL ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. MAGDALENA ACOSTA SEGURA.

NOMBRE DEL SUPERVISOR TECNICO:

DR. ENRIQUE CIFUENTES CORTES.

A MIS PADRES

Con Profundo cariño y gratitud.

En testimonio de agradecimiento....

A la maestra Q.F.B. Magdalena Acosta Segura  
por su interés y apoyo demostrado durante  
la elaboración de este trabajo.

AL Dr. Enrique Cifuentes Cortés  
quien me brindó en todo momento  
sus profundos conocimientos y -  
su entusiasmo sincero.

A todas aquellas personas que  
de alguna manera contribuye-  
ron para hacer posible este -  
trabajo.

# INDICE

	Pág.
INTRODUCCION	1
CAPITULO I GENERALIDADES	2
A.DATOS HISTORICOS	2
B.MORFOLOGIA Y CARACTERISTICAS	4
Clasificación	4
Tamaño	5
Forma	5
Componentes	6
Efecto de la Temperatura	6
Efecto del pH	7
Efecto de los agentes químicos	7
Sedimentación	8
C.MANIFESTACIONES CLINICAS	8
Infección posnatal	8
Importancia de la infección <u>intra</u> uterina	9
D.RESPUESTA INMUNOLOGICA	14
A la infección natural	
a la vacunación	14
E.CONSTITUCION ANTIGENICA	21
F.TECNICAS SEROLOGICAS PARA LA INVESTIGACION DE ANTICUERPOS	22
Seroneutralización	22
Fijación del Complemento	23
Técnica de detección de anti cuerpos por Fluorescencia	25

Inhibición de la Hemaglutinación	26
Datos comparativos de los métodos descritos	30
CAPITULO II EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL	32
A.EPIDEMIOLOGIA	32
B.CONTROL	36
Cepa HPV-77	37
Cepa Cedehill	40
CAPITULO III MATERIAL Y METODOS	44
1.REACTIVOS	44
2.LAVADO DE LAS PLACAS	46
3.MATERIAL BIOLÓGICO	47
4.METODOLOGIA	48
CAPITULO IV RESULTADOS	55
CAPITULO V DISCUSION Y CONCLUSIONES	63
1.DISCUSION	63
2.CONCLUSIONES	65
BIBLIOGRAFIA	66



## INDICE DE TABLAS Y GRAFICAS

	Pág.
TABLA 1 Afinidades del virus de rubéola con otros arbovirus.	4
TABLA 2 Pérdida de la infectividad del virus en relación a la temperatura en suero al 2%	6
TABLA 3 Niveles de IgM e IgG en los primeros días de la convalecencia determinados por FC e IHA	15
TABLA 4 Títulos de infectividad de virus de rubéola en tejidos fetales.	19
TABLA 5 Efecto de la temperatura y las diferentes clases de globulos rojos sobre la hemaglutinación del virus de rubéola.	28
TABLA 6 Comparación de los porcentajes de susceptibilidad en diversos paises.	35
TABLA 7 Tabla porcentual de casos en relación a la edad y al sexo.	34
TABLA 8 Pruebas de laboratorio que comparan una cepa virulenta y una atenuada de virus de rubéola.	38
TABLA 9 Recuperación de virus de rubéola en monas inoculadas.	39
TABLA 10 Pruebas de laboratorio que comparan una cepa virulenta y la cepa Cendehill.	41
TABLA 11 Seroconversión después de la vacunación.	41
TABLA 12 Frecuencia de excreción vital por nasofaringe después de la vacunación.	42

TABLA 14	Agrupamiento de datos por edades.	55
TABLA 15	Datos de susceptibilidad y protección obtenidos en el presente trabajo comparados con los datos obtenidos en 1968 y 1969 por los Drs. Gutiérrez y Ordoñez.	59
GRAFICA 1	Manifestaciones clínicas de rubéola congénita observados en 344 infantes, correlacionados con el tiempo de infección materna por rubéola.	13
GRAFICA 2	Secuencia de inmunoglobulinas de Rubéola determinadas por gradiente de sacarosa en 2 pacientes representativos	16
GRAFICA 3	Secuencia esquemática de la excreción de virus y respuesta antigénica en rubéola.	17
GRAFICA 4	Distribución de los antígenos de rubéola en gradientes de densidad de sacarosa.	24
GRAFICA 5	Curva epidemiológica en el Este de EE. UU. entre 1963 y 1968.	33
GRAFICA 6	Gráfica porcentual de protección según la edad. (1972-1973)	57
GRAFICA 7	Comparación de los porcentajes de protección obtenidos en este trabajo con los obtenidos por la Dra. Ordoñez.	60
GRAFICA 8	Comparación de los porcentajes de protección en diversas ciudades del mundo.	61

ESQUEMA 1	Titulación del antígeno hemaglutinante	50
ESQUEMA 2	Titulación de anticuerpos por IHA	53

## INTRODUCCION

La historia de la rubéola ha sido corta y no por esto menos dramática. A solo diez años de la identificación del agente etiológico se cuentan por miles los niños con problemas congénitos a consecuencia de una infección intrauterina por virus de la rubéola.

Tomando en cuenta que la epidemiología de la enfermedad se ve influida por numerosos factores naturales, es de importancia fundamental, establecer constantemente cuales son los niveles de susceptibilidad entre la población, a fin de tomar las medidas pertinentes de control.

En 1969, la Dra. Blanca R. Ordoñez (48) realizó la primera encuesta sero-epidemiológica en la Cd. de México, obteniendo un porcentaje de protección del 96.3 en la población femenina adulta.

A casi cuatro años, cabe esperar un aumento en el promedio por ciento de susceptibles, dado a que no se tienen noticias de un brote epidémico, y el ciclo de la enfermedad es de 6 a 9 años.

El presente trabajo tiene por objeto establecer los niveles actuales de susceptibilidad en la población femenina mexicana en etapa sexual activa, y sobre todo hacer patente el grave riesgo que representa la infección en aquellas mujeres que por su profesión - médicos, enfermeras, educadoras - están expuestas de continuo a adquirirla durante el embarazo.

I GENERALIDADES

## A. DATOS HISTORICOS:

La enfermedad que ahora conocemos como rubéola, fue descrita por primera vez por dos médicos alemanes, De Bergen en 1752 y Ortow en 1758. Más tarde, en 1815, William Maton, Médico Inglés del colegio de médicos de Londres, se refirió más ampliamente a ella.

En 1866, Henry Veale otro médico inglés, describió un brote de rubéola en una residencia de población escolar y decidió llamarla rubéola, por ser éste, un nombre más corto y fácil de pronunciar que el "Rotheln" derivado del alemán, como originalmente la llamaron.

En 1877, Lewis Smith, profesor de enfermedades de niños, describió las diferencias con otras enfermedades exantemáticas.

Durante todos estos años se creyó que la enfermedad era un padecimiento leve, sin complicaciones serias, y de pocas o nulas consecuencias, sin embargo en 1941, el oftalmólogo Norman Gregg (23) relacionó una serie de anomalías congénitas con la rubéola materna.

Otros investigadores pronto confirmaron estas observaciones e informaron de varios casos de muerte, microcefalia, retardo mental, catarata congénita, enfermedades cardíacas y bajo peso al nacer, relacionándolos todos con el síndrome de rubéola materna, en el primer trimestre del embarazo, pero estas ideas no se espar-

cieron por el mundo sino varios años después.

Para entonces el diagnóstico de laboratorio se hacía cada vez más urgente.

En 1938, Hiro y Tosaka, sugirieron una etiología viral apoyada después por Haber (1942), Anderson (1949) y Krugman (1953). Sin embargo fue en 1962 cuando Parkman, Buescher y Artenstein (53) por un lado y Weller y Neva (72) por otro, lograron aislar el virus de la rubéola.

El virus no pudo aislarse antes porque no es patógeno a los animales de laboratorio y el efecto citopatogénico en las células hasta entonces usadas, era incompleto e inconstante.

Para poner el virus en evidencia, Buescher y col. utilizaron cultivos celulares de riñón de mono verde africano, en vez de los cultivos tradicionales de mono rhesus, y a partir del exudado faringeo de soldados jóvenes con signos de rubéola, descubrieron un agente patógeno, usando el método de interferencia in vitro.

La presencia de virus en las células inoculadas, se comprobó por el hecho de que la reinoculación con el virus ECHO - tipo 11, que siempre produce efecto citopatogénico característico, en las células previamente inoculadas, no mostraron degeneración, en tanto que las células sin inocular previamente, degeneraron de manera típica. La efectividad del agente interferente, se logró reconocer además por pruebas de neutralización con suero de convalecientes.

En Boston, Weller y Neva, lograron el mismo efecto partiendo de sangre y orina de 4 sujetos enfermos. Usaron células amnióticas y el virus Sindbis como revelador de la interferencia.

## B. MORFOLOGIA Y CARACTERISTICAS DEL AGENTE INFECCIOSO.

### Clasificación:

Desde 1964 en que Parkman y col. empezaron a estudiar las características del virus de rubéola, hay controversias entre los diferentes autores respecto a si es un Mixovirus o un Arbovirus. (29) (21).

Holmes y col. realizaron un estudio completo comparando las características de varios arbovirus con el virus de la rubéola, obteniendo datos que lo asemejan a este grupo de virus (Tabla 1).

TABLA 1

### AFINIDADES DEL VIRUS DE RUBEDOLA CON OTROS ARBOVIRUS (29)

Tipo de virus	Sensibilidad al eter o al desoxicolato	Tamaño nanometros	pH ideal para HA	Tipo de ácido nucleico
Rubéola	positivo	60	6.2	RNA
Del Bosque de Semliki	positivo	45	6.4	RNA
Encefalitis Japonesa B	positivo	40	6.6	RNA
Bunyamwera	positivo	65	6.0	?

Por otro lado Phillips lo describe como un Mixovirus basándose en sus tipos antigénicos, tamaño y otras características físicas.

En la actualidad el virus de la rubéola no está clasificado ni como Mixovirus, ni como Arbovirus, sino en un nuevo grupo llamado Togavirus, en tanto que se logran esclarecer definitivamente sus características.

#### Tamaño:

Se ha determinado por filtración en millipore, probando diferentes diámetros de poro y neutralizando la infectividad del filtrado obtenido.

En 1956, Holmes y Wark (28) tras concienzudos estudios al microscopio electrónico, concluyeron que existen 2 tipos diferentes de partículas. Los estudios subsiguientes parecen confirmarlo, y así en 1967 McCarthy y col (45) obtuvieron resultados variables pero concluyeron que el diámetro de la partícula estaba entre 71 y 100 nm. debido a que las partículas eran incapaces de pasar por los poros de 71 nm.

Sin embargo al microscopio electrónico se observan partículas esféricas con diámetro de 50 a 85 nm. (49).

#### Forma:

Al microscopio electrónico al virus de rubéola se presenta como una partícula formada por una parte central de filamentos helicoidales, más o menos redonda,



de unos 40 nm. de diámetro, rodeada de una envoltura amorfa recubierta con espículas de 10 a 12 nm.

Después de la fijación con ácido ósmico se observa una cierta retracción. El tipo de simetría aún no se ha determinado de un modo cierto.

### Componentes:

El virión está formado por ácido ribonucleico y una envoltura lipode o lipídica. Si se tratan las preparaciones purificadas de virus con 5-fluorodesoxiuridina y 5 bromodesoxiuridina, que son inhibidores de la síntesis de DNA, el virus no es afectado. Si se trata con actinomicina D, que es inhibidor específico de la síntesis de RNA se destruye por completo la capacidad de replicación del virus.

### Efecto de la temperatura:

La tabla 2 muestra la pérdida de la infectividad del virus en relación a la temperatura:

TABLA 2  
PERDIDA DE LA INFECTIVIDAD DEL VIRUS EN RELACION A LA TEMPERATURA EN SUERO AL 2% (17)

Temperatura en °C	Tiempo	Pérdida en %
37	3 hrs	90
37	1 hr	50
56	30 min	100
70	4 min	100
100	2 min	100

Entre -10 y -20 °C, la infectividad se pierde rápidamente, en tanto que -60°C prácticamente los títulos se mantienen indefinidamente.

El virus resiste la liofilización usando albúmina o gelatina como estabilizador.

#### Efecto del pH:

La infectividad permanece inalterada a pH de 6.8 a 8.1, pero a un pH de 5.9 hay una rápida pérdida de la infectividad.

#### Efecto de los agentes químicos:

El virus de la rubéola, debido a su capa superficial de lípidos, es sensible al éter, acetona, cloroformo y desoxicolato de sodio en solución al 0.1%, perdiendo la infectividad en 10 min. También es atacado por los detergentes y jabones. Es inactivado por el cloruro de cesio en solución saturada y por el alcohol de 70°C así como por el cloro libre.

A 37°C se inactiva muy rápidamente por la formalina a una concentración de 1:4000 y por el óxido de etileno. El formol destruye el poder antigénico.

La beta-propiolactona en concentraciones de 0.025% aunada a radiación U.V. por 1 hr. a 4°C inactiva la infectividad del virus pero mantiene su antigenicidad.

Resiste la acción del fluorocarbono sin reducción aparente de la infectividad y de el timerosal, así como la del bisulfito de sodio.

La l-adamantanamina inhibe el crecimiento del virus en cultivos in vitro, interviniendo en la regulación de la síntesis viral.

Sedimentación:

Un 90% del virus sedimenta en 30 min. a 19,000 y 24,000 rpm. Russell y col. (60) calcularon un coeficiente de sedimentación de 342 S.

Thomssen y col. (67) calcularon 240 S usando como dato de densidad 1.20 g/ml. Cusumano (12) calculó una densidad de flotación de 1.075 g/ml en gradiente de sacarosa, y Russell (60) calculó 1.085 g/ml en gradiente de cloruro de cesio.

## C. MANIFESTACIONES CLINICAS.

Infección posnatal:

La enfermedad puede tener manifestaciones inaparentes o presentarse con erupción y linfadenopatía característica.

La infección ocurre por vía respiratoria y el período entre la exposición y la aparición del exantema es de 12 a 23 días.

Se sabe que el virus se forma en el citoplasma de la célula infectada y que la multiplicación viral se asocia con una síntesis rápida de RNA y fosfolípidos (6).

En estudios recientes al microscopio electrónico se ha observado que la réplica puede seguir dos caminos:

- 1) Las partículas pueden brotar dentro de las vesículas del aparato de Golgi, o
- 2) Pueden brotar directamente de la membrana celular marginal.

Sin embargo se sabe que no hay acúmulo de nucleótidos en el citoplasma pero se forman en el sitio del

brote (70). El virus no se acumula en la célula, y generalmente se libera por la separación de fragmentos citoplásmicos antes de la desintegración total de la célula (6).

La diseminación del virus en el organismo coincide con la generalización del eritema, el cual dura de 2 a 4 días.

La linfadenopatía aparece una semana después de la erupción. La fiebre puede llegar a 40°C.

Los cambios hematológicos son poco útiles en el diagnóstico, por que no son constantes en todos los casos. Se ha descrito plasmocitosis ligera y leucopenia.

El período de infectividad de la rubéola se relaciona con la presencia del virus en la nasofaringe y en la sangre. El virus generalmente desaparece del torrente circulatorio dentro de las 24 hrs. siguientes a la erupción. El virus está presente en la nasofaringe y permanece ahí hasta 14 días después de la misma (22), período en el cual el enfermo es fuente de contagio.

La infección subclínica también se acompaña de viremia y hay evidencias de presencia del virus en nasofaringe en esta modalidad clínica.

En términos generales puede decirse que la rubéola no es una enfermedad grave en la niñez y aún en la vida adulta, a no ser que esté relacionada con el embarazo.

#### Importancia de la infección intrauterina:

En 1964, en E.E.U.U. se demostró que el 17% de las mujeres en edad de tener hijos, no poseían anticuerpos, por lo cual la epidemia no se dejó esperar. En dos años resultaron afectados entre 30 y 40 mil niños, -

cuyas madres contrajeron la infección durante el embarazo. (7). Un elevado porcentaje de ellos tienen malformaciones aparentes y problemas de comunicación, por lo cual requieren servicios médicos y educativos especiales. Se considera que el 30% de los niños sufren problemas muy severos. (7). Todo esto sin contar los casos de aborto y muerte en las primeras semanas de la vida.

En 1969, se informó que el porcentaje de malformaciones por la enfermedad en las primeras cuatro semanas del embarazo, era de un 50 a 60%, de la 4a. a la doceava, de un 20 a 30% disminuyendo en el 4o. mes a 4 ó 5%. Sin embargo, se ha demostrado que el virus de la rubéola, causa defectos de mayor o menor importancia hasta en 90% de los niños nacidos de mujeres que padecieron rubéola, durante el primer trimestre del embarazo; de 15 a 20% de los niños nacidos de mujeres que padecieron la enfermedad en el segundo trimestre, también nacen con daños, pero es muy frecuente que los problemas se demuestren con el tiempo.

En rubéola, el efecto teratogénico específico, depende de la edad de gestación en el momento de la infección. Esto es de esperarse si se toma en cuenta que los niveles de IgM e IgG de origen fetal, a las 20 semanas de gestación son aproximadamente el 10% de los niveles de un adulto normal. Durante esta etapa de formación, los mecanismos humoral y placentario son insuficientes por lo que los daños causados en el feto, por la viremia materna, son mucho más graves.

La organogénesis, ocurre entre la segunda y la sexta semanas de gestación, por lo que la infección en este período, es especialmente peligroso para los ojos y el corazón.

La infección del producto puede presentarse -

con defectos únicos, malformaciones múltiples e incluso infección activa.

La más común de las manifestaciones neonatales de la rubéola congénita, es la púrpura trombocitopénica, la cual se presenta con una disminución hasta de 10,000 plaquetas por  $\text{mm}^3$  con relación a los límites normales más bajos.

La púrpura trombocitopénica neonatal, está generalmente asociada con otras lesiones importantes, como hepatoesplenomegalia, hepatitis, anemia hemolítica y otros signos peligrosos, como el retardo mental (con o sin microcefalia), la catarata congénita y las manifestaciones cardíacas.

La anemia hemolítica, se presenta caracterizada por normoblastemia, reticulocitosis y anormalidades de las células rojas en su morfología (11).

Otras de las manifestaciones comunes de la rubéola congénita, es la hepatoesplenomegalia, que normalmente desaparece en los primeros meses de la vida, sin embargo, en 1952 Watson (71) describe dos casos en los cuales se detectó hepatoesplenomegalia, consecuente de rubéola congénita, después de 8 y 9 años de vida.

La infección intrauterina por virus de la rubéola, casi siempre cursa con retardo en el crecimiento, así como problemas, moderados o severos, relacionados con una elevación de los niveles de proteínas en líquido cefalorraquídeo, acompañada o no de pleocitosis.

También son frecuentes los defectos cardiovasculares, los cuales pueden pasar inadvertidos los primeros días después del nacimiento. De ellos los más comunes son las malformaciones de la arteria aorta, estenosis aórtica y defectos en el tabique ventricular. Es relativamente común, la muerte a los 6 meses de edad, por

inficiencia cardíaca.

Por otro lado la sordera, causada por infección intrauterina del virus de la rubéola, es permanente y se sabe que se presentan severos cambios degenerativos en el órgano de Corti, con sordera total o marcada hiposensibilidad auditiva. No se han hecho estudios muy profundos al respecto.

Entre las más importantes anormalidades oculares, asociadas con la rubéola congénita se cuentan: Glaucoma congénito, microftalmía, catarata congénita y retinopatía, las cuales pueden no estar presentes en el momento del nacimiento y desarrollarse en los primeros meses de la vida.

Frecuentemente, la diseminación de la infección in utero, alcanza el sistema nervioso central del producto. Desmond y col. (11) describieron el curso clínico de la encefalitis por virus de rubéola, distinguiendo 3 patrones generales de sintomatología:

El primero y más común está caracterizado por retraso motor y períodos de letargo seguidos de irritabilidad.

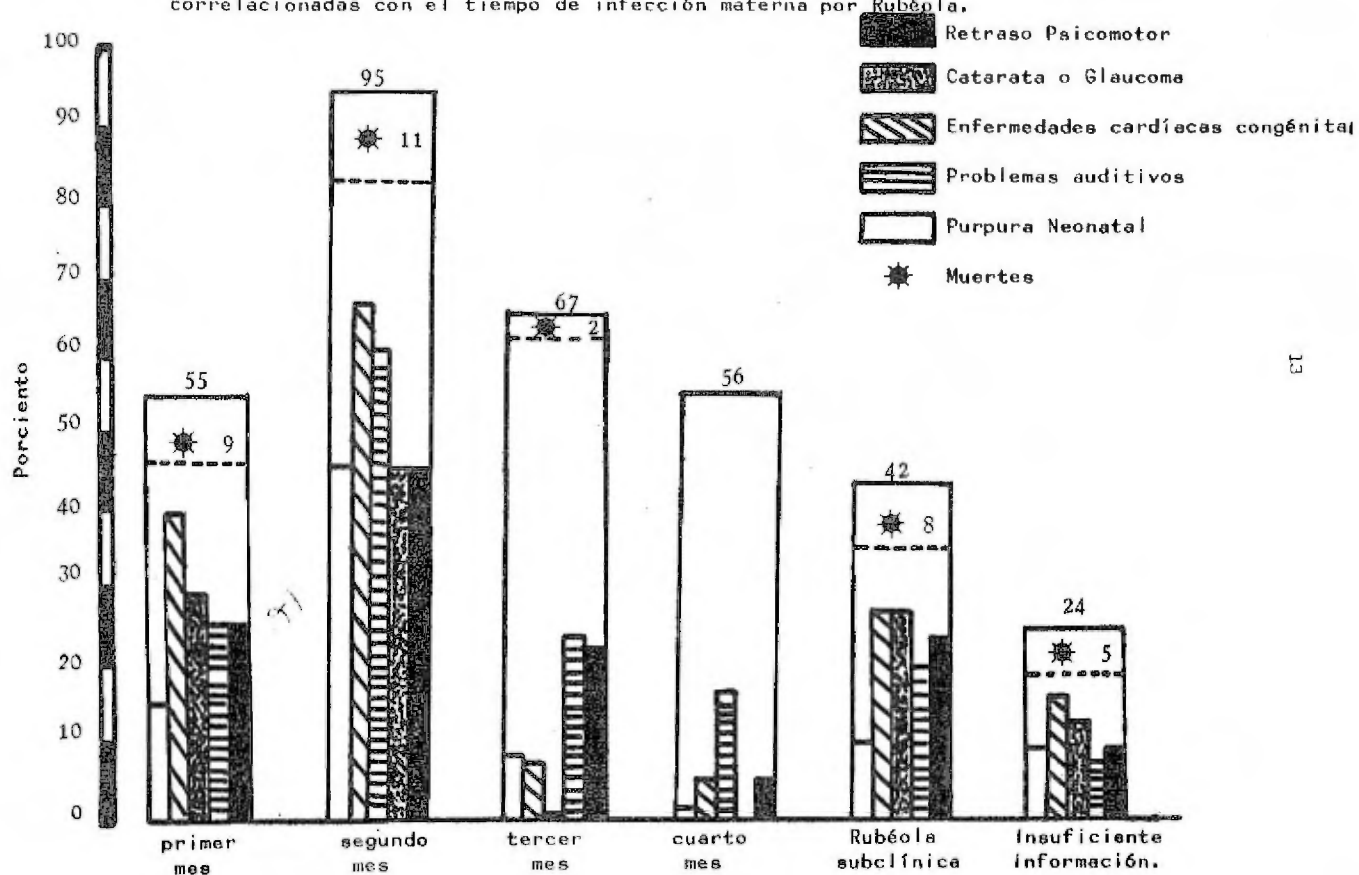
El tipo 2, caracterizado por baja actividad motora, irritabilidad hiperactividad e hipertonicidad.

En el tercero, es frecuente que se presenten anormalidades neurológicas seguidas por convulsiones.

El Dr. Desmond, comprobó que los niños sobrevivientes a estos trastornos, presentan retraso psicomotor y frecuentemente retardo mental. En general, los niños con rubéola congénita, muestran desventajas en su desarrollo físico y mental, en comparación con los niños normales.

GRAFICA 1

Manifestaciones clínicas de rubéola congénita observadas en 344 infantes correlacionadas con el tiempo de infección materna por Rubéola.





Es interesante comprobar estadísticamente, la relación existente, entre el momento de la infección materna y los trastornos que presentan el recién nacido. - (Gráfica 1) anexada anteriormente.

#### D. RESPUESTA INMUNOLOGICA.

##### A la infección natural:

La duración de la infección por virus de la rubéola, adquirida después del nacimiento está limitada a 2 ó 3 semanas, por los mecanismos de defensa del huésped.

El sistema inmunológico, a nivel celular y a nivel humoral, entra en acción desde el momento en que el virus empieza a multiplicarse en nasofaringe, y se disemina por el torrente circulatorio 7 días antes de la aparición del exantema. (30).

La primera respuesta de inmunoglobulinas, después del estímulo antigénico, consta de globulinas de alto peso molecular (IgM) (19S); las cuales se elevan rápidamente, pero caen al tiempo que las inmunoglobulinas de bajo peso molecular (IgG e IgA), empiezan a elevarse.

Después de 30 días del inicio de la enfermedad, ya no se detectan IgM específicas de rubéola, según lo demuestran estudios de Best y Benatvala (5), usando el fraccionamiento del suero de convalecientes en gradientes de sacarosa.

Por la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (IHA), se detectan IgM e IgG, por lo cual 3 ó 4 días después del inicio de la erupción, ya pueden apreciarse niveles superiores de títulos 1:8 y 8 días después, los títulos estarán entre 1.32 y 1.64.

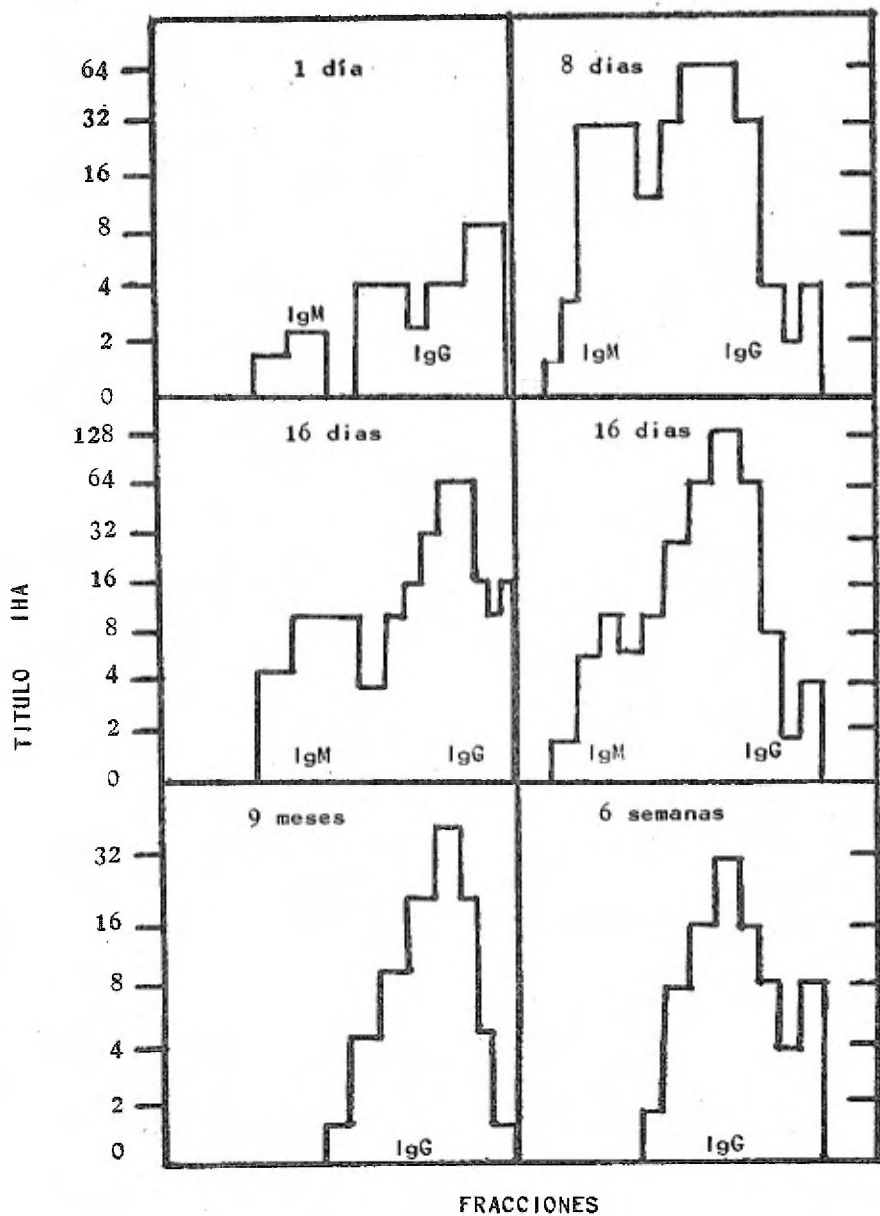
T A B L A 3

Niveles de IgM e IgG en los primeros días de la convalecencia determinados por IHA y por FC  
( Lancet, July 12, 1969 )

Paciente No.	Días después del inicio de la enfermedad	Concentración total		Presencia de inmunoglobulinas específicas de Rubéola			
		mg/ml	Mg/ml	IHA		F C	
		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
5	9	9.6	2.60	+	+	+	-
6	14	6.2	1.32	+	+	+	-
7	14	11.0	0.70	+	+	+	-
8	15	12.5	1.02	+	+	+	-
9	16	19.6	1.32	+	+	+	-
10	17	17.0	1.32	+	+	+	-
11	18	18.5	0.76	+	+	+	-
12	22	17.0	1.22	+	+	+	-
13	25	14.0	2.30	+	-	+	-

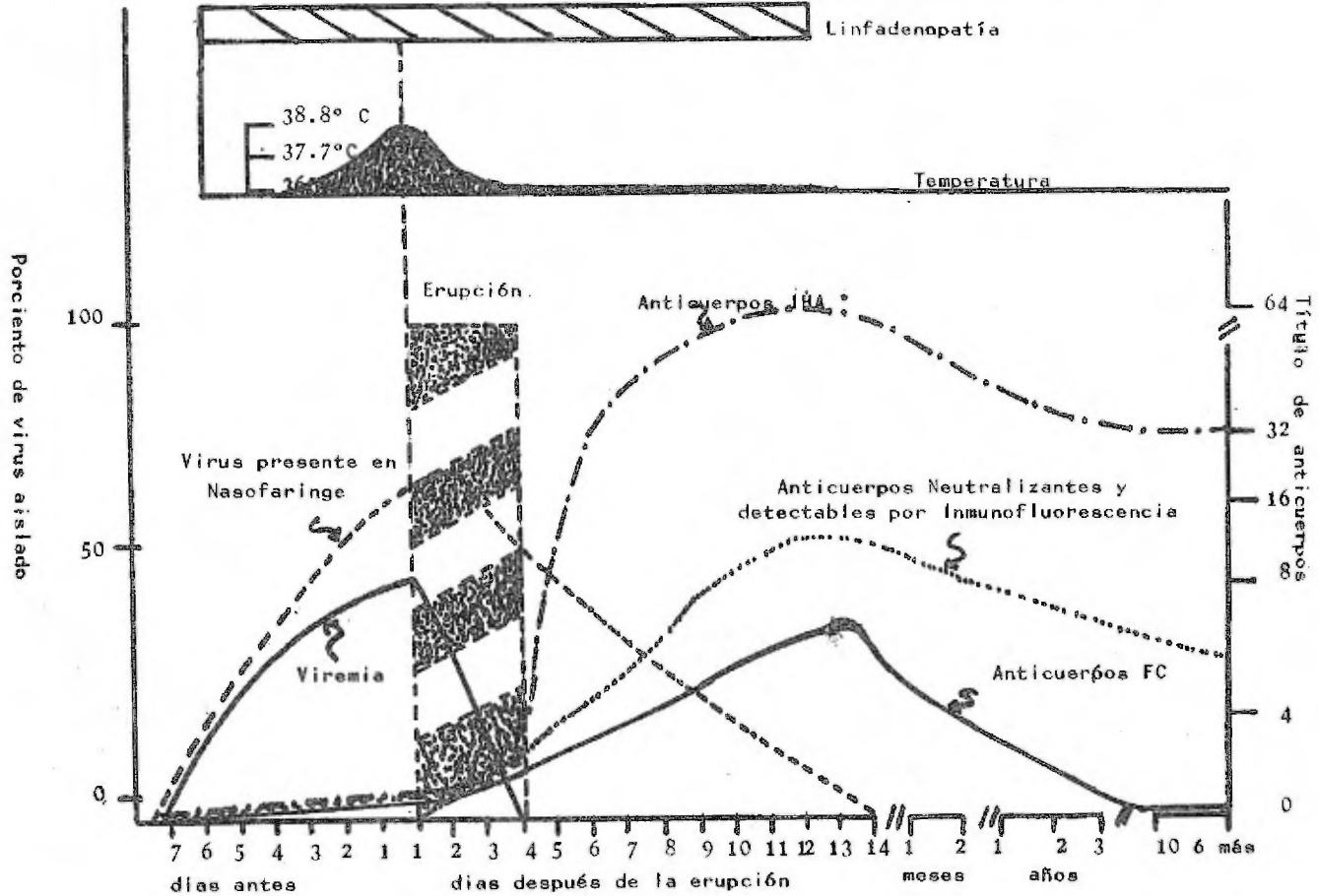
GRAFICA 2

Secuencia de inmunoglobulinas de Rubéola determinadas por gradiente de sacarosa en dos pacientes representativos (5)



GRAFICA 3

Secuencia esquemática de la excreción de virus y respuesta antigénica en Rubéola



Las IgG parecen ser las responsables de la actividad neutralizante del suero, así como de los anticuerpos fijadores del complemento. (5). Estos últimos no se detectan antes de 9 días, después del inicio de la erupción y desaparecen alrededor de 4 ó 5 años. (Tabla 3 y Gráfica 2 y 3). Anexadas anteriormente.

Además de la respuesta de anticuerpos IHA, fijadores del complemento, fluorescentes y neutralizantes (Nt), hay otras respuestas serológicas al virus de la rubéola, como son las precipitinas y los anticuerpos que producen la agregación de plaquetas, así como los anticuerpos inhibidores de la hemadsorción. (30).

Las precipitinas se designan Theta y Iota. Las theta tienen una curva de persistencia muy parecida a la de los anticuerpos IHA y se ha observado que persisten con muy buenos títulos por 5 años. En cambio las Iota alcanzan un título máximo de 1:16 con relación a los anticuerpos IHA y decrecen muy rápidamente, desapareciendo en corto tiempo. (19).

Los anticuerpos inhibidores de la hemadsorción, descritos por Lennette y Schmidt (34), pueden llegar a ser de gran utilidad en el diagnóstico y aunque aún la técnica no se ha desarrollado lo suficiente, se piensa que no tenga grandes ventajas sobre la IHA, como para desplazarla en los trabajos rutinarios.

La presencia de anticuerpos, indica inmunidad a la infección, sin embargo, la reexposición a la enfermedad, sobre todo si el primer estímulo antigénico fue por vacunación, provoca elevación del título de anticuerpos, producto de reinfección, que desde luego es una entidad claramente diferente, puesto que en ella la respuesta inmunológica consiste exclusivamente en IgG específicas de rubéola y no de la secuencia IgM-IgG que se ob-

serva en la primo-infección (11).

La multiplicación del virus en nasofaringe, es transitoria e incluso muchos autores no la reportan (18), con lo cual se elimina la posibilidad de que una persona reinfectada sea fuente de contagio.

Quizá lo más interesante radica en que hasta ahora, no se tienen evidencias de que exista viremia en la reinfección (15) (13); con lo cual se fortalece la su gestión de que el método más al alcance para acabar con el problema de la rubéola congénita sea una buena y bien orientada campaña de vacunación.

La infección in utero, tiene una dinámica inmunitaria diferente a la infección después del nacimiento.

Una semana antes del principio de la erupción en la madre se instala la viremia. La placenta, que nor malmente funciona como barrera de protección, se convier te en fuente de suministro de virus, lo que favorece la infección crónica del feto; que aún no tiene madurez en sus sistemas inmunitarios, celular y humoral, y posiblemente tampoco su respuesta de interferón (13).

Los títulos de infectividad obtenidos experimentalmente pueden verse en la Tabla 4.

TABLA 4 (19)

TITULOS DE INFECTIVIDAD DE VIRUS DE RUBEOLA EN TEJIDOS --

	FETALES.
Tejido Fetal	Título de infectividad por ml. de suspensión al 10% de tejidos.
Ojo y cara	3.8
Extremidades (pies y manos)	3.1
Intestino	4.5
Hígado	2.5
Placenta	1.6
Mandíbula	3.5
Costilla	3.5

Como las células productoras de IgG empiezan a funcionar hasta las 12 1/2 semanas de gestación y las de IgM de las 18 a 20 semanas (2) parece ser que el interferón es la única respuesta inmediata en la primera etapa de la infección.

No se ha probado satisfactoriamente, la habilidad de los fetos humanos infectados, para producir anticuerpos específicos, sin embargo los estudios de Dent (13) demostraron, que en el suero del cordón umbilical de niños con rubéola congénita, se detectan anticuerpos neutralizantes específicos para rubéola, de la clase 19 S (IgM) lo cual sugiere que no hay tolerancia inmunológica.

No obstante, algo que ha llamado poderosamente la atención es que los recién nacidos con rubéola congénita, siguen excretando virus después del año de vida, lo cual es signo de un defecto en el mecanismo de defensa (13).

En 1966, Sterzl, estudiando este fenómeno, concluyó que la persistencia de la eliminación del virus en niños con rubéola congénita, se debe a la falta de transformación de la síntesis de anticuerpos IgM (19 S) en IgG (7 S) y al mismo tiempo a la inhibición, por el virus, de la mitosis, lo cual impide la proliferación celular, indispensable en la síntesis de inmunoglobulinas (7S (13)).

Mottirony y Terosaki (42) encontraron que la rubéola y otras infecciones virales, inducen la formación de anticuerpos citotóxicos para los linfocitos humanos y que posiblemente son IgM.

Quizá esto explicaría el hecho de que en niños con rubéola congénita que mueren en las primeras se-

manas después del parto, se haya notado parálisis del sistema inmunológico y agotamiento de elementos linfoides en el bazo y el timo, así como alteraciones histológicas en ambos, además de un bajo número de células en la mayoría de los órganos. (13).

#### Respuesta a la vacunación:

Poco es lo que se sabe sobre la respuesta del organismo al estímulo por virus de rubéola atenuado, sin embargo los niveles de anticuerpos detectados por IHA son 4 a 8 veces más bajos que en la infección natural (19).

Los anticuerpos fijadores del complemento, así como los marcados con fluoresceína son casi indetectables en la mayoría de los casos, o están ausentes. Quizá lo más importante es que aunque el estímulo sea sobre la reinfección, ya sea clínica o subclínica, en ningún caso produce viremia, aún y cuando en ocasiones si hay multiplicación viral en nasofaringe. (19).

#### E. CONSTITUCION ANTIGENICA

La seroneutralización muestra que las cepas de virus poseen un solo tipo inmunológico y que los anticuerpos correspondientes persisten mucho tiempo, lo que confirma que la rubéola es una afección que, en principio, solo se tiene una vez (39).

Se distinguen entre los tipos de antígeno, los hemaglutinantes, y los fijadores del complemento, estos últimos constituidos por una fracción ligera y una pesada, relacionada con la infectividad del virus.

La hemaglutinina reside, aparentemente, en las espículas del virus, visibles al microscopio electrónico y parece ser que son las responsables de la especificidad antigénica.



## F. TÉCNICAS SEROLÓGICAS PARA LA INVESTIGACION DE ANTI-CUERPOS.

### Seroneutralización:

Cuando el virus se mezcla con un suero de enfermo convaleciente, se neutraliza su poder infectante. La explicación a este fenómeno es que los anticuerpos es pecíficos envuelven a la partícula viral o bien bloquean solamente el sitio de adsorción a la célula susceptible.

La combinación del virus y el anticuerpo generalmente es débil y el virus puede inactivarse durante el proceso y disociarse por simple dilución o cambios de pH, siendo infeccioso nuevamente. (57).

Durante los 2 ó 3 años siguientes al aislamiento del virus de la rubéola, solamente se contó con la técnica de seroneutralización, para la detección de anticuerpos, sin embargo la dificultad para obtener resultados reproducibles, así como el tiempo requerido para obtenerlos, fueron dos inconvenientes que desde el principio hicieron impráctico este método con fines epidemiológicos.

Entre las técnicas usadas para detectar anticuerpos neutralizantes está la inhibición de la interferencia, desarrollada por primera vez en células de riñón de mono verde africano (AGMK) usando el virus ECHO tipo 11 como elemento revelador.

Posteriormente se desarrolló la técnica en lineas celulares conocidas como las BS-C-1 y LLC-MK<sub>2</sub> así como diploides humanas (Wi-38). Pero surgió de nuevo la dificultad para estandarizar la dosis de virus del sistema indicador y la reproducción satisfactoria de los resultados.

Otra modalidad de la técnica, se basa en la

inhibición, por anticuerpos específicos, del efecto citopatógeno (ECP) característico producido por el virus de la rubéola, en líneas celulares conocidas como la Vero, RK<sub>13</sub>, RK y SIRC. El efecto citopatógeno en las células SIRC es muy claro, lo que las hace ideales para este tipo de trabajo (34).

Se preparan diluciones en serie del suero problema y se mezclan con una cantidad constante y conocida de suspensión de virus de la rubéola. Se inoculan los tubos de cultivo celular y el título de anticuerpos será dado por la máxima dilución del suero capaz de neutralizar el virus adicionado y por lo tanto al efecto citopatógeno del mismo.

Sin embargo, el desarrollo de la técnica de neutralización por disminución del número de placas, ha reducido los problemas en cuanto a la obtención de resultados reproducibles, y los títulos son similares a los obtenidos por los otros métodos.

Se basa en la capacidad del virus de la rubéola para formar placas en cultivos celulares adicionados de agarosa. Las células SIRC parecen ser las más sensibles a este efecto.

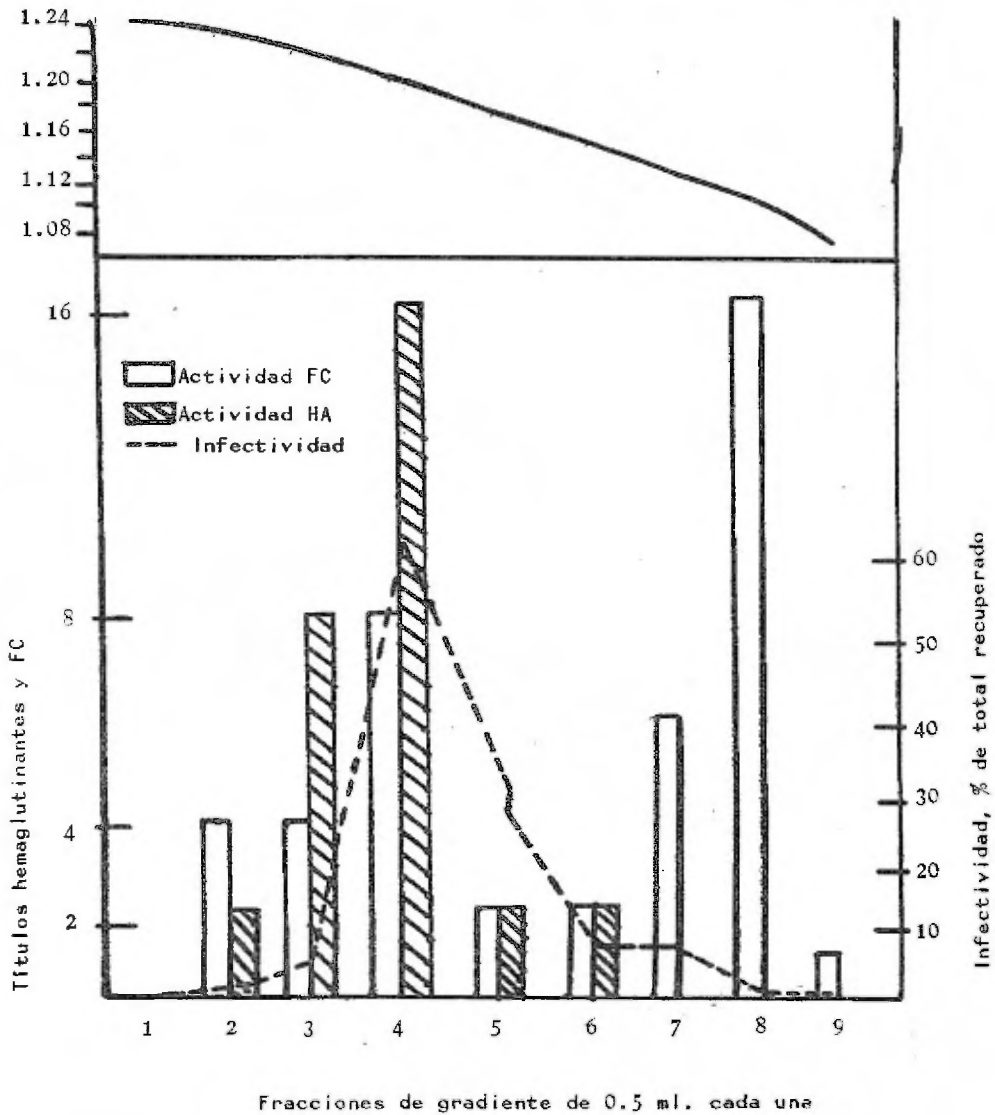
El suero problema en diluciones seriadas se mezcla con cantidades conocidas de virus. El título de neutralización estará dado por una disminución en el número de placas del 70% (19).

#### Fijación del Complemento:

Los antígenos fijadores del complemento fueron demostrados por primera vez por Sever y col. (61) en cultivos de tejidos infectados con virus de rubéola.

El antígeno se obtiene por lisis, extracción alcalina de los paquetes celulares o bien por concentración del líquido de los cultivos de tejidos.

Distribución de los antígenos de Rubéola en gradiente de densidad de sacarosa. (J. Immunol., 100; 851, 1968)



Consta de dos fracciones, una que corresponde al antígeno soluble y otra al antígeno pesado sedimentable, en cuya fracción se encuentra el virus infeccioso. (Gráfica 4) anexada anteriormente.

Se puede destruir la infectividad del antígeno sedimentable ya sea con luz U.V. o bien con éter, lo cual demuestra que los lípidos no son esenciales para el antígeno.

Frente al suero antirubeola no existe diferencia entre los dos antígenos aún y cuando el soluble no posee RNA y el sedimentable sí (34).

No obstante que la respuesta de anticuerpos fijadores del complemento es muy débil en la infección natural, la prueba es altamente específica y resulta muy útil para diagnosticar una infección reciente, ya que los anticuerpos fijadores del complemento aparecen alrededor del 9o. día después del principio de la infección (5) y en unos cuantos años desaparecen, por lo que no se emplea esta prueba para determinar los niveles inmunitarios de una población.

#### Técnica de detección de anticuerpos por fluorescencia:

En 1964, Brown y col. (8) emplearon por primera vez la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos frente al virus de la rubéola. Emplearon líneas de cultivos de células de riñón de mono rhesus (LLC-MK<sub>2</sub>) infectadas crónicamente con el virus, como fuente de antígeno. Prepararon diluciones seriadas del suero problema y lo aplicaron sobre las células infectadas ya fijadas. Si el suero poseía anticuerpos, la unión con el virus presente en las células era detectada al adicionar globulina humana marcada con fluorescencia. El antígeno se localiza en el citoplasma de las células en forma de gránulos muy finos (19).

La técnica posee sensibilidad muy alta para el diagnóstico, puesto que la elevación en los títulos de anticuerpos durante la convalecencia es muy marcada.

En este aspecto se equipara a la IHA y es muy superior a la neutralización.

Para fines epidemiológicos es muy útil. La técnica de fluorescencia indirecta, sin embargo aunque no se sabe con certeza cuanto tiempo después de la infección pueden detectarse estos anticuerpos. Los estudios al respecto demostraron que persisten tanto tiempo como los IHA o los neutralizantes.

La vacuna no estimula la producción de anticuerpos detectables por fluorescencia por lo cual resulta útil este método en conjunto con el de IHA para saber si la respuesta inmune de un individuo al virus de la rubéola, fue por estímulo natural o artificial.

Cuando se hace necesario el diagnóstico de una infección muy reciente pueden detectarse IgM específicas de rubéola por este método usando un conjugado anti IgM marcado con fluoresceína.

#### Inhibición de la Hemaglutinación:

Algunos grupos de virus aglutinan a los glóbulos rojos de diferentes animales. El virus de la influenza perteneciente al grupo de los mixovirus fue el primero en el que se observó esta característica, y se le llamó fenómeno de Hirst. A este hallazgo siguió el de muchos otros virus capaces de aglutinar los eritrocitos en las más diversas condiciones, por ejemplo el virus del sarampión, el de la viruela, el de la vaccinia etc.

Los anticuerpos específicos para la hemaglutinación viral, inhiben este efecto de los virus, de esta manera es posible medir la capacidad inhibidora de los sueros antivirales y a este fenómeno se le llama Inhibi-

ción de la Hemaglutinación.

La prueba es más específica que la Fijación del complemento, y por lo tanto más útil.

El virus de la rubéola tiene la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos (G R) de diferentes especies de aves. El antígeno hemaglutinante responsable de este fenómeno fue demostrada por primera vez por Stewart y col. (63) en el líquido de tejidos infectados y mantenidos con suero tratado con kaolín. Más tarde Halonen y col (25) pusieron de manifiesto la HA en extractos alcalinos de células infectadas. El método de Norrby desarrollado para preparar del antígeno hemaglutinante del virus del sarampión se ha empleado en rubéola con buenos resultados para incrementar el título del antígeno hemaglutinante. Consiste en un tratamiento final con Tween 80 - éter (47). En todos los métodos se pone especial cuidado en eliminar las substancias inhibitoras presentes en los sueros y las células.

Todo parece indicar que el antígeno hemaglutinante está formada por RNA integral, proteínas y lípidos. Su actividad es destruida por el éter o la tripsina. Se ha observado que si el antígeno se trata primero con Tween 80 y luego con éter como se indicó antes, además de aumentar su potencia, puede ser filtrado por membrana de 50 nm pero no de 10 nm. y que posee una densidad de  $1.21 \text{ g/cm}^3$  en contraste con  $1.18 \text{ g/cm}^3$  que posee el antígeno hemaglutinante de virus completo.

Este tratamiento con Tween-éter probablemente remueve la membrana de la partícula viral reteniendo las propiedades hemaglutinantes.

La efectividad de la prueba se ve influida por múltiples factores como pueden ser: el antígeno, el pH y los Glóbulos rojos, así como la temperatura.

T A B L A 5

Efecto de la temperatura y les diferentes clases de glóbulos rojos sobre la hemaglutinación del virus de Rubéola (New England Journal of Medicine 276,10 664 1967)

Tipo de GR	No. lotes probados	Título de la Hemaglutinación		
		A 4°C	A 25°C	A 37°C
Pollos de un día	5	16-32	16	2
Pollo adulto	1	2	+	+
Ganxo	1	16	8	2
Carnero	1	8	4	2
Humanos tipo O	1	2	+	+
Mono Rhesus	2	2	+	+
Cuyo	1	2	+	+

+ No se probó.

Varios autores han descrito la prueba con glóbulos rojos de varios tipos de aves incluso humanos tipo O, sin embargo se ha aceptado que los eritrocitos de pollo de un día de nacido, dan mejores resultados (Tabla 5). anexada anteriormente

La razón de esto podría encontrarse en los estudios hechos por Lessaps (35) sobre la reacción de hemaglutinación, los cuales demuestran, mediante la fijación de células de embrión de pollo en presencia de iones Lantano, una capa opaca al microscopio electrónico, externa a la membrana celular, de más de 50°A que no se remueve con tripsina, EDTA, alfa-amilasa, neuraminidasa o N-acetil L-cisteina, sin embargo la fosfolipasa C en concentraciones de 0.001 mg/ml quita ese material que probablemente sea parte de la célula. Si se retira este material, el antígeno hemaglutinante no es capaz de actuar sobre los glóbulos rojos de pollo recién nacido.

Los GR de pollo adulto no poseen este material, y de hecho no son atacados por el antígeno hemaglutinante. Además los iones calcio y magnesio son indispensables para que el antígeno hemaglutinante actúe.

En el suero de los pacientes se encuentran sustancias capaces de inhibir la hemaglutinación inespecíficamente. Estudios recientes demuestran que estas sustancias son esencialmente glicolípidos unidos a las beta-lipoproteínas de baja densidad, cuya porción receptora activa parece ser N-acetil galactosamina. (62). Es indispensables eliminar estas sustancias antes de efectuar la prueba.

Un tratamiento con Kaolín proporciona muy buenos resultados aún cuando se dice que remueve IgM específicas de rubéola.

Mann y col (38) desarrollaron en los trabajos



de IHA con reovirus, un método para separar los inhibidores inespecíficos a base de cloruro de manganeso y heparina, con lo cual se pierde un 10% de las inmunoglobulinas M, sin embargo Cooper y col (19) probaron este método en rubéola y no obtuvieron resultados muy satisfactorios.

Si se toma en cuenta que después de 30 días - del inicio de la infección no es posible detectar IgM específicas de rubéola, no se corre un riesgo importante - con el tratamiento de kaolín, antes bien facilita la interpretación diagnóstica en muestras seriadas.

El Dr. Liebhaber (36) probó otro inhibidor a base de sulfato de dextrana y cloruro de calcio, que parece ser efectivo, pero aún el número de muestras probado no es suficiente.

Por lo que se refiere al pH ideal para la prueba se ha demostrado que es a pH 6.2 cuando la sensibilidad de la reacción y la estabilidad de la hemaglutinina y el antígeno son mejores.

La temperatura óptima es 4°C.

#### Datos comparativos entre los métodos descritos:

La comparación entre los cuatro métodos descritos, demuestra que la sensibilidad de todos ellos es muy elevada y los resultados se correlacionan estrechamente en los títulos, si bien hay quien afirma que la IHA posee una sensibilidad mayor incluso que la neutralización, (69) conviene conocer la interpretación de cada prueba y el valor que puede dársele.

La IHA tiene mayores ventajas por su relativa sencillez y la reproducibilidad, con límites de confianza de 95%  $\pm$  1.45 dependiendo del número de diluciones - que se hagan.

Algunos investigadores la atacan, cuando falta mucho saber de la dinámica de la respuesta inmune, de la historia natural y la epidemiología de la enfermedad, lo que hace que las interpretaciones no sean muy adecuadas en ocasiones.

Otro problema serio lo representa la falta de concordancia en los títulos según las diferentes técnicas y los diversos reactivos utilizados, lo cual dificulta la estandarización de la prueba a nivel mundial.

Sin embargo, y no obstante estas dificultades, la prueba de IHA es la prueba de elección en la mayoría de los laboratorios, donde la búsqueda de anticuerpos frente al virus de la rubéola se emplea como método de diagnóstico y de investigación epidemiológica.

La demostración de anticuerpos neutralizantes es muy significativa y el método, aunque relativamente difícil es muy sensible, sin embargo tiene inconvenientes, muy serios que dificultan la interpretación, como es la dificultad para observar elevación considerable del título en muestras seriadas, debido a que en la fase aguda de la enfermedad, los títulos de IgM e IgG específicas se detectan juntos muy claramente. En la segunda muestra tomada unos 15 a 25 días después, los niveles de IgG son tan altos como la combinación IgM-IgG detectada primero, no pudiéndose demostrar una elevación significativa que indique infección activa.

La IHA tiene la ventaja de eliminar una parte de las IgM específicas de la respuesta inmune precoz por medio del tratamiento con kaolín; de este modo la cuantificación de IgG en la segunda muestra da elevación del título demostrativa y clara de infección activa. - (19).

## II EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL

La rubéola en su forma epidémica clásica aparece entre los meses de Marzo, Abril y Mayo, según lo indican los datos estadísticos obtenidos en EE.UU. entre 1963 y 1968 (74) (Gráfica 5) y aunque éstos parecen concordar con lo observado en otros países, en las zonas templadas se reportan numerosos casos en todas las épocas de año.

Cabe señalar que si bien, la infección está extensamente distribuida en Norte y Sud. América, Europa, Africa y Japón, así como Australia (74), la situación no es la misma en todos los países del mundo, puesto que el origen étnico, la composición de la población y el sexo influyen en la susceptibilidad a la enfermedad y aunque esto se ha discutido, los datos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud indican que las mujeres negras tienen un porcentaje de susceptibilidad más alto que las mujeres blancas.

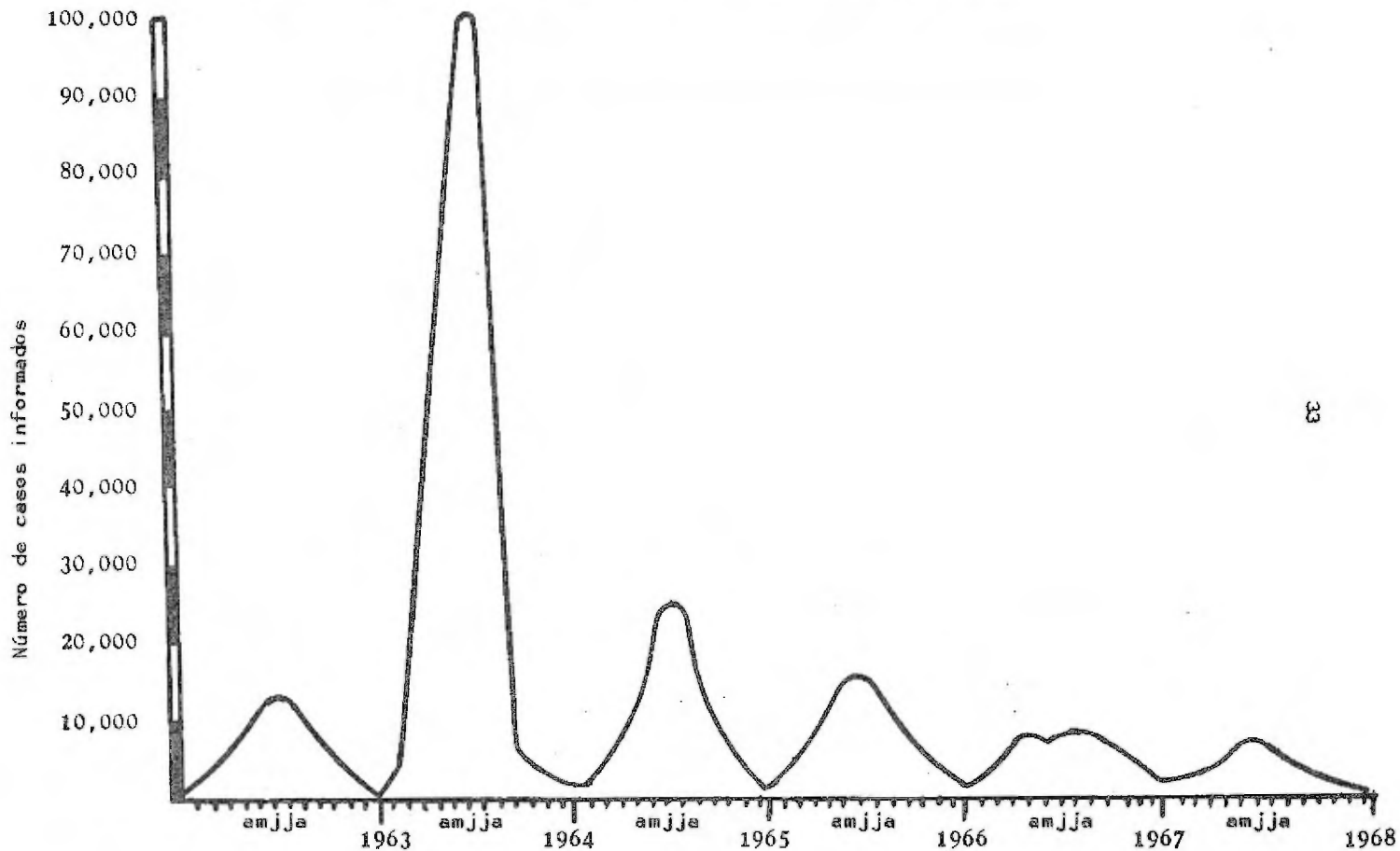
Watson y col. (71) formularon un informe en Inglaterra en el que indican que la incidencia de la enfermedad entre las mujeres susceptibles es notablemente mayor que entre los hombres.

Similares observaciones fueron hechas por Hillenbrand (27) durante la epidemia de 1952 en las islas Falkland y por Majen en 1967 en Alemania (37) el cual basado en estudios experimentales afirma que las mujeres adultas tienen un porcentaje de susceptibilidad más elevado que los hombres.

En Japón, por ejemplo, en las áreas rurales, el porcentaje de seropositivos fue más bajo que en las áreas urbanas, particularmente entre mujeres jóvenes. Sin embargo, Kono (31) puntualizó que los defectos congé

GRAFICA 5

Curva epidemiológica en el este de EE. UU. entre 1963 y 1968.



nitos típicos de infección por virus de la rubéola, ocurren rara vez en Japón, lo cual sugiere que existen cepas diferentes de virus de rubéola. Los estudios continuarán alrededor de esto.

En general se ha observado en las zonas rurales y en las islas, que los porcentajes de susceptibles son mucho más elevados que en las grandes zonas urbanas (19) como lo muestra la Tabla preparada con datos recopilados entre 1969 y 1970. (Tabla 6).

Las mayores epidemias ocurridas en EE.UU. fueron en 1935, 1943 y 1964, si bien se observaron en 1952 y 1958 períodos de alta incidencia. Esto nos indica que la enfermedad se presenta en forma epidémica con intervalos de 6 a 9 años.

No se tiene ningún informe sobre la existencia de reservorios animales. El contagio se efectúa de persona a persona por la orina, las heces, o más frecuentemente por vía aérea dado a que la multiplicación viral más precoz es en la nasofaringe.

La rubéola tiene un período de incubación de 18 días (73). No es usual que se presente antes de los 6 primeros meses de la vida, ni después de los 40 años. Los datos obtenidos entre 1963 y 1967 muestran que la máxima incidencia de la infección se presenta entre los 5 y los 9 años. (Tabla 7)

TABLA 7

PORCIENTO DE CASOS EN RELACION A LA EDAD Y AL SEXO (74)

EDAD	HOMBRES	MUJERES	TOTAL
0 - 4	13 %	12.9 %	13.0 %
5 - 9	44.4	41.8	43.1
10 - 14	23.4	23.6	21.5
15 - 19	12.9	11.2	12.0
20 - 39	4.4	4.4	8.8
40 ó más	0.5	1.7	1.1

TABLA 6

Comparación de los porcentajes de susceptibilidad en diversos países

LUGAR	% DE SUSCEPTIBILIDAD	
	15 - 20	20 a 35
Costa Rica	41	25
Nassau	29	23
Jamaica	33	—
Puerto Rico	61	56
Hawaii (Población que nunca ha viajado) (26)	—	75
Hawaii (Población que ha viajado) (26)	—	25 - 50
Francia (comunidad militar) (65)	—	4.5
Melbourn, Australia (32)	17.7	4.4
China (20)	—	35
Babarria, Alemania (16)	17.7	4.4
Japón	—	79
California, EE.UU.	50	27
Massachusetts EE.UU.	45	19
Reading, EE.UU.	23	—
Colorado, EE.UU.	9	10
Delaware, EE.UU.	36	31
Rhode Island, EE.UU. (9)	12.9	—
Cd. de México (Personal intrahospitalario)(24)	14.3	4.6
Cd. de México (1969) (48)	6.8	4
Cd. de México (1972 - 1973)	13.3	13

## CONTROL:

En razón a que la terapia con adamantamina no ha pasado de la fase experimental en animales, las únicas posibilidades que hay para eliminar el problema de la rubéola durante el embarazo son: La prevención con gamma - globulina específica o la vacunación adecuadamente pro-- gramada.

La eficacia de la prevención con gama globuli na específica es muy discutida, y en tanto que algunos - están convencidos de su acción, otros afirman que favorece las infecciones inaparentes.

McDonald ( ) en una encuesta hecha entre más de 30,000 mujeres encintas expuestas al contacto con ru béola y posteriormente tratadas con gamma globulina, demostró una reducción en el porciento de niños muertos y con malformaciones, cuando la administración de la gamma globulina era lo suficientemente precoz y se empleaba - un producto con título elevado de anticuerpos especifi-- cos.

Sin embargo trabajos del Centro Nacional de - Transfusiones Sanguíneas de Francia, indican que el porcentaje de reducción de accidentes fetales solo es de un 0.3% después de la administración de la gamma globulina específica.

Según lo anterior se puede afirmar que la in- munización activa es la única medida que ayudará a resol ver el problema de la rubéola congénita.

Un poco antes de la epidemia de 1964, en - EE.UU., se pensó por primera vez, en la posibilidad de - preparar una vacuna que brindara protección adecuada fren te al virus de rubéola.

Los ensayos con vacunas preparadas con virus inactivados no fueron satisfactorias, por los bajos títu los obtenidos, por lo que resultó indispensable empezar a probar vacunas preparadas con virus atenuados los cuales deberían reunir las siguientes condiciones:

- 1o. Capacidad para provocar una respuesta antigénica suficiente y perdurable.
- 2o. Ausencia de reacciones secundarias importantes.
- 3o. Facilidad en la administración.
- 4o. Nula capacidad de transmisión a otras personas susceptibles.
- 5o. Nula capacidad para producir viremia.
- 6o. Nula capacidad para atravesar la placenta e infectar al feto.

Parkman y col. en el laboratorio de Inmunología viral de Maryland EE.UU. realizaron una completa com paración entre las cepas de virus atenuado y una cepa de virus natural, obteniendo los datos de la tabla número 8 (19).

Entre las cepas de virus atenuado más importantes en la actualidad están la Cepa HPV - 77 (en sus dos variantes) y la cepa Cendehill.

#### Cepa HPV - 77:

Parkman y Mayer (54) aislaron una cepa virulenta, de la garganta de un enfermo de rubéola y lograron atenuarla realizando 77 pases, en cultivos celulares de riñón de Cercopithecus aethiops. Esta cepa tomó el nombre de HPV-77 (high passage virus No. 77).

Las pruebas indispensables, para diferenciar una cepa virulenta de una atenuada, fueron satisfactorias (Tabla 9) ya que no se provocó viremia ni se aisló virus del feto de una hembra rhesus o cercopithecus.



TABLA 8.

PRUEBAS DE LABORATORIO QUE COMPARAN UNA CEPA VIRULENTE Y UNA ATENUADA DE VIRUS DE LA RUBEOLA. (19)

PRUEBA REALIZADA	Cepa Virulenta	Cepa Atenuada
In vitro: ECP en RK <sub>13</sub> Placas en RK <sub>13</sub> Inducción de Interferón	Mínimo a 35°C Pequeño y tardío Nulo o muy bajo	Pronto a 35°C Grande y pronto Niveles altos
In vivo: (mono Rhesus) Excreción viral Viremia Transmisibilidad Respuesta de anticuerpos Neutralizantes IHA FC  Diseminación y multiplicación en los tejidos  Infectividad intranasal.	En más de 90% En un 50% Frecuente  Alta Alta Alta  En muchos tejidos sobre todo reticuloendotelial  Alta, igual a la infectividad en cultivo de tejidos.	Raramente visto No se observa No se observa  Baja Baja Baja o nula  Solo en tejido reticuloendotelial  Baja, 100 veces menor que en cultivo de tejidos.

T A B L A 9

## RECUPERACION DE VIRUS DE RUBEOLA EN MONOS INOCULADOS

DIAS DESPUES DE LA INOCULACION	CEPA VIRULENTA						CEPA ATENUADA HPV - 77					
	2	7	11	17	24	31	2	7	11	17	24	31
SANGRE	+											
BAZO	+	+	+	+			+	+	+		+	
GANGLIOS INGUINALES	+	+	+	+					+			
GANGLIOS MESENTERICOS	+	+	+	+	+		+		+			
HISOPO NASAL		+	+	+								
HISOPO FARINGEO		+										
FARINGE		+	+	+								
PULMON												
HISOPO RECTAL					+							
COLON		+										
MUSCULO ESQUELETICO		+		+								
HIGADO	+	+										
RIÑON			+									
SUPRARRENALES		+										

En los primeros ensayos en humanos, se produjo respuesta de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación y neutralizantes; no se aisló el virus de la sangre y aunque si se detectó débil excreción viral por nasofaringe, no resultó ésta, fuente de contagio para otros individuos susceptibles.

El título de anticuerpos parece que es estable, sin embargo, solamente con el transcurso del tiempo se podrá establecer esta apreciación.

Dos problemas relativamente importantes presenta la Cepa HPV-77:

1) En los adultos se presentan a veces, reacciones posvacunales como malestar general, fiebre o dolor en las articulaciones, que en un porcentaje mínimo evoluciona a artritis, curable en poco tiempo.

2) Parece ser que elementos propios de las células de riñón de mono, tienen propiedades oncogénicas, y si éstas contaminan la vacuna puede ser un peligro potencial para quienes la reciben.

Esto último se supera realizando los últimos pases en células de riñón de perro, embrión de pato, o bien fibroblastos de embrión de pollo. La vacuna así preparada conserva sus propiedades originales.

#### Cepa Cendehill:

Aislada en 1963 por Prinzie, a partir de la orina de un sujeto con rubéola, en células renales de mono Cercopithecus.

La atenuación de la cepa, se logró por pases sucesivos, en células primarias de riñón de conejo, a 34°C (58), obteniéndose diferencias muy marcadas con relación a la cepa de virus natural. (Tabla 10) (19).

Se realizaron pruebas en humanos, en el pase

T A B L A 10

PRUEBAS DE LABORATORIO QUE COMPARAN LA CEPA VIRULENTE CON LA CEPA ATENUADA CENDEHILL DE VIRUS DE LA RUBEOLA.

	CEPA VIRULENTE	CEPA CENDEHILL/51
In vitro:		
ECP en células PRK	- ó ±	+
ECP en células RK <sub>13</sub>	- ó ±	+
Formación de placas en RK <sub>13</sub>	±	+
Inducción de interferón	±	+
In vivo:		
Formación de anticuerpos en conejo inoculado	+	-
Formación de anticuerpos tras inoculación intramuscular en mono	+	±
Infectividad por vía intranasal	+	-
Transmisibilidad	±	-

T A B L A II

SEROCONVERSION DESPUES DE LA VACUNACION (19)

Días después de la vacuna	No. casos	No. Conversión	% Conversión	Título IHA
0 - 4	11	4	35	1:20
5 - 9	13	6	46	1:45
10 - 14	71	21	30	1:25
15 - 19	18	10	56	1:17
20 - 24	26	25	96	1:42
25 - 29	75	73	97	1:42
30 - 34	3	3	100	1:64
35 - 39	31	29	94	1:54

21, y aunque presentó buen efecto antigénico y ninguna - difusibilidad, las reacciones secundarias a la inocula- ción viral fueron considerables.

Se siguieron haciendo pases y el pase número 51, resultó muy efectivo y aparentemente el ideal para la vacunación.

Las reacciones posvacunales fueron raras y - discretas, el título de anticuerpos elevado y constante, con la ventaja de estar atenuada en cultivos celulares - de riñón de conejo y no de riñón de mono.

La aparición de anticuerpos específicos des- pués de la vacunación con la cepa Cedehill, es gradual, - alcanzando casi 100% de seroconversión a los 30 días des- pués de la inoculación. (Tabla 11) (19) lo cual fortale- ce la idea de planear una campaña de vacunación adecuada, como única medida para evitar el problema de la rubéola congénita.

Comparando la cepa Cedehill con las cepas HPV -77 DE-5 y HPV-77 DK-12, en lo que se refiere a la excre- ción de virus por nasofaringe Parkman y col. ponen en - evidencia el hecho de que la cepa Cedehill tiene por- centajes más bajos de excreción y no solo eso, sino que ésta dura menos. (Tabla 12) (19)

De menor importancia por ser más recientes, - tenemos las cepas Plokin (RA-27/3), aislada de un feto - humano y atenuada por 25 pases sucesivos sobre células - diploides humanas Wi-38 a 30°C; los resultados fueron sa- tisfactorios, puesto que no provocó efectos posvacunales importantes, su poder antigénico fue alto, la excreción muy débil y no ser presentó viremia.

Los estudios no han tenido gran difusión, pero es claro que si bien favorece la multiplicación viral en

las células limitantes de la orofaringe, puesto que la vía de inoculación es la cavidad nasofaríngea, lo cual implica un menor riesgo de diseminación del virus en el organismo.

Por otra parte, tiene un inconveniente importante, el estar muy adaptada a las células humanas, y si por algún motivo se difunde accidentalmente en el organismo, puede llegar a causar un problema serio.

Existen en fase experimental, otras cepas, como la de Cabasso, pasada 38 veces a 35°C, sobre cultivos celulares de riñón de mono verde africano. (10).

T A B L A 12

Frecuencia de excreción viral por nasofaringe después de la vacunación.

Días después de la vacuna	HPV-77 DE-5		HPV-77 DK-12		Cendehill	
	No. casos	% positivos	No. casos	% positivos	No. casos	% positivos
0-4	11	0	12	0	0	-
5-9	34	0	47	6	99	5
10-14	54	26	59	44	98	29
15-19	49	43	56	36	97	21
20-24	51	6	58	2	99	2
25-29	39	5	48	2	79	3

III MATERIAL Y METODOS

## 1. REACTIVOS:

a. Antígeno hemaglutinante específico de rubéola, tratado con Tween 80- éter, según el método de Norrby (47) y obtenido de una fuente comercial en forma liofilizada y rehidratado en el momento de ser utilizado con 1 ml de agua destilada esteril.

b. Amortiguador Alcalino.

NaCl	7.02	g
Acido Bórico	3.09	g
NaOH 1N	24.00	ml
Fracción V de albúmina bovina.	4.00	g
Agua destilada cbp.	1000	ml

## Preparación:

En un matraz Erlenmayer se colocan las sales, la sosa y la mitad del agua. Cuando está disuelto todo, se coloca una barra magnética y con agitación fuerte y constante, se adiciona la fracción V de albúmina de bovino. Se pasa a un matraz aforado y se completa con agua destilada. Se filtra a través de un filtro Seitz estéril y se conserva en condiciones estériles en refrigeración. La fórmula proporciona un pH final de 9.0.

c. Amortiguador Acido:

NaCl	8.7	g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	15.75	g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 12 H <sub>2</sub> O	24.34	g
Agua destilada cbp.	1000	ml

## Preparación:

Todas las sales se disuelven en frío en un matraz aforado. Esterilizar por filtración o en autocla-

ve, 15 lb. 15 min. Conservar en frasco estéril en refrigeración.

El pH deberá ser ajustado mezclando partes iguales de amortiguador alcalino y amortiguador ácido. La mezcla resultante deberá tener un pH de 6.1 a 6.2. Si no es así se repite la preparación.

d. Suspensión de Kaolín:

Kaolín libre de ácido *	250 g
Amortiguador alcalino s/albúmina	1000 ml.

Preparación:

Se mezcla el kaolín y el amortiguador y se envasa en frascos de 100 ml conservándolo a 4°C. Antes de usarlo se agita muy bien adicionando perlas de vidrio.

e. Amortiguador Dextrosa-Gelatina-Veronal (DGV).

Barbital	0.58	g
Gelatina	0.60	g
Barbital sódico	0.38	g
Ca Cl <sub>2</sub> anhidro	0.02	g
MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0.12	g
NaCl	8.50	g
Glucosa	10.00	g
Agua destilada	cbp	1000 ml.

Preparación:

Disolver en 250 ml de agua hirviente el barbital y la gelatina, hasta su completa disolución. En agua fría disolver los demás componentes y cuando ambas soluciones estén a temperatura ambiente se mezclan. Se reparten en frascos de 100 ml y se esterilizan 10 min. 10 lb.

\* Kaolín libre de ácidos marca DIFCO.



## f. Solución anticoagulante de Alsever.

Dextrosa	2.05	g
Citrato de sodio	0.80	g
NaCl	0.42	g
Ac. Cítrico	0.055	g
Agua destilada cbp.	100	ml.

## Preparación:

En un matraz aforado de 100 ml. disolver las sustancias anteriores, utilizando una cantidad mínima - agua. Completar hasta el foro. Esterlizarlo por filtración y envasar en frascos estériles de 100 ml. Mantener en refrigeración.

## g. Suspensión de Eritrocitos de Pollo.

Se utilizan glóbulos rojos de pollo de 24 hrs de nacidos, los cuales se obtienen por punción cardíaca, con la jeringa ya conteniendo el anticoagulante de Alsever en proporción de 2 ml de anticoagulante por cada mililitro de sangre de pollo (Usualmente se obtienen de 1 a 1.5 ml de sangre de cada pollo). Se recomienda utilizar agujas del No. 20 y 1/2 pulgada.

Los glóbulos rojos se lavan 3 veces con solución amortiguadora -DGV y el paquete se resuspende con el mismo amortiguador hasta conseguir una concentración del 50%. Se guardan en refrigeración un máximo de 4 días antes de ser utilizados. A partir de esta suspensión se prepara otra al 0.25% en amortiguador ácido, un momento antes de utilizarla y el sobrante de deshecha - teniendo que preparar más suspensión cada vez que se va a utilizar.

## 2. LAVADO DE LAS PLACAS.

Se utilizan placas excavadas en U para serología según el modelo de la Organización Mundial de la Sa-

lud (OMS), las cuales deberán lavarse cuidadosamente a fin de tener óptimas condiciones para la prueba:

- a. Inmediatamente después de utilizadas se enjuagan con agua de la llave hasta retirar todo rastro de glóbulos rojos.
- b. Se colocan en un recipiente con detergente y se dejan toda la noche.
- c. Al día siguiente se enjuagan varias veces para quitar todo el detergente.
- d. Con un hisopo de algodón se limpia cada pozo, dejando la placa en agua destilada por algunas horas.
- e. Escurrir la placa y secar cuidadosamente cada pozo con un hisopo de algodón.

### 3. MATERIAL BIOLÓGICO.

Se trabajaron 457 muestras de suero sanguíneo obtenidas por punción venosa en condiciones estériles, entre el 10. de Agosto de 1972 y el 31 de Marzo de 1973. La distribución por edades es como sigue:

EDAD	No. de casos.
15	16
16	64
17	48
18	35
19	35
20	30
21	29
22	29
23	36
24	30
25	27
26	27
27	24
28 ó más.	27
TOTAL	457

220 muestras pertenecen a estudiantes de enfermería, 35 a Químicas y 115 a mujeres próximas a contraer matrimonio y el resto a completar 457, pertenecen a muchachas de diversas ocupaciones que próximamente prestarán sus servicios en hospital.

#### 4. METODOLOGIA:

Para determinar el título de anticuerpos se utilizó el método de Inhibición de la Hemaglutinación (IHA) descrito por Stewart (63) y modificado en el Instituto Pasteur de Paris por J. Mourin.

El macrométodo comprende 3 fases:

- a) Tratamiento de los sueros
- b) Titulación del antígeno
- c) Inhibición de la hemaglutinación propiamente dicha.

##### a. Tratamiento de los sueros.

- En tubos de 10 X 75 mm perfectamente limpios y secos, colocar:

- 0.2 ml de suero sanguíneo
- 0.8 ml de amortiguador alcalino
- 1.0 ml de Kaolín en suspensión

- Agitar vigorosamente y dejar incubar 20 a 30 min. a temperatura ambiente, cuidando de agitar cada 5 min. para mantener el kaolín en suspensión y conseguir una mejor adsorción, si se dispone de un agitador de Kahn resulta ideal.

- Centrifugar 10 min. a 2000 rpm. y sin decantar el sobrenadante agregar 0.2 ml de suspensión de glóbulos rojos de pollo al 50%.

- Agitar ligeramente para no remover el kaolín. Incubar a 4°C por una hora, agitando cuidadosamente cada 15 min.

Si se desea puede prolongarse esta incubación toda la noche.

- Centrifugar a 2000 rpm. 20 min. en centrifuga refrigerada a 4°C

- Separar el sobrenadante y considerarlo ya como una dilución 1:10 del suero.

#### b. Titulación del antígeno hemaglutinante.

En las placas de la OMS (si se carece de ellas se pueden suplir por tubos de ensayo de 13 X 75 mm).

- Colocar 0.3 ml de amortiguador alcalino en el primer pozo de la placa y 0.2 ml en cada uno de los siguientes de la primera fila de pozos.

- Al primer pozo agregarle 0.1 ml de antígeno hemaglutinante rehidratado.

- Mezclar perfectamente y pasar al segundo pozo 0.2 ml, y de éste al tercero 0.2 ml y así sucesivamente hasta terminar, deshechar los últimos 0.2 ml.

- Adicionar 0.2 ml de amortiguador alcalino a cada uno de los pozos.

- De la suspensión de Glóbulos rojos al 0.25% (0.5 ml de suspensión al 50% en 100 ml de amortiguador ácido) agregar 0.4 ml a cada pozo.

- Colocar en otro pozo limpio 0.4 ml de amortiguador alcalino y 0.4 ml. de suspensión de glóbulos rojos al 0.25%. Esto servirá como testigo de glóbulos rojos para tener la seguridad de que no se aglutinan espontáneamente.

- Incubar a 4°C por 1 hr. y leer.



### Interpretación:

El antígeno tenderá a aglutinar los glóbulos rojos de pollo, el título corresponde a la máxima dilución en la cual se presente aglutinación total y clara. Esta dilución se considera correspondiente a una unidad hemaglutinante. (Esquema 1)

### c. Inhibición de la Hemaglutinación.

#### Titulación Cuantitativa.

Utilizando las mismas placas de serología de la OMS:

- Apoyar la placa en una plancha de hielo.
- Colocar un problema en cada fila de pozos.
- Poner en cada pozo 0.2 ml de amortiguador alcalino, excepto en el segundo pozo de cada fila.
- Del tercero mezclar bien y pasar 0.2 ml al cuarto y de este 0.2 ml. al quinto y así sucesivamente desechando los últimos 0.2 ml.
- Se requiere que el antígeno tenga 4 unidades hemaglutinantes para realizar la prueba, por lo que el título obtenido en la titulación del antígeno se divide entre cuatro y según este cálculo se diluye el antígeno, con buffer alcalino (por ejemplo: si se tiene un título de 1:64, se divide 64 entre 4 y se tiene 1; 16 por lo cual se diluye agregando 15 ml. de amortiguador alcalino por cada mililitro de antígeno.
- Se agregan 0.2 ml de antígeno convenientemente diluido a todos los pozos excepto el primero de cada fila, el cual servirá como testigo del suero, a fin de saber si es que el tratamiento no fue suficientemente efectivo y existen aglutininas inespecíficas.
- Incubar a temperatura ambiente 30 min.
- Adicionar a todos los pozos 0.4 ml de glóbulos rojos de pollo en suspensión al 0.25% preparada en ese momento.
- Guardar en refrigeración 1 hr. o toda la noche y leer.

Simultáneamente se procesan 2 sueros testigos conocidos, uno positivo y el otro negativo, a fin de ratificar la veracidad de la lectura.

Así mismo es muy conveniente colocar dos testigos de glóbulos rojos poniendo 0.4 ml de buffer alcalino y 0.4 ml de suspensión de glóbulos rojos de pollo al 0.25%.

Para rectificar que se está trabajando con 4 unidades hemaglutinantes se utilizan 4 pozos:

- En cada uno de ellos poner 0.2 ml de amortiguador alcalino.
- En el primero poner 0.2 ml de antígeno diluido y mezclando bien pasar, 0.2 ml al segundo y de este 0.2 ml al tercero y así sucesivamente. Deshechar los últimos 0.2 ml.
- Adicionar 0.2 ml de amortiguador alcalino a cada pozo.
- Agregar a todos los pozos 0.4 ml de suspensión de glóbulos rojos de pollo al 0.25%.
- Incubar a 4°C una hora. Leer. (Esquema 2)

#### Interpretación:

En principio, un título de 1: 10 de anticuerpos antirubeola se considera como protector, ya que se ha demostrado que una persona con un título de 1: 10 difícilmente contrae la infección, aunque sí ante el agente infeccioso, puede responder con una elevación del título de anticuerpos por provocarse una respuesta anamnésica específica.

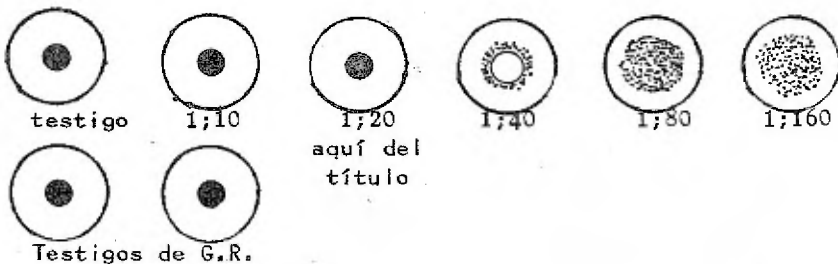
Para fines epidemiológicos es suficiente una titulación cualitativa de anticuerpos, puesto que la idea es conocer si las personas están o no protegidas frente a la rubéola como primo-infección.

## ESQUEMA 2

TITULACION DE ANTICUERPOS INHIBIDORES DE  
LA HEMAGLUTINACION

Número del pozo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>1a. Fila</b>									
Amortiguador alcalino	0.2		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Suero tratado (1:10)	0.2	0.2	0.2						
Antígeno diluido (4U)		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<b>2a. Fila</b>									
Amortiguador alcalino	0.4	0.4							
Suspensión de G.R.	0.4	0.4							
<b>3a. Fila (rectificación de las 4 U.)</b>									
Amortiguador alcalino	0.2	0.2	0.2	0.2					
Antígeno diluido	0.2								
Amortiguador alcalino	0.2	0.2	0.2	0.2					
30 minutos a temperatura ambiente									
G.R. al 0.25 %	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
DILUCIONES	test suero	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$

## INTERPRETACION :





Para tener la seguridad de que la interpretación de los resultados es correcta deberán estar perfectamente bien formados los "botones" de glóbulos rojos en los testigos de eritrocitos y de cada uno de los sueros, en caso contrario conviene repetir toda la prueba incluso el tratamiento de los sueros.

Los testigos positivo y negativo, deberán tener una lectura correcta.

Los cuatro pozos en los cuales se rectifica - la titulación de 4 unidades hemaglutinantes se interpretará como sigue:

1er. pozo	4 unidades	aglutinación total
2o. pozo	2 unidades	aglutinación parcial
3er. pozo	1 unidad	aglutinación casi nula
4o. pozo	1/2 unidad	aglutinación nula.

Si todos los testigos están correctos se leerán los títulos de cada uno de los problemas anotando - como resultado la dilución máxima en la cual se presente un botón perfectamente definido, o sea la máxima dilución en que no se presente aglutinación.

IV RESULTADOS

Se practicó titulación cualitativa de anticuerpos frente al virus de la rubéola por el método de IHA a 457 muestras de suero sanguíneo de mujeres mexicanas de 15 años en adelante.

Se consideró que un título de anticuerpos correspondiente a la dilución 1:10 protege de por vida contra la primo infección.

La tabla 13 muestra los totales de seropositivas y seronegativas, así como los porcentajes de susceptibilidad y protección a la rubéola, según la edad.

Para tener una visión más clara, en lo que se refiere a los porcentajes de susceptibilidad y protección, y para poder compararlo con estudios previos en la Cd. de México y en el mundo, se agrupan los datos por edades, según lo muestra la tabla 14.

T A B L A 14  
AGRUPAMIENTO DE DATOS POR EDADES

GRUPO DE EDAD	No. DE CASOS	PROTEGIDOS	SUSCEPTIBLES	PROTEGIDO EN %	SUSCEPTIBLES EN %
15 - 17	128	111	17	86.72	13.28
18 - 20	100	86	14	86.00	14.00
21 - 23	94	78	16	83.09	16.91
24 - 27	108	91	17	84.26	15.74
28 ó más	27	23	4	85.19	14.81
TOTAL	457	389	68	85.13	14.87

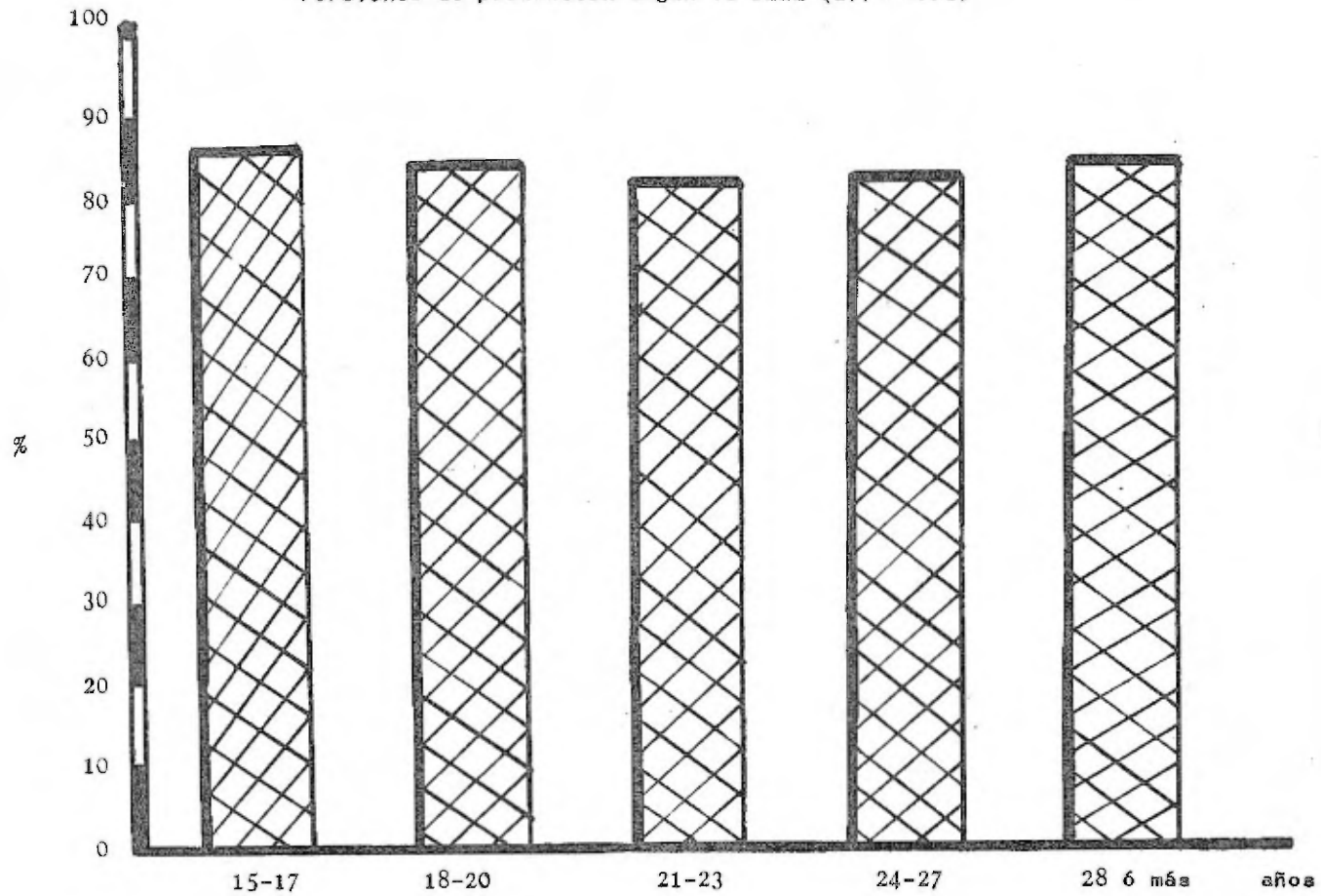
T A B L A 13

RESULTADOS TOTALES DE SUSCEPTIBILIDAD Y PROTECCION EN LA POBLACION

EDAD	NO. TOTAL	PROTEGIDAS	SUCEPTIBLES	PROTEGIDAS (en %)	SUSCEPTIBLES (en %)
15	16	11	5	68.75	31.25
16	64	57	7	89.07	10.93
17	48	43	5	89.59	10.41
18	35	31	4	88.58	11.42
19	35	30	5	85.76	14.24
20	30	25	5	83.34	16.66
21	29	23	6	79.32	20.68
22	29	25	4	86.21	13.79
23	36	30	6	83.34	16.66
24	30	25	5	83.34	16.66
25	27	25	2	92.60	7.40
26	27	23	4	85.19	14.81
27	24	18	6	83.34	16.66
28 ó más	27	23	4	85.19	14.81
TOTAL	457	389	68	85.13	14.87

GRAFICA 6

Porcentaje de protección según la Edad (1972-1973)



En la gráfica 6 podemos apreciar por medio de barras los datos anteriores.

Análisis de los resultados:

En 1968, el Dr. Gutiérrez y col. (24) realizaron una encuesta sero-epidemiológica entre el personal femenino del Hospital de Pediatría del Centro Médico del IMSS. Posteriormente en 1969, la Dra. Blanca R. Ordoñez (48) publicó un trabajo similar utilizando muestras de suero sanguíneo de mujeres de diferentes clases sociales y económicas.

La Tabla 15 muestra una comparación entre los datos obtenidos por ellos y los conseguidos en el presente trabajo.

Gráficando esos datos se logra una idea más clara de las divergencias existentes. (Gráfica 7).

En el capítulo epidemiología, se hace mención a la importancia de los factores naturales, en relación a la incidencia de la rubéola en las diversas regiones del mundo. Es muy notorio el elevado porcentaje de susceptibles que se reporta en Japón, por ejemplo, sin embargo no se recuerda ahí una epidemia de la magnitud de la que vivió EE.UU. en 1964.

La gráfica 8 muestra una comparación, entre los datos obtenidos en algunos países del mundo y los obtenidos en el presente trabajo.

Una vez hecha la exposición de los datos en forma general, es interesante mostrarlos en relación al riesgo que correrán las personas susceptibles próximas a trabajar en Hospitales, Escuelas o Guarderías, donde estarán constantemente expuestas a contraer la infección.

Majer (37) en 1967, realizó simultáneamente -

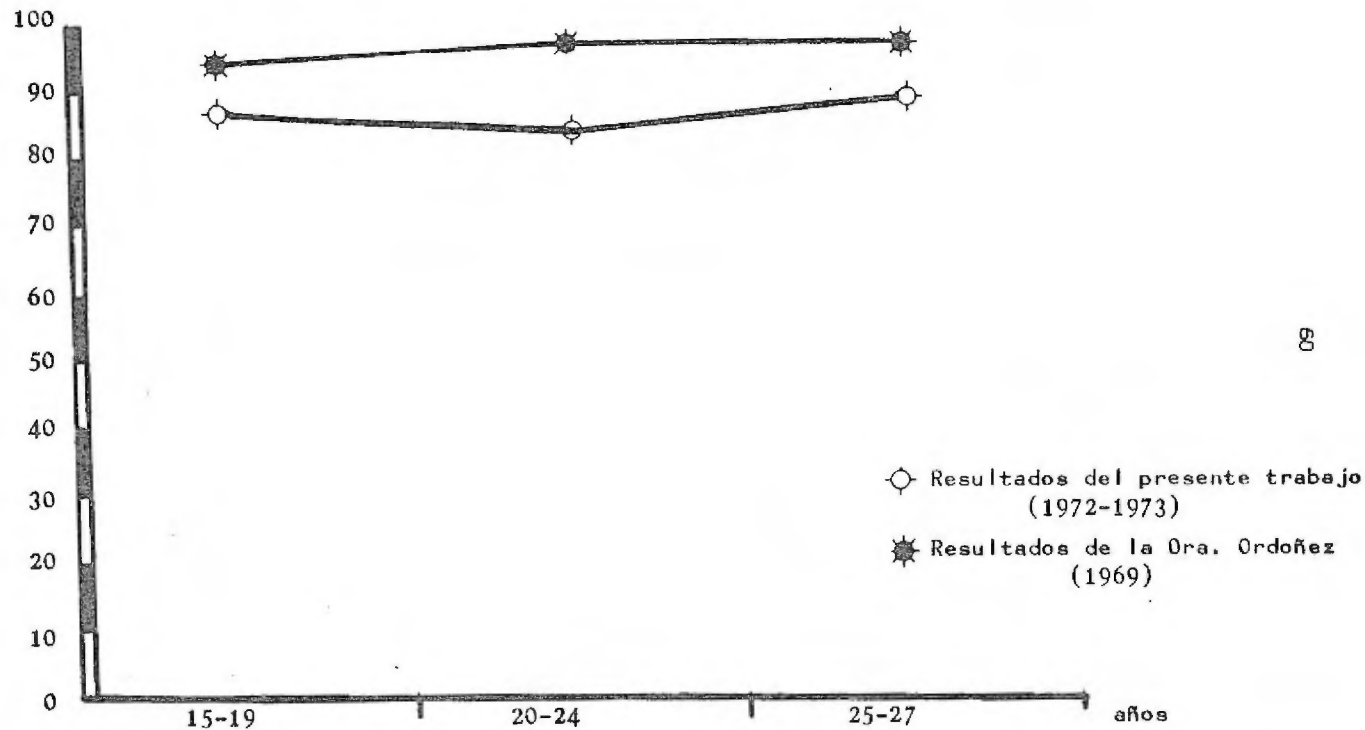
T A B L A 15

DATOS DE SUSCEPTIBILIDAD Y PROTECCION OBTENIDOS EN EL PRESENTE TRABAJO COMPARADOS CON LOS DATOS OBTENIDOS EN 1968 y 1969 POR LOS DRS. GUTIERREZ Y ORDÓÑEZ.

EDAD	DR. GUTIERREZ			DRA. ORDÓÑEZ			TRABAJO PRESENTE		
	No. Casos	% prot.	% suscep	No. Casos	% prot	% susc	No. Casos	% de Pr	% de Sus
15 - 19				123	93.2	6.8	198	86.87	13.13
16 - 17	35	85.7	14.3						
20 - 24				110	96.4	3.6	154	83.12	16.88
25 - 27				124	96.0	4.0	78	87.00	13.00
TOTAL	35	85.7	14.3	357	95.0	5.0	430	85.66	14.34

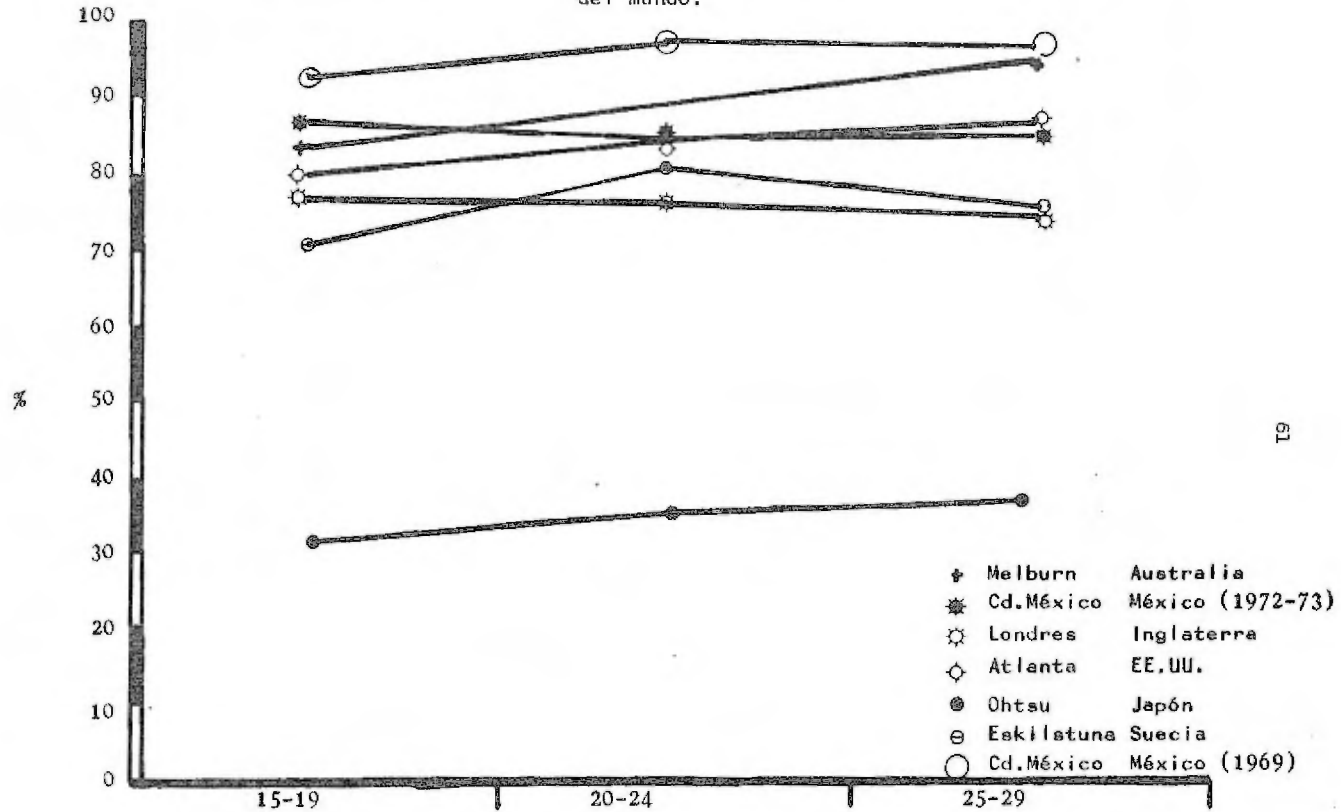
GRAFICA 7

Comparación de los porcentajes de protección obtenidos en este trabajo  
con los obtenidos por la Dra. Ordoñez



GRAFICA 8

Comparación de los porcentajes de protección en diversas ciudades del mundo.





una encuesta sero-epidemiológica entre un grupo de enfermeras y un grupo de mujeres que nunca habían trabajado en hospital, y obtuvo los siguientes datos:

Enfermeras entre 20 y 29 años:            92% de protección.  
Otras mujeres entre 20 y 29 años:        80% de protección.

Lo anterior indica que las enfermeras están un 12% más expuestas a contraer la infección que las demás mujeres.

Según la estadística presentada en este trabajo podemos suponer que en poco tiempo de trabajo en un lugar de alto riesgo, como un hospital o una escuela, las mujeres tendrán un porcentaje de susceptibilidad promedio de 2.87%.

## V DISCUSION Y CONCLUSIONES

---

### DISCUSION:

Hasta 1969, la rubéola no se consideró un problema real en México, puesto que la susceptibilidad a la enfermedad, según reportes de la Dr. Ordoñez, era tan baja, que resultaba incosteable cualquier proyecto tendiente a proteger a ese 3 ó 4% de población susceptible.

Este trabajo indica, que la situación, aparentemente ha cambiado y los resultados en por ciento de susceptibilidad a la enfermedad aumentan año con año, con el grave riesgo de que el número de protegidos no represente una barrera natural y se presente una epidemia de graves proporciones, ya que, aparentemente en la Cd. de México no hay barreras de tipo étnico o ecológico que impidan el paso de cepas teratogénicas, como posiblemente ocurre en Japón y Hawaii.

Analizando los datos obtenidos, puede observarse que en la Cd. de México, las variaciones en los porcentajes de susceptibles, con respecto a la edad, en la población femenina a partir de 15 años, son muy pequeñas. Si bien, contrariamente a lo esperado, los más bajos porcentajes de susceptibilidad se presentan entre los 15 y 19 años, lo cual hace suponer que la capital de la república mexicana, haya sufrido un brote epidémico a fines de 1968 o principios de 1969, época en que ese grupo que ahora tiene entre 15 y 19 años, tenía entre 11 y 15 años, justamente la edad en que con más frecuencia se presenta la infección.

Si se toma en cuenta que un 80% de las muestras utilizadas para este estudio pertenecen a estudiantes de enfermería, química y jóvenes próximas a prestar sus servicios en hospital, el riesgo que corre el grupo

de susceptibles (14.47%), de contraer la infección durante el embarazo se eleva 12% más según los datos reportados por Majer (37) en una encuesta comparativa entre enfermeras y mujeres de otras profesiones.

Como se dijo antes, quizá hace algunos años — la rubéola efectivamente no representaba un problema — para el país, sin embargo los porcentajes actuales de — susceptibilidad imponen una reconsideración a fin de plnear una campaña de control, la cual puede enfocarse por 3 caminos diferentes:

1o. Formar una barrera natural a la diseminación de la infección vacunando a los niños entre los 5 y los 14 años.

2o. Establecer un control serológico permanente entre las mujeres próximas a casarse y desde luego entre las personas con riesgo profesional, a fin de vacunar a aquellas que resulten susceptibles y evitar posibles infecciones durante el embarazo. La técnica de IHA resulta económica y sencilla, puesto que solamente se hará una determinación cualitativa de anticuerpos, y se — tiene la certeza de que un título superior de 1:10 es representativo de protección a la primo-infección.

3o. Practicar una determinación cualitativa de anticuerpos a toda mujer próxima a dar a luz, y si resulta susceptible vacunarla inmediatamente después del parto.

La vacuna que existe actualmente posee un poder antigénico excelente y se espera que el tiempo confirme la hipótesis de que protege de por vida.

El riesgo que presenta la vacuna es prácticamente nulo, y las posibilidades de viremia parece ser que no existen, además de que la aparición de reacciones secundarias es rara y muy leve.

## CONCLUSIONES:

1. Los porcentajes de susceptibilidad a la rubéola en la población femenina de la Cd. de México son lo suficientemente elevados como para tomar en serio un programa tendiente a proteger a las mujeres de una infección durante el embarazo.
2. El riesgo que tiene una mujer, a contraer la infección, es 12% mayor si trabaja en un hospital, y quízá más elevado si trabaja en una guardería, o en una Escuela, puesto que la rubéola en la niñez no amerita hospitalización.
3. Deberá exigirse como parte del examen médico de rutina, una titulación cualitativa de anticuerpos anti-rubéola a toda mujer que solicite trabajo en un hospital, escuela o guardería.
4. Efectuar una encuesta sero-epidemiológica periódica con el fin de orientar las campañas de prevención y tener siempre una idea clara de la susceptibilidad de la población.

BIBLIOGRAFIA

1. Alford, Ch. A. J., J. Shaefer and W.J. Blankenship. 1967. A correlative immunologic, microbiologic and clinical approach to the diagnosis of acute and chronic infections in newborn infants. New. Eng. J. Med. 277; 9, 437. England.
2. Alford, Ch., 1971. Immunoglobulin determinations in the diagnosis of fetal infections. Ped. Clin. North. Amer. 18, 1 USA.
3. Alford, Ch. A. 1973, Immunology of Rubella. Rubella. First Annual Symposium of the eastern Pennsylvania Branch American Society for Microbiology. Ed. Friedman H. and J.E. Prier. USA.
4. Amstey, M. S. 1969. Intra amniotic inoculations of rubella virus Amer. J. Obstet. Gynec. 104; 4, 573. USA.
5. Best, J. M., Banatvala, J.E. and Watson. 1969, Serum IgM and IgG responses in postnatally acquired rubella. Lancet. 2; 7611, 65. London.
6. Bomssol, D. 1970. Etude Cytochimique de cellules SIRC infectees par le virus de la rubeole. Ann.Inst. Pasteur. 118; 1, 102. Paris.
7. Bordley, J. E. and H. I. Hardy. 1969. Laboratory and Clinical observations on prenatal rubella. Ann. Otol. 78; 5, 917.
8. Brown, G. C., H.F. Maassab, J.A. Veronelli and T. Francis Jr. 1964 Rubella antibodies in human serum; detection by the indirect Fluorescent antibody technique. Science, 145, 943. USA.

9. Byme E. B., Petrell, R. L., W. Schaffner and M.C. - Hinchliffe. 1969 Rubella antibodies in Rhode Island Woman of childbearing age. Publ. Heth. Rep. 84, 2, 139, USA.
10. Cabasso, V. J., M.R. Stebbins, S. Karelitz, C.P. Gerini, J.M. Ruegsegger and M. Stillerman. 1967. Attenuation of rubella virus; Studies in monkeys and man. J. Lab. Clin. Med. 70, 429.
11. Cooper, L.Z. and Krugman, S. 1969. The Rubella problem. Disease- A Month. February USA.
12. Cussumano, C.L. 1966, Density Gradient centrifugation studies rubella virus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122; 461. USA.
13. Dent, P. B., G. B. Olson and R. A. Good. 1968. Rubella virus/leucocyte interaction and its role in the pathogenesis of the congenital rubella syndrome. - The Lancet. February 10. London.
14. Dickinson, P. C., T. Chang, and L. Weinstins. 1969. Association of lanthaneum staining material with HA rubella virus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132; 1,55 N.Y.
15. Dudgeon J. A. Congenital rubella. Patogenesis e immunology. 1969. Amer. J. Dis. Child. 118; 1, 35. - USA.
16. Eife, G. and Wog, T. 1970. Rotelnantikörper in der Weinblichen Boxolkerung. Much. Med. Wschr. 112, 709 Germany.
17. Fabiyi, A., J. L. Sever, N. Ratner and B. Caplan. 1967. Rubella Virus; growth characteristic and stability of infectious virus and complement-fixing antigen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122; 1137. USA.

18. Forbs, J. A., N. Bennett, and L. Mc K. 1969, Furter observations on rubella immunity in elective infection of human valunteers. J. Med. Aust. 56 II 24 - 1194. Austral.
19. Friedman, H. and J.E. Prier. Ed. 1973. Rubella. - First Annual Symposium of the eastern Bennisylvania Branch American Society from Microbiology. USA.
20. Fu Hsiang Tai and Shan Chu. 1968, Serological study of rubella virus infections in chinese famales by cultures of rabbit cornea. SIRC cells. Chine. J. Microbiol. 1; 3-4; 57-63.
21. Furukawa, T., Stanley, A., W.D. Plotkin, and M.L. Profeta. 1967 Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 126; 745.
22. Green, R. H., M. R. Balsamo, J.P. Giles, S. Krugman and G.S. Mirich 1965. Studies of the natural history and prevention of rubella. Amer. J. Dis. Child. 110; 348. USA.
23. Gregg, N.M. 1942. Congenital cataract following german measles in the mother. Trans. Ophthal. Soc. 3; 35. Australia.
24. Gutierrez, G., Ruiz-Gomez, J., Velzco-Cândano, L., y Baüggemann, C. 1970. Investigacion de anticuerpos antirubeola en poblacion infantil y en mujeres adultas en la Cd. de México. Arch. Inv. Med. 1; 1,63. México D.F.
25. Halonen, P. El, J.M. Ryan and J. A. Stewart. 1967. Rubella hemagglutinin prepared with alkaline extraction of virus grown in suspensiön culture of BHK cells. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125; 162 USA. <sup>21</sup>

26. Halstead, S. B. A. Diwan, and A. O. Oda. 1969. Susceptibility to rubella among adolescents and adults in Hawaii. J. Amer. Med. Ass. 210; 10, 1881. USA.
27. Hillenbrand, F.K. 1956, Rubella in a remote community. Landet 11,64 London.
28. Homes, I.M. and M.C. Wark. 1968. J. Gen. Virol. 2; 27.
29. Homes, H.H. and M. F. Warbuton. 1967. Is Rubella an arbovirus? Lancet, 2, 1233. London.
30. Horstmann, D.M. 1973. Serologic responses after primary infection and after reinfection with rubella virus. Rubella. Ed. by F. Friedman, Charles C. Thomas. Pub. USA.
31. Kono, R. 1969. Proceedings of the 23rd symposium of Microbiological standardization; Rubella vaccines. London. November 1968, Base Switzerland.
32. Lehmann, N.I., A.A. Femis, N. Mok Bennette and J.W. Newman. 1969 Rubella, Results of a serological survey of pregnant patients in Melbourne during 1968. Med. J. Aust. 1: 25; 1282. Australia.
33. Lennette, E.H. and N. J. Schmidt. Rubella technical problems in the performance of hemagglutination inhibitors. Calif. Med. 111; 5,351.
34. Lannette, E. and N.J. Schmidt. C Editores. 1969 - diagnostic Procedures for viral and Rickettsial Infections, American Public Health Association, Inc. 4th. Edition. N.Y. p. 364.
35. Lessps, R.J. 1967, The removal by phospholipase C of a layer of Lanthanum staining material external



- to the cell membrane in embryonic chick cell. Biol. 34; 173. USA.
36. Liebhaber, H. 1970. Measurement of rubella antibody by hemagglutination inhibition. II Characteristic of an improved HAI test employing a new method for the removal of non-immunoglobulin HA inhibitors from serum. J. Immun. 104; 826.
  37. Majer, R. 1967. Roteln epidemiologische Untersuchungen und Erfahrungen mit einem attenuierten Impfstoff (Cendehill strain) Helv. Paediat. Acta. 22; 579.
  38. Mann, J. J., R.D. Rossen, J.R. Lehigh and J. Kasel. The Effect of kaolin on Immunoglobulins; An improved technique to remove the nonspecific serum inhibitor of reovirus hemagglutination. J. Immunol. 98; 1136. 1967.
  39. Maurin J. Le virus de la rubeole. Bulletin de l'institut Pasteur No. 3, 483.
  40. Mehse, J. 1970. Rubella hemagglutination inhibition test using erythrocytes from albino pigeons. Amer. J. Clin. Path. 55; 269 USA.
  41. Mayer, H. M., par. Parkman, T. C. Panos. 1966. Attenuated rubella virus. New. Engl. J. Med. 275; 11. London.
  42. Mottirony, V. D. and P. I. Terosaki. 1970; Lymphocytotoxicity in disease infections mononucleosis, rubella and measles. Mundsgaard 301, Copenhagen.
  43. Mehese, J.H. 1970. Rubella Hemagglutination inhibition test using erythrocytes from Albino Pigeons. Amer. J. Clin. Path. 55;

44. Mottirony, V.D. and P.I. Terosaki. 1970. Lymphocytotoxins in disease. Infectious mononucleosis, rubella, and reasles. Mundsgaard, Copenhagen 301.
45. McCarthy, K. and C.R. Taylor-Robinson. 1967. Brit. Med. Bull. 23,185 London.
46. Nava, F.A. and T.H. Wellwer. 1964. Rubella interferon and factors influencing the indirect neutralization test for rubella antibody. J. Immunol. 93; 466.
47. Norrby, E. 1962. Hemagglutination by measles virus A simple procedure for production of high potency antigen for hemagglutination inhibition H.I. tests. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111;814 USA.
48. Ordóñez, B.R. 1969. Frecuencia de la rubéola en México; Investigación epidemiológica. Gac. Med. Méx. 99; 1163. México, D.F.
49. Oshiro, L.S., N.J. Schmidt, and E.H. Lennette. 1966 Electron microscopic studies of rubella virus. J. Gen. Virol. 5; 2; 205.
50. Papaevangelou, G., J. Mendris, and A. Kyriahidou. 1969. Rubella epidemic in a naval training center. Amer. J. Epidemiol. 89; 6. 665
51. Parkman, P.D., E.L. Buescher, M.S. Artenstein, J. M. McCown, K.F. Mendon and Druzd. 1964 Studies of Rubella. I Properties of the virus J. Immunol. 93; 595. USA.
52. Parkman, P.D., E.L. Buscher and M.S. Artenstein; 1962, Recovery of rubella virus from army recruits Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111; 225. USA.
53. Parkman, P.D., F.K. Mundon, J.M. McCown and E.L. Buescher. 1964 Studies of rubella, II neutralization of the virus. J. Immunol. 93, 608.

54. Parkman, P.D., H.M. Mayer, R.L. Kirschstein, and H.E. Hopps, 1966 New Englo. J. Med. 275, 569. London.
55. Pearay L. O. and J. Denneth Herd. 1971. Arthritis associated with induced rubella infection. J. Immunol. 107, 3; 810. USA.
56. Phillips, D.A., A.M. Behbehaini, I.W. Johnson and J.I. Melnick 1965 J. Amer. Med. Ass. 191, 615. USA
57. Pizarro-Suárez, E. 1971, Los Virus. OEA Washington D.C. USA.
58. Prinzie, A., C. Hugelen, J. Golden, J. Mc Kee. 1968 Clinical Studies with an experimental live attenuated rubella virus vaccine (cendehill strain) 23rd Symposium on microbiological standardization, rubella vaccines. International Association of Microbiological Societies. London, November.
59. Renaudet, J., R. Sugneirin, R. Maginin and M.F. Marchal. 1969. Enquete serologique sur l'immunite naturelle contre la rubella dans la région grenobloise. Rev. Hyg. Med. Soc. 17; 8 687 1969.
60. Rusell, B., G. Selzer, and H. Goetze. 1967. The particle size of rubella virus. J. Gen. Virol. 1; 305.
61. Sever, J. L., Rl J. Huebner, C.A. Castellano, P.S. Sarma, A. Fabiyi G. M. Schiff, and C.L. Cussumano 1965 Rubella complement fixinin test. Science. 148; 385. USA.
62. Shortridge, K.F., F. Biddle and D.S. Peper. 1972. Rubella virus nonspecific haemagglutination inhibitor. Evidence for the role of glycolipid bound to low density (beta) lipoprotein. Clin.Chim.Acta 42; 285.

63. Stewart, G.L., P.D. Parkman, H.E. Hopps, R.D., Douglas, J.P. Hamilton and M. Meyer jr. Rubella-virus Hemagglutination-Inhibition test. New. Engl. J. - Med. 276; 564. 1967.
64. Stout, M., B.R. James, J. Lee and A. M. Murphy. - 1969 An evolution of the haemogglutinin inhibition test as a did to the diagnosis of rubella. Med. J. Aust. 59; II 19 941.
65. Trabaut, A. and Canayer H. 1969, L'etiologie des - exantheses febriles en milieu militaire et la reaction D'inhibition de l'hemagglutination applique - du virus de la rubeole. Rev. Immunol. 33; 4-5 259. France.
66. Thompon, K.M. and Tobin, J. O. 1970, Isolation of rubella virus from abortion material. Brit. Med. - J. 2/5704 264. London.
67. Thomssen, R., R. Laufs and J. Muller, J. 1968. - Physikalische Eigenschaften und Partikelgrößen - des rubella virus. Arch. Ges. Virusforsch 23; 332 Germany.
68. Vesikari, T. Veheri, A., O. and Kunnasm, M. 1969. Congenital rubella; Immune response of the neonate and diagnosis by demonstration of specific IgM anti bodies. J. Pediat. 75; 4, 668. USA
69. Vesikari T., Veheri A. and M. Kauppinen. 1968. Incidence of rubella hamagglutination-inhibitins antibody in famale subjects in Helsinki. Ann. Med. - Exp. Fenn. 46, 109. Finland.
70. Von Bonsderff and Veheri A. 1969. Growth of rubella virus in BHK-21 cells electron microscopy of - morphogenesis. J. Gen. Virol. 5; 1 47.

71. Walson, G.J. and McDonald J.C. 1963. The infectiousness of rubella. Brit. Med. J. 111, 419. London.
72. Weller, T. H. and F. A. Neva; 1962. Propagation in tissue culture of cytopathogenic agents from patients with rubella like illness. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 111; 215 USA.
73. Wesselhoeft, 1947. Rubella. New Eng. J. Med. 236; 947. London.
74. Witte, J.J. and A. W. Karchmen. 1969 Epidemiology of Rubella. Amer. J. Dis. Child. 118; 107 USA.