

EL DIAGNOSTICO DE LA VIRUELA POR MEDIOS DE LABORATORIO EN LAS AMERICAS

Dres. John Noble,¹ Luis F. Salles Gomes,² Bichat de A. Rodrigues³ y Alfredo N. Bica⁴

Con el objeto de facilitar la confirmación del diagnóstico de la viruela por medios de laboratorio, se han introducido métodos uniformes de diagnóstico en los diferentes laboratorios de las Américas. Desde 1966, la viruela ha sido confirmada en el 21% de los casos clínicamente sospechosos habidos en el Hemisferio.

La OPS ha prestado apoyo activo a los programas de erradicación de la viruela en las Américas desde 1949.⁵ En muchos países la enfermedad ha sido erradicada satisfactoriamente y, en la actualidad, se está atacando en el Brasil, mediante una campaña intensiva en todo el país, el único foco endémico que resta en el Hemisferio. La erradicación de la viruela se efectúa, allí, con arreglo a un programa de dos fases: una fase inicial de ataque consistente en la vacunación colectiva, seguida de otra fase de mantenimiento, fundada en la vigilancia epidemiológica.

La identificación de brotes y la confirmación de casos de viruela por pruebas de laboratorio constituye una parte esencial de la fase de mantenimiento de la erradicación de la enfermedad. La viruela ha de distinguirse de la varicela y demás enfermedades vesiculares para permitir la vacunación de todos los contactos variólicos y de todos los habitantes de las localidades en que la enfermedad persista. Si bien un caso característico de viruela es fácil de identificar, la viruela leve o modificada por la vacuna puede resultar clínicamente indistinguible de otros exantemas vesiculares.

En 1966, la OSP, en colaboración con el Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, Brasil) y el Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles (Atlanta, Georgia, E.U.A.), organizó cursos relativos al diagnóstico de la viruela por medios de laboratorio. Los cursos tuvieron por objeto introducir métodos uniformes de diagnóstico en los laboratorios nacionales de virus de América Central y del Sur. Estos laboratorios podrían, así, comprobar especímenes procedentes de casos sospechosos de viruela y, de aislarse el virus de esta, se confirmaría el diagnóstico clínico. En 1966, se ofrecieron dos cursillos de seis días y, en 1967, uno de nueve días en el Instituto Adolfo Lutz.

En dichos cursos participaron veintisiete virólogos, dedicados a trabajar activamente en la virología de diagnóstico o en la producción de vacuna antivariólica, y que fueron seleccionados en trece países (figura 1). Además, asistieron a los cursillos ocho epidemiólogos, tres administradores de salud pública y dos estudiantes graduados en microbiología. Entre las materias del cursillo figuraba un análisis de la patogénesis y diagnóstico clínico de la viruela. Se describieron las pruebas de laboratorio para la confirmación de la viruela durante cada una de las fases de la enfermedad, y se preparó y utilizó el manual de laboratorio: "Pruebas normales para el diagnóstico de la viruela". Se dieron clases sobre epidemiología de la

¹ Jefe, Laboratorio de Enfermedades Vesiculares, Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles de los Estados Unidos de América, Atlanta, Georgia.

² Jefe, Sección de Virología, Instituto Adolfo Lutz.

³ Asesor Regional de Viruela, OPS.

⁴ Jefe, Departamento de Enfermedades Transmisibles, OPS.

⁵ Véase el Boletín de la OSP, febrero de 1967, págs. 166-167.

FIGURA 1—Laboratorios para el diagnóstico de la viruela en las Américas.



enfermedad, producción de vacuna y progresos recientes en la investigación de virus variólicos. Los cursantes examinaron enfermos de viruela en el Hospital de Enfermedades Infecciosas "Emilio Ribas" (São Paulo), tomaron muestras y las cultivaron en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados, así como en cultivos tisulares. También efectuaron pruebas de difusión de los especímenes en agar gel. Se hizo hincapié en la diferenciación de la viruela con respecto a la vaccinia, vacuna, herpes simple y varicela, en ejercicios de laboratorio, realizándose demostraciones del microscopio electrónico y de las pruebas de fijación del complemento e inhibición de la hemaglutinación.

En 1968 se celebró, en el Instituto Oswaldo Cruz, de Río de Janeiro, un seminario destinado a que los participantes en los cursos anteriores analizaran la verificación del diagnóstico de la viruela y la producción de vacuna. Asistieron dieciséis virólogos procedentes de nueve países sudamericanos, además de otros procedentes de Canadá, Suecia y Estados Unidos.

En el anexo I aparece un resumen de los resultados obtenidos en las pruebas en cada uno de los laboratorios de los participantes, desde 1966 hasta septiembre de 1968.

De enero de 1966 a septiembre de 1968 se recibieron en los laboratorios 802 especímenes. Se sospechó la existencia de viruela en 688, o sea, en el 83% de los casos. El virus de la viruela fue aislado de 139 especímenes, confirmandose, pues, la existencia de la enfermedad en el 21% de estos casos. Los casos variólicos fueron localizados en zonas en que los epidemiólogos habían identificado epidemias de viruela. No existió prueba alguna de falso diagnóstico positivo de viruela en ninguno de los laboratorios.

En este momento no se puede determinar la incidencia de pruebas negativas falsas en relación con la viruela. Los especímenes cuantitativamente escasos, la falta de antecedentes acerca de los infectados sospechosos de viruela y la inexistencia de pruebas serológicas impiden este análisis. Sin embargo, la precisión de las pruebas de diagnóstico en países no endémicos queda bien ilustrada con los siguientes ejemplos.

En agosto de 1968, se descubrió un caso sospechoso de viruela en la frontera uruguayo-brasileña, que se había visto libre de viruela y de casos sospechosos de la enfermedad desde hacía dos años. Las muestras se enviaron al Instituto de Higiene, donde se efectuó un diagnóstico preliminar mediante la prueba de agar gel, con la que se demostró la existencia de antígeno de virus variólico en las costras. Dicho virus se aisló en huevos en el primer pase.

Otro ejemplo se refiere a trece casos de viruela descubiertos, en 1966, en un brote peruano bien localizado. El virus fue aislado de muestras tomadas de tres de estos pacientes en el Instituto Nacional de Salud, de Lima, Perú.

Finalmente, en un estudio de cincuenta enfermos brasileños de viruela, el virus fue aislado en el 97% de las muestras, mediante cultivos en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados. En el 84%

de estos especímenes se obtuvo resultado positivo en la prueba de agar gel.⁶

La infección variólica se ha confirmado mediante pruebas de laboratorio efectuadas en muy distintas clases de especímenes. Desde 1966, costras, fluido vesicular y pustular tomado en tubos capilares, láminas de frotis de material de las lesiones y orina fueron comprobados en el Instituto Adolfo Lutz. El aislamiento del virus de los frotis de fluidos vesicular y pustular en láminas de vidrio no ha resultado satisfactorio. En los laboratorios del Instituto Adolfo Lutz, Escuela Nacional de Salud Pública, de Río de Janeiro, y del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, de Atlanta, Georgia, E.U.A., se ha observado que los especímenes así tomados de enfermos de viruela daban, frecuentemente, resultados negativos. Cuando se hayan de utilizar láminas de vidrio para la toma de muestras, estas habrán de enviarse y almacenarse en forma congelada y cultivarse lo antes posible.

En el diagnóstico diferencial de la viruela en los países no endémicos han de tenerse en cuenta numerosos trastornos difíciles de diagnosticar en el laboratorio. En 1967, se recibieron en el Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles (E.U.A.) muestras de 12 sospechosos de viruela. En todas las pruebas de estos especímenes se obtuvo resultado negativo para esta enfermedad. El resumen de los resultados de laboratorio y datos clínicos subsiguientes es: cinco pacientes tenían varicela, dos sufrían de una complicación de la vacunación, uno padecía de herpes simple y cuatro tenían síndromes no víricos (un síndrome de Stevens Johnson, una urticaria, una picadura de insecto, una infección de pseudomonas).

Durante el seminario se determinaron diversas zonas dificultosas, formulándose planes para el futuro. La prueba confirmatoria de la varicela es imprescindible porque esta enfermedad se confunde muy a menudo con la viruela. En la actualidad, no se dispone de reactivos para la prueba de agar

gel de la varicela y la prueba de fijación del complemento no se efectúa en muchos de los laboratorios. Por consiguiente, se ha dispuesto lo necesario para enviar especímenes de suero a los laboratorios regionales en que puedan realizarse pruebas serológicas completas de todas las enfermedades vesiculares. Es fundamental mantener la capacidad de diagnóstico en los países en que la viruela ha sido erradicada. Desde el Laboratorio Regional de Referencia de la OMS (Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, Atlanta, Georgia) se enviarán especímenes de prueba a cada uno de los laboratorios, cada cuatro meses, con el fin de facilitar una práctica constante al personal correspondiente y verificar la exactitud de los métodos de diagnóstico de laboratorio.

Se tiene previsto celebrar seminarios bienales acerca del diagnóstico de la viruela en el laboratorio, para que los virólogos de todo el Continente puedan continuar el intercambio de experiencias e información. A medida que la erradicación de la viruela vaya acercándose a su fin, podrán tratarse en estos seminarios otras enfermedades víricas y métodos virológicos.

Resumen

La diferenciación de la viruela de otras enfermedades vesiculares constituye una parte esencial de la fase de mantenimiento del programa de erradicación. Una activa participación del laboratorio es imprescindible para dicho propósito.

Con el fin de introducir métodos uniformes de diagnóstico en los laboratorios de Centroamérica y Sudamérica y estudiar los diversos aspectos de la producción de vacuna antivariólica, la OSP, en colaboración con el Instituto Adolfo Lutz, del Brasil, y el Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, de los Estados Unidos, organizó en 1966-1967 tres cursos en la ciudad de São Paulo, en los que participaron 27 virólogos. Igualmente, en 1968 se celebró en Río de

⁶ Noble, J. Datos inéditos.

Janeiro un Seminario, en el cual se analizaron los resultados de los especímenes sospechosos de viruela estudiados en los Laboratorios de la Región entre enero de 1966 y septiembre de 1968.

Se ha previsto celebrar seminarios biena-

les con el fin de que los virólogos del Continente puedan continuar el intercambio de experiencias e información, de modo que, una vez erradicada la viruela, puedan los laboratorios extender sus actividades a otras enfermedades víricas. □

Anexo I

Resumen de las pruebas de laboratorio para enfermedades vesiculares en las Américas, 1966-1968.^a

País	Fecha	Laboratorio	No. de especímenes	Diagnóstico clínico	Confirmaciones del diagnóstico clínico en el laboratorio	
Argentina	1965	Instituto Nacional de Micro-	15	? Viruela	1	
	1966	biología	52	? Viruela	12	
	1967	Dres. Pfeifer y Vilches	67	? Viruela	8	
	1968		15	? Viruela	0	
Bolivia	1968	Instituto Nacional de Bacteriología	2	? Viruela	0	
Brasil	1966	Dr. Murillo	36	? Viruela	17	
		Instituto Adolfo Lutz	17	Herpes simple	7	
		Dr. Salles Gomes	106	Viruela	58	
			22	Herpes simple	12	
			5	Varicela	0	
	1967			1	Vaccinia	1
				43	Viruela	17
				10	Herpes simple	3
				2	Varicela	0
	1968			1	Vaccinia	1
				30	? Viruela	14
			3	? Viruela	3	
Canadá ^b	1967	Edmonton	1	? Viruela	0	
	1968		1	? Viruela	0	
	1968	Vancouver	1	? Viruela	0	
Chile	1966-1967	Instituto Bacteriológico	9	Viruela	0	
		Dr. Pearson	12	Vaccinia	5	
	1968		3	Viruela	0	
Colombia	X 1966-V 1967	Instituto Nacional de Salud	42	? Viruela	0	
	VIII 1967-IX 1968	Dr. Juliao	175	? Viruela	0	
Costa Rica	1966	Ministerio de Salubridad Pública	0	—	—	
		Dr. Vargas				
Cuba	—	—	—	—	—	
Ecuador	1966	Instituto Nacional de Higiene	10	? Viruela	0	
	1967	Dr. Gutiérrez	11	? Viruela	0	
	1968		1	? Viruela	0	
México	1967	Instituto Nacional de Virología	0	—	—	
		Dr. López				

^a En los resultados de 1968 quedan comprendidos todos los especímenes recibidos hasta fines de agosto.

^b Si bien los laboratorios canadienses no participaron en los cursillos de viruela, estos datos fueron facilitados amablemente por el Dr. F. P. Nagler, Jefe de los Laboratorios de Virus, Ottawa.

? = Caso sospechoso.

Anexo I (Continúa)

País	Fecha	Laboratorio	No. de especímenes	Diagnóstico clínico	Confirmaciones del diagnóstico clínico en el laboratorio
Paraguay	1965	Instituto Nacional de Microbiología (Buenos Aires, Argentina) Dr. Ruiz	8	? Viruela	5
Perú	1966	Instituto Nacional de Salud Dr. Carrillo	3	? Viruela	3
	1967		0	—	—
	1968		0	—	—
Uruguay	1966	Instituto de Higiene Dr. Assandri	0	—	—
	1967		0	—	—
	1968		1	? Viruela	1
Venezuela	—	—	—	—	—
Estados Unidos	1966	Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles Dr. Noble	17	? Viruela	0
			29	Vaccinia Herpes o varicela	11
	1967		12	? Viruela	0
			3	Herpes simple	3
			18	Varicela	7
			4	? Viruela	0
			8	Vaccinia	7
			2	Herpes simple	2
	1968		4	Varicela	3

? = Caso sospechoso.

No. total de especímenes comprobados	802	No. total de diagnósticos de laboratorio positivos	201	% de diagnósticos positivos	25%
No. de casos sospechosos de viruela estudiados mediante prueba de laboratorio	668	Confirmación de la viruela por medios de laboratorio	139	% de confirmaciones de viruela	21%

Laboratory Diagnosis of Smallpox in the Americas (Summary)

The differentiation of smallpox from other vesicular diseases is an essential part of the maintenance phase of smallpox eradication, and therefore requires active laboratory participation.

In order to introduce standard diagnostic techniques to national virus laboratories in Central and South America and to study several aspects of smallpox vaccine production, the Pan American Sanitary Bureau in cooperation with the Institute Adolfo Lutz (São Paulo, Brazil) and the National Communicable Disease Center (Atlanta, Georgia, USA) organized

three courses at which 27 virologists participated. A seminar was also held in Rio de Janeiro in 1968 to study the results of smallpox suspect specimens examined at laboratories of the area between January 1966 and September 1968.

Biennial seminars are being planned in order that virologists throughout the Western Hemisphere may continue to exchange experiences and information, and that once smallpox eradication is accomplished, the laboratories may deal with the other viral diseases.

O Diagnóstico de Laboratório da Varíola nas Américas (Resumo)

O diagnóstico diferencial da varíola com outras doenças vesiculares é atividade essencial da fase de manutenção do programa de erradicação. O laboratório desempenha nessa atividade função indispensável.

Empenhada em implantar técnicas de

diagnóstico uniformes nos laboratórios da América Central e do Sul e incentivar a produção de vacina antivariólica, a Repartição Sanitária Pan-Americana organizou na Capital de São Paulo, em colaboração com o Instituto Adolfo Lutz do Brasil e o Centro Nacional de

Doenças Transmissíveis dos Estados Unidos, três cursos que contaram com a participação de 27 virologistas. Em 1968, no Rio de Janeiro, realizou-se também um seminário durante o qual foram estudados os resultados dos exames de material suspeito efetuados pelos laboratórios locais de janeiro de 1966 a

setembro de 1968.

Está prevista a realização de seminários bienais para que se mantenha entre os virologistas do Continente o intercâmbio de experiência e informação e os laboratórios possam assim, erradicada a varíola, estender suas atividades a outras viroses.

Le diagnostic de la variole à l'aide des laboratoires dans les Amériques (Résumé)

La distinction entre la variole et les autres maladies vésiculaires constitue un élément essentiel de la phase d'entretien du programme d'éradication. Une participation active du laboratoire est indispensable à cette fin.

Dans le but de faire adopter des méthodes de diagnostic uniformes par les laboratoires de l'Amérique centrale et de l'Amérique du Sud, et d'étudier les divers aspects de la production du vaccin antivariolique, l'Office Sanitaire Americain, avec le concours de l'Institut Adolfo Lutz du Brésil et du Centre national des maladies transmissibles des Etats-Unis, a organisé dans la ville de São Paulo trois cycles d'études

auxquels ont participé 27 virologues. En outre, un Séminaire a eu lieu en 1968 à Rio de Janeiro au cours duquel les participants ont examiné les résultats de specimens de variole suspects étudiés dans les laboratoires de la région entre janvier 1966 et septembre 1968.

On se propose d'organiser des séminaires tous les deux ans pour permettre aux virologues du continent de continuer à comparer les données de leurs expériences afin que les laboratoires puissent étendre leurs activités à d'autres maladies virales une fois que la variole aura été éradiquée.

MALARIA EN LOS ESTADOS UNIDOS

Ségun informes de la OMS, los 2,815 casos de malaria descubiertos en los Estados Unidos en 1967 constituyeron un aumento sobre los años anteriores debido, casi en su totalidad, al número de casos importados, particularmente entre el personal militar procedente de Viet-nam. Del total de casos descubiertos sólo siete tuvieron origen en los Estados Unidos, de los cuales: dos fueron introducidos por personal militar; tres fueron inducidos, y los dos restantes fueron un caso de malaria congénita y un criptogénico, respectivamente.

Del total de casos importados (2,808), originaron en Vietnam 2,629 (93.6%) y, de estos, 2,623 fueron descubiertos entre el personal militar y seis entre civiles. De los otros 179 casos importados, 44 fueron descubiertos entre el personal militar y 135 entre civiles. De ellos, 68 se importaron de Africa, 63 de Asia (excepto Vietnam), 18 de América Central, 6 de Sudamérica, 3 de México y 21 no fueron especificados.

Entre los 2,815 casos se identificó la especie *Plasmodium* en 2,735, de los cuales 2,290 eran *vivax*, 362 *falciparum*, 18 *ovale*, 19 *malariae* y 46 eran infecciones mixtas. Se descubrió que en 1,499 casos atribuidos al *P. vivax* y que fueron tratados con primaquina, la tasa de recaídas fue de 10.1% en comparación con 21.2% entre los que no la recibieron.

De los casos originados en los Estados Unidos, los dos únicos casos introducidos se dieron en un campamento militar donde tres meses antes se habían descubierto 68 casos importados; los tres casos inducidos estaban relacionados con casos importados de donantes de sangre y el caso congénito ocurrió en el niño de un inmigrante infectado. Sin embargo, no se pudo establecer ninguna relación entre el caso clasificado como criptógeno y otro caso de malaria. [*WHO Weekly Epidemiological Record* 43 (42):529-540, 1968.]