

Circulación de la parotiditis en Cuba en el periodo de enero 2017 – diciembre de 2019

Autora: Marialys Linares Barrios

Tutoras: Lic. Lissette Pérez, DrC.

Lic. Yahisel Tejero Suárez, MSc.

Asesora: Dra. Suset Oropesa, MSc



Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

Laboratorio de Diagnóstico y Rabia

**Circulación de la parotiditis en Cuba en el periodo de
enero 2017 – diciembre de 2019**

Autora: Marialys Linares Barrios

Tutoras: Lic. Lissette Pérez, DrC.

Lic. Yahisel Tejero Suárez, MSc.

Asesora: Dra. Suset Oropesa, MSc

Tesis para optar por el grado de Máster en Virología

La Habana, 2022

Agradecimientos

En primer lugar agradezco Dios por haber propiciado esta oportunidad de realizar mi maestría.

A mis tutoras, la DrC. Lisette Pérez y MsC. Yahisel Tejero; y a mi asesora Dra. Suset Oropesa; por sus enseñanzas, comprensión y por todo el tiempo dedicado a esta tesis.

A mis compañeros Nankyu, Dianelvys, Teresa, Mandy, Celeste y Cinthia, por haberme brindado apoyo en este largo viaje de casi tres años. También le agradezco a Yenys por sus consejos y ayuda en la confección del documento y de la presentación digital.

A Ángeles y Lirialys por animarme en momentos difíciles, especialmente en la última etapa de la tesis.

A Delmis, por ofrecerme parte de su tiempo y colaboración para la preparación de los gráficos y tablas epidemiológicas.

A mis colegas del Departamento de Virología por ofrecerme su ayuda y experiencia.

A mis amigos María Josefa, Yoslan, Ulsino, por el apoyo y la fe que me ofrecieron para que no me desanimara en el camino; y también por sus consejos.

A mi familia, por toda su paciencia y amor.

A todos, muchísimas gracias.

Resumen

La parotiditis es una enfermedad aguda causada por el virus del mismo nombre, aunque popularmente se conoce como paperas. Este padecimiento se reconoce por la presentación de un síntoma clásico: el aumento de volumen de las glándulas parótidas. Aunque no es una infección que conlleve a la muerte, sí puede ocasionar varias complicaciones, como son la orquitis, la meningitis o la pérdida de la audición de forma temporal. Teniendo en cuenta la cantidad de personas confirmadas con la infección que se presentaron en Cuba después de un periodo en el que no se reportaron casos positivos a este virus, se diseñó un estudio de corte transversal con componente analítico para detallar el comportamiento de la enfermedad y del virus en esos años, 2017 a 2019. En el mismo se describió la prevalencia de la enfermedad por género, edad y por provincias, así como también se determinaron los genotipos virales causantes de estos brotes en el país. Para realizar el diagnóstico se emplearon las técnicas de inhibición de la hemaglutinación y también la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), además, se utilizó la secuenciación nucleotídica para el hallazgo de los genotipos. Un total de 1266 personas padecieron la enfermedad, siendo la mayoría del sexo masculino y entre las edades de 16 a 20 años de edad. La Habana, Artemisa y Villa Clara fueron las provincias donde más prevalencia de la infección hubo. Los genotipos A y G del virus fueron los desencadenantes de estos brotes.

Lista de abreviaturas

VP- Virus de la Parotiditis

ARN- Ácido Ribonucleico

SH- pequeña hidrofóbica, del inglés *Small Hydrofobic*

OMS- Organización Mundial de la Salud

PRS-Parotiditis Rubeola Sarampión

NP- Nucleoproteína

P- Fosfoproteína

M- Proteína de Matriz

F- Proteína de Fusión

HN- Hemaglutinina- Neuroaminidasa

L- polimerasa

ARNm- Ácido Ribonucleico mensajero

Ph- Medida del grado de acidez o alcalinidad de una sustancia o solución.

STAT- Transductor de Señal y Activador de Transcripción, del inglés *Signal Transducer and Activator of Transcription*

IFN- interferón

IL- interleuquina

LCR- Líquido Cefalorraquídeo

SNC-Sistema Nervioso Central

JL-Jeryl Lynn

L3- Leningrado 3

L-Zagreb- Leningrado Zagreb

RIT- cepa derivada de Jeryl Lynn

MRC-5 - Cepa celular 5 del Consejo de Investigación Médica del Reino Unido

PCR- Reacción en cadena de la polimerasa

ELISA- enzimoimmunoanálisis de adsorción

RT-PCR- Reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción

IH- Inhibición de la Hemaglutinación

IgM-Inmunoglobulina M

IgG- Inmunoglobulina G

BSC-1- células epiteliales de origen renal de mono verde africano, del inglés
epithelial cells of African Green monkey kidney origin

MDCK- Riñón Canino Madin Darby, del inglés Madin Darby Canine Kidney

HeLa- células derivadas de una muestra de cáncer cérvico-uterino de una paciente llamada Henrietta Lacks.

PR-Pinar del Río

Art-Artemisa

LH- La Habana

May- Mayabeque

IJ- Isla de la Juventud

MT- Matanzas

VC- Villa Clara

CF- Cienfuegos

SS- Sancti Spíritus

CA- Ciego de Ávila

CG- Camagüey

LT- Las Tunas

HOL- Holguín

GR- Granma

SC- Santiago de Cuba

GT- Guantánamo

PBS- Phosphate Buffered Saline

AVL- Buffer Lisis

TA- Temperatura Ambiente

AW1- Buffer de Lavado 1

AW2- Buffer de Lavado 2

AVE- Buffer de elución

cDNA- Ácido desoxirribonucleico complementario

Taq DNA Polimerasa- ADN polimerasa termoestable, del inglés *Thermostable DNA polymerase*

RNasa- enzima nucleasa que cataliza la hidrólisis de ARN.

EDTA- ácido etilendiaminotetracético.

TBE- disolución tampón formada por Tris, borato y EDTA.

DTCS- Secuenciación cíclica del terminador, del inglés *Dye Terminator CycleSequencing*

BLAST- Herramienta básica de búsqueda de alineación local, del inglés *Basic Local Alignment Search Tool*

EPIDAT- programa para análisis epidemiológico de datos tabulados.

CITMA- Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.

Contenido

Introducción	11
Objetivos	14
Revisión Bibliográfica	15
Historia	15
Morfología, genoma y proteínas virales	16
Estructura y función de las proteínas virales	17
Replicación	20
Etapas de la replicación.....	20
Patogénesis	23
Modelos animales	23
Manifestaciones clínicas y complicaciones.	25
Vacunación contra el virus de la parotiditis.....	28
Diversidad de las vacunas anti parotidíticas	29
Brechas persistentes en la eliminación de la parotiditis.....	32
Epidemiología.....	34
Epidemiología molecular.....	36
Diagnóstico.....	37
Diagnóstico diferencial.....	37
Diagnóstico de laboratorio	37
Tratamiento y Profilaxis	39
Materiales y Métodos	40
Definición de caso	41
Criterios de inclusión:.....	42
Criterios de exclusión:	42
Operacionalización de las variables	43
-Colecta, traslado al laboratorio y almacenamiento de las muestras.....	44
-Flujo de trabajo	50
RESULTADOS	51
1. Determinar la frecuencia de infección del virus de la parotiditis en Cuba en el periodo de enero 2017 a diciembre 2019	51

2. Definir la relación entre la positividad al virus de la parotiditis y las variables demográficas y epidemiológicas, en el periodo analizado.....	52
3. Identificar los genotipos circulantes del virus en el periodo de estudio.	58
Discusión	62
Conclusiones	75
Recomendaciones	76
Bibliografía	77

Introducción

La parotiditis es una enfermedad aguda, causada por el virus de la parotiditis (VP). El VP pertenece al género *Rubulavirus* de la familia *Paramyxoviridae*. Es un virus envuelto compuesto de una hebra simple de ácido ribonucleico (ARN) que codifica para ocho proteínas. El VP presenta un único serotipo, sin embargo basados en la secuencia nucleotídica completa del gen small hydrofobic (SH, por sus siglas en inglés), que codifica a la proteína pequeña hidrofóbica, existen 12 genotipos distintos, ordenados de la letra A a la N (excluyendo E y M) **(1)**.

Clínicamente, la infección por este virus, que se presenta por lo general de forma benigna (leve), está caracterizada por la inflamación de las glándulas parótidas y salivales; sin embargo, puede provocar diversas complicaciones a nivel sistémico. Del 15-30% de los enfermos adultos padecen orquiepididimitis y en el 10% de los infectados, compromiso del sistema nervioso central, como meningitis y, en forma muy infrecuente, encefalitis. Otras manifestaciones inusuales son la hipoacusia permanente unilateral, miocarditis, tiroiditis o hepatitis, presentes en menos del 5% de los enfermos **(2)**.

La estrategia más eficaz de prevención de esta infección es la vacunación, la cual la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda para todos los países que poseen un programa ampliado de inmunizaciones. La misma, consiste en la vacunación de parotiditis junto con rubéola y sarampión en una formulación triple viral **(3)**. Actualmente, las cepas vacunales de parotiditis más utilizadas son: Jeryl Lynn, RIT 4385, Urabe-AM9, Leningrado-3 y Leningrado-zagreb **(4)**.

El inicio de la vacunación generó cambios a nivel epidemiológico. Se trasladó la edad de presentación clínica de la parotiditis de niños y adolescentes (en la etapa pre vacunal) a adultos jóvenes (en la etapa post vacunal); además ocurrió una variación en el número de casos **(5)**. Antes de la vacunación, la parotiditis era una enfermedad contagiosa y severa con una alta morbilidad, aproximadamente de 40 a 726 casos por 100 000 habitantes por año. En esta etapa la enfermedad circulaba endémicamente con un pico periódico de dos a cinco años y una

incidencia máxima de la infección en niños de cinco a siete años en varias regiones a nivel mundial. El inicio de la vacunación trajo consigo una disminución significativa en la tasa de incidencia de la parotiditis, aproximadamente de 1-30 casos por 100 000 habitantes por año; así como una disminución del riesgo de ocurrencia y de las complicaciones asociadas a la enfermedad **(6)**.

Después del año 2000 se comenzaron a reportar casos en poblaciones con alta cobertura de vacunación. Aún no son claras las causas de brotes en estas comunidades, pero se estudian factores potenciales que contribuyan a la aparición de los mismos. Entre ellos se encuentran: la baja o incompleta cobertura de vacunación, fallos en la vacunación primaria, la variación antigénica, fallo en la vacunación secundaria y la pérdida de la inmunidad **(7)**.

Es importante destacar que, molecularmente, el virus también presenta una amplia distribución. Los genotipos C, G, H, J y K fueron observados en el Hemisferio occidental, mientras que los genotipos B, F, I y L predominan en Asia. Diferentes genotipos pueden co-circular en un mismo país. Por ejemplo, múltiples genotipos, B, G, I, J y L fueron reportados en Japón en la década de los 1990s y; C, D, G, H y J en el Reino Unido antes del resurgir del genotipo G desde 2004 a 2013. Solo seis de estos doce genotipos han estado circulando desde el 2010 incluyendo el genotipo G (52%), H (16%), C (12%), F (8%), K (8%) y D (4%) **(8)**. Estos datos sugieren que el virus de la parotiditis continúa siendo un problema de salud pública.

Nuestro país no escapa a esta situación. Cuba cuenta con un amplio programa de vacunación, el cual incluye la vacuna Parotiditis- Rubeola-Sarampión (PRS). Cuando se introdujo, el número de casos y complicaciones asociadas disminuyó considerablemente. Sin embargo, se comenzó a observar a partir del año 2004, un incremento en el número de personas con esta enfermedad. En el año 2007 se recibió en el laboratorio un total de 6937 muestras con diagnóstico clínico de parotiditis, de las cuales, 1284 fueron positivas a la infección viral. Cuba experimentó en ese periodo el mayor número de casos de parotiditis desde la introducción de la vacuna triple vírica en 1986 **(9, 10)**.

Después, una segunda dosis de la vacuna PRS fue añadida al programa de inmunización para niños de seis años de edad. Luego de la implementación de la segunda dosis la incidencia de la enfermedad decreció notablemente hasta 2016 **(10)**.

Teniendo en cuenta que en los últimos dos años (2017-2019), antes de la pandemia, se observó un incremento en el número de muestras recibidas en el laboratorio y diagnosticadas con esta enfermedad, nos proponemos realizar una descripción de las características epidemiológicas de los casos y una caracterización molecular de los virus que circularon esos años. Los resultados derivados de la investigación pudieran contribuir a reforzar las labores que se realizan para la prevención y el control de brotes por este virus en Cuba.

Objetivos

Objetivo general:

Describir la circulación del virus de la parotiditis en Cuba y su relación con variables demográficas y epidemiológicas, durante el periodo de enero 2017 a diciembre 2019.

Objetivos específicos:

1. Determinar la frecuencia de infección del virus de la parotiditis en Cuba en el periodo de enero 2017 a diciembre 2019.
2. Definir la relación entre la positividad al virus de la parotiditis y las variables demográficas y epidemiológicas, en el periodo analizado.
3. Identificar los genotipos circulantes del virus en el periodo de estudio.

Revisión Bibliográfica

Historia

La parotiditis es una enfermedad recibió numerosas denominaciones a lo largo de la historia: *parotis maligna polymorpha*, *cynanche parotideae-maxillaris*, angina externa parotideae, *sialadenitis psyetica*, *catarrhus bellinsulanus*, angina acuosa, fiebre urleana, cornes, paperas, etc. Actualmente, la sinonimia más utilizada en los países de habla española es la de paperas y en Francia, la de fiebre urleana (de “*ourlet*” que significa “doblado”) **(11)**.

Esta enfermedad fue descrita por primera vez en la antigüedad por Hipócrates. En su libro “Sobre las Epidemias” explicaba la enfermedad como: “*intumescencia preauricular, algunas veces unilateral, más a menudo bilateral, diferenciándola de las tumefacciones supuradas del cuello. La enfermedad se presenta en los niños y jóvenes que concurren a la palestra o al gimnasio. Con frecuencia aparecen a continuación en los testículos flegmasias dolorosas; todo termina sin fenómenos críticos*” **(12)**.

En el siglo XVIII, Laghi y Mangor fueron los primeros en describir la naturaleza contagiosa de la enfermedad. Posteriormente, Hamilton en 1790, destacó la frecuencia de la orquitis como complicación de la parotiditis. Luego, en 1934, Johnson y Goodpasture probaron la etiología viral de la parotiditis: es un Paramyxovirus, emparentado con influenza y parainfluenza. Fue aislado por primera vez en 1945, por Habel, en cultivo de embrión de pollo. Se localiza en las glándulas salivales, eliminándose con la saliva, se disemina a través de la sangre, ubicándose en otras glándulas y en el sistema nervioso. De tal manera que se tiende a hablar más bien de distintas localizaciones del virus, que de complicaciones de la enfermedad parotídea **(13)**.

Morfología, genoma y proteínas virales

El virus de la parotiditis pertenece a la subfamilia *Paramixoviridae* y al género *Rubulavirus*. Los viriones son envueltos y pleomórficos. Son partículas esféricas de 15.3-kb. El componente intermedio de la envoltura es una bicapa lipídica adquirida de la célula hospedera cuando el virus abandona la membrana citoplasmática. La superficie más interna de la envoltura es una capa proteica no glicosilada que mantiene la estructura exterior del virus. El virión está constituido en un 70% por proteínas, aproximadamente un 2% de ARN, 6% de carbohidratos y un 20% de lípidos provenientes del hospedero. Ingresa a la célula blanco por interacción entre la glicoproteína de unión viral y las moléculas de ácido siálico, que actúan como receptores celulares **(figura 1) (14)**.

El genoma es lineal, con una sola hebra de ARN de sentido negativo. Exhibe 15 384 nucleótidos cuya organización es 3' NP-P-M-F-SH-HN-L 5', en la que las abreviaturas representan los genes codificantes de las siguientes proteínas: NP (nucleoproteína), P (fosfoproteína), M (proteína de matrix), F (proteína de fusión), SH (pequeña proteína de fusión), HN (hemaglutinina-neuraminidasa) y L (polimerasa) **(15)**. El genoma se conforma en el extremo 3' por una secuencia extracistrónica de 55 nucleótidos y en el extremo 5' por una secuencia de 24 nucleótidos de los cuales 10 comparten complementariedad inversa. Estas regiones son esenciales para la transcripción y la replicación **(15)**.

Cada gen codifica para una sola proteína, con la excepción del gen *V/P/I* (referido convencionalmente como gen P), el cual da lugar, además, a especies de ARNm adicionales como resultado de la inserción co-transcripcional de nucleótidos G entre las posiciones 461 a 466 **(16)**.

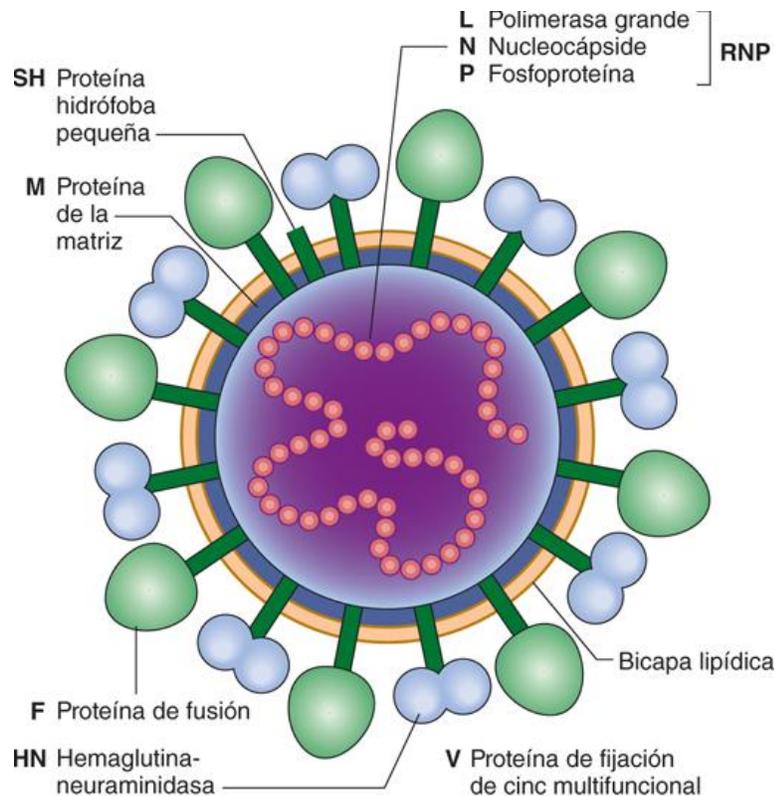


Figura 1: Representación de la estructura del virus de la parotiditis. Fuente: Geo.F.Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzner: *Microbiología médica*, 26e:www.accessmedicina.com.

Estructura y función de las proteínas virales

Nucleoproteína (NP). Aproximadamente de 489 a 553 aminoácidos (aa) componen esta proteína. Además, posee dos dominios. Entre los paramixovirus, la región del anillo terminal de la proteína es conservada (alrededor del 80%), mientras que la región carboxilo terminal es menos conservada (20%). En la replicación viral la NP tiene varias funciones como la intervención en la encapsidación del ARN. Durante la transcripción y la replicación se asocia con la P-L polimerasa; y es muy probable que interaccione con la proteína M durante el ensamblaje del virus **(16)**.

Fosfoproteína (P). Es una proteína que posee longitud variable dentro de los virus de esta familia. Se compone por dos dominios el N-terminal y el C-terminal, separados por una región hipervariable. Se caracteriza por presentar un alto nivel de fosforilación. Desempeña un papel importante en la síntesis de ARN y junto con la proteína L forman la polimerasa viral (P-L). En conjunto con la NP, forman un complejo que activa la encapsidación del ARN llamado complejo ribonucleoproteico (CRNP) **(17)**.

Proteína L. Es la proteína de mayor tamaño y longitud, con aproximadamente 2200 aa y es la menos abundante respecto a todas las proteínas estructurales. Es multifuncional, responsable de la polimerización de nucleótidos y de la adición de 7-metilguanosina en el extremo 5' (cap) para la formación de los ARNm virales. Su porción N-terminal contiene seis segmentos de aa altamente conservados, que se sugiere son dominios catalíticos de la polimerasa. El complejo formado por las proteínas L y P se requiere para la actividad de polimerización, conjuntamente con la NP y la cadena molde de ARN **(18)**.

Proteína matriz (M). Es la más abundante en el virión, contiene de 341 a 375 aa. Es una proteína básica y poco hidrofóbica. Durante la entrada del virus, se fusionan ambas membranas, se separan de la proteína M, y se libera la nucleocápside en el citoplasma. Durante la etapa final del ciclo de replicación, la asociación de la nucleocápside con la proteína de la matriz media la integración de la envoltura (membrana lipídica) y el virus se libera por gemación desde la membrana celular **(19)**.

Proteína de fusión (F). Es un factor crítico y característico en la infección. Induce la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática de la célula hospedera y se encarga de la fusión entre células, induciendo la formación de grandes sincitios. Así, permite la propagación del virus de célula a célula, lo que favorece su patogenia, ya que evade la respuesta inmune. Es una proteína integral de membrana tipo II que se sintetiza como un precursor inactivo F0, que requiere de

un mecanismo de «maduración» consistente en el corte del precursor F0 para producir el heterodímero F1 y F2 que se mantienen unidos a través de un enlace disulfuro. El evento de «maduración» sucede en el compartimiento trans-Golgi y, una serina proteasa semejante a la furina lo cataliza. Este evento postraduccional permite la liberación del péptido de fusión que se encuentra localizado en el extremo N-terminal de la subunidad F1 **(20)**.

Hemaglutinina-neuraminidasa (HN): Constituye una proteína multifuncional y el mayor determinante antigénico de la estructura. Es responsable de la absorción del virus al unirse al ácido siálico de la membrana celular. Tiene actividad hemaglutinina-neuroaminidasa. La HN contiene de 565 a 582 aa y es una proteína integral de membrana de tipo II, la cual tiene un dominio hidrofóbico localizado en la porción N-terminal, que actúa como señal de anclaje a la membrana **(3)**.

Proteína SH (del inglés, small hydrofobic). Es una proteína pequeña hidrofóbica, cuya función biológica no se conoce. Se cree que fortalece el evento de fusión, debido tal vez a la formación de un complejo oligomérico conformado por las proteínas F, G y SH, que tiene mayor afinidad por los glicosaminoglicanos en comparación con la proteína F **(19)** También se plantea, que esta proteína juega un papel fundamental en la evasión de la respuesta antiviral del hospedero, bloqueando la vía apoptótica mediada por $TNF\alpha$ **(21)**.

El gen SH del genoma del virus de la parotiditis es la región más pequeña y variable, y sus secuencias son ampliamente utilizadas en la caracterización molecular de la cepa, en especial para la determinación de los diferentes genotipos **(22)**.

Replicación

La replicación del VP (**figura 2**), al igual que la de todos los paramixovirus, ocurre en el citoplasma (**16**). Durante el ciclo replicativo, el genoma viral se transcribe para producir ARNm subgenómicos, con capa y poliadenilados. Aunque, aproximadamente, dos tercios de las proteínas codificadas están involucradas en la realización y regulación de la expresión de los genes y en la replicación del genoma, el VP codifica para una polimerasa (**23**).

Etapas de la replicación

-Adherencia, penetración y desvoltura del virus: El VP se adhiere a las células hospedadoras a través de la glicoproteína hemaglutinina-neuraminidasa. Acto seguido, la envoltura del virión se fusiona con la membrana celular producto del desdoblamiento de la glicoproteína de fusión F1. La proteína F1 experimenta un repliegue complejo durante el proceso de fusión de la membrana viral y celular. Si no está desdoblado el precursor F0, no tiene actividad de fusión, no ocurre penetración del virión y la partícula viral no puede iniciar la infección. La fusión por F1 ocurre en condiciones de pH neutro del medio extracelular, permitiendo la liberación directa de la nucleocápside viral en el citoplasma de la célula. Por consiguiente, el virus puede desviar la internalización a través de los endosomas (**24**).

-Transcripción, traducción y replicación de ARN: Los transcriptos de ARN mensajero se elaboran en el citoplasma celular por la acción de la ARN polimerasa viral. Los ARNm son mucho más pequeños que el tamaño genómico; cada uno representa un solo gen. Las secuencias reguladoras de la transcripción en los límites del gen señalan el inicio de la transcripción y la terminación. La posición de un gen en relación con el extremo 3' del genoma se correlaciona con

la eficiencia de la transcripción. La clase de transcriptos más abundantes que produce una célula infectada son del gen N, situado más cerca del extremo 3' del genoma, en tanto que la menos abundante son la del gen L, situado en el extremo 5'. Las proteínas virales son sintetizadas en el citoplasma y la cantidad de cada producto de gen corresponde al grado de transcriptos de ARNm de ese gen. Las glicoproteínas virales se sintetizan y glicosilan en la vía secretora. El complejo de proteínas de la polimerasa viral (proteínas P y L) también interviene en la replicación del genoma viral. El complejo de la polimerasa debe eliminar las señales de terminación interpuestas en los límites del gen para la síntesis satisfactoria de un molde intermedio anti genoma. Después, los genomas de la progenie de longitud completa se copian del molde antígenómico **(24)**.

-Maduración: El virus madura por gemación desde la superficie celular. Las nucleocápsides de la progenie se forman en el citoplasma y migran hacia la superficie de la célula. Son atraídas a los sitios de la membrana plasmática que están cubiertos de espigas de glicoproteína viral HN/H/G y F0. La proteína M es esencial para la formación de partículas y sirve de enlace entre la envoltura viral y la nucleocápside. Durante la gemación, la mayor parte de las proteínas del hospedador se excluyen de la membrana. Si están presentes las proteasas apropiadas de la célula hospedadora, las proteínas de F0 en la membrana plasmática se activarán mediante desdoblamiento. La proteína de fusión activada producirá luego la fusión de las membranas celulares adyacentes, lo que da como resultado la formación de grandes sincitios. La formación de sincitios es una respuesta frecuente a la infección por *Paramixovirus*. Por lo regular se forman inclusiones citoplásmicas acidófilas. Se considera que las inclusiones reflejan lugares de síntesis viral y se ha demostrado que contienen nucleocápsides reconocibles y proteínas virales **(24)**.

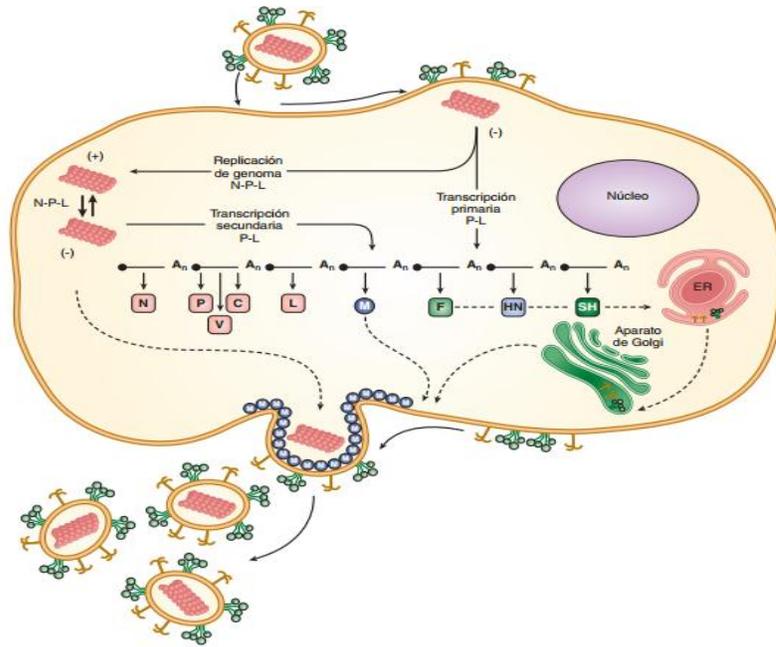


Figura 2: Ciclo de vida del virus de la parotiditis. La partícula viral infectante se fusiona con la membrana plasmática y libera la nucleocápside viral hacia el citoplasma. Las líneas sólidas representan transcripción y replicación del genoma. Las líneas discontinuas indican el transporte de proteínas virales recién sintetizadas a la membrana plasmática. Los viriones de la progenie se liberan de la célula por un proceso de gemación. Todo el ciclo de replicación del Paramixovirus ocurre en el citoplasma de la célula **(24)**.

Patogénesis

Modelos animales

A pesar de la elevada incidencia del virus de la parotiditis en la era pre-vacunal, se conoce muy poco sobre la patogénesis de la enfermedad. Mucho de lo que se sabe son inferencias por comparación, por infección experimental en animales de laboratorio y por las características clínicas y la patología de la enfermedad en humanos **(25)**.

Históricamente, los modelos animales más utilizados han sido el hámster y el mono, y la información obtenida de estos modelos ha servido de base para el conocimiento actual que se tiene de la patogénesis del virus y de la enfermedad. Sin embargo, es cuestionable la relevancia de lo que se encontró en estos modelos, dado el uso de vías de inoculación no naturales (ejemplo: intracraneal, intraperitoneal e intravenosa) y por la incapacidad de estos modelos de ser fiables en la discriminación de cepas que son atenuadas para los humanos a partir del tipo salvaje. Afortunadamente se ha avanzado en los últimos años con los modelos animales para el estudio de la patogénesis de la parotiditis con el desarrollo de un modelo aplicado en ratas empleado para predecir el potencial de neurovirulencia que tienen algunas cepas para los humanos **(21)**.

Patogénesis

El hombre es el único reservorio, aunque en otras especies animales se ha reportado la infección (monos, hámsters, ratones y embriones de pollo). Se transmite por contacto directo y por gotitas transportadas por aerosoles. El periodo de incubación varía de dos a cuatro semanas. Ha sido aislado de saliva desde

siete días antes hasta ocho días después del inicio de los síntomas, lo cual muestra que puede ser transmitido antes del inicio de la enfermedad **(26)**.

Basándose en la variedad de síntomas, la replicación debe iniciarse en los tejidos linfoides y retículo endotelial del tracto respiratorio, lo cual conlleva a la viremia que esparce al virus a múltiples órganos. Se asume que se infecta primero el epitelio respiratorio. Aún permanecen sin definir cuáles son las células que son blanco para la infección primaria y la replicación **(26)**.

El virus se une al ácido siálico para entrar a la célula epitelial del tracto respiratorio superior por ambos lados. La entrada del virus por la parte apical de la célula facilita la transmisión hacia las células vecinas, mientras que la infección por el lado basolateral es probablemente importante para la infección secundaria, vía el torrente sanguíneo **(27)**.

Los viriones, al infectar las células, pueden evadir la inmunovigilancia del hospedero por la degradación de las proteínas STAT 1 y de la STAT 3 (Signal Transducer and Activator of Transcription, por sus siglas en inglés) que produce la proteína V del patógeno. En esta vía la señalización del interferón (IFN) e interleucina-6 (IL) es bloqueada y el virus puede evadir tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa **(27)**.

La viremia trae como resultado la diseminación de los viriones hacia otros órganos, incluyendo los riñones y los testículos. Diferentes estudios realizados, empleando muestras de saliva y orina de pacientes doblemente vacunados con la PRS, muestran que las cargas virales elevadas en el día del inicio de la enfermedad están positivamente asociadas con el hecho de que el virus se excrete en la orina y con la ocurrencia de la parotiditis bilateral y la orquitis **(27)**.

Hay muy pocos estudios sobre la diseminación del virus, ya que este se detecta esporádicamente durante la infección en sangre. Para abordar este hecho se sugiere analizar profundamente el estudio de las células T; porque el virus tiene una elevada afinidad por estas células y se replica eficientemente en ellas. Las

células T infectadas que migran pudieran facilitar la diseminación desde el tracto respiratorio a otros sitios del cuerpo y jugar un importante papel en la patogénesis de la enfermedad **(27)**.

Manifestaciones clínicas y complicaciones.

La parotiditis se caracteriza por un pródromo que se manifiesta por febrícula, malestar, mialgia, cefalea y anorexia. Del 70 al 90% de las infecciones sintomáticas de la parotiditis presentan inflamación aguda unilateral o bilateral de la parótida u otras glándulas salivales que dura más de dos días y no tiene otra causa aparente. Por lo general aparece en las 24 h siguientes a los síntomas prodrómicos, aunque a veces tarda hasta una semana. De forma general hasta la mitad de las infecciones son asintomáticas o se asocian con síntomas respiratorios inespecíficos. Las infecciones asintomáticas son más frecuentes en adultos que en niños **(28)**.

A menudo, la inflamación de la parótida es bilateral, aunque es posible que el compromiso no afecte ambos lados al mismo tiempo. La inflamación unilateral se documenta en casi un tercio de los casos. La inflamación de la parótida se acompaña de sensibilidad y oclusión del espacio entre el lóbulo de la oreja y el ángulo mandibular. El paciente a menudo refiere dolor de oído y tiene dificultad para masticar, deglutir o hablar. El orificio del conducto parotídeo a menudo está rojo e inflamado. La afección de las glándulas submaxilares y sublinguales es menos frecuente que la parótida, y casi nunca se afectan solas. La inflamación glandular aumenta durante unos días y luego cede de manera gradual, para desaparecer en una semana. La sialoadenitis recurrente es una secuela rara de la parotiditis. En casi el 6% de los casos, la obstrucción del drenaje linfático, secundario a la inflamación bilateral de las glándulas salivales, puede ocasionar edema blando pre-esternal, a menudo acompañado de adenitis submandibular y raras veces de edema supraglótico, con peligro para la vida **(28)**.

La epididimoorquitis es la siguiente manifestación más frecuente de la infección por el VP. Se desarrolla en el 15 al 30% de los varones post-puberales, con compromiso bilateral entre el 10 al 30% de estos casos. El área del testículo se vuelve dolorosa y sensible, y puede aumentar varias veces su tamaño normal. Este trastorno casi siempre se resuelve en una semana. La mitad de los varones afectados desarrolla atrofia testicular. La esterilidad después de la parotiditis es rara, se calcula en 13% de los casos de orquitis unilateral y en el 30 al 87% de los casos con compromiso bilateral. Cerca del 5% de las mujeres con parotiditis desarrollan ooforitis y en raras ocasiones se vincula con esterilidad o menopausia prematura **(26)**.

La pleocitosis del líquido cefalorraquídeo (LCR) documentada indica que el virus de la parotiditis invade el sistema nervioso central (SNC) en casi el 50% de los casos. Sin embargo, la enfermedad sintomática del SNC, casi siempre en forma de meningitis aséptica, ocurre en menos del 10% de los casos, con predominio en los varones. Los síntomas de la meningitis aséptica (p. ej., rigidez cervical, cefalea y somnolencia) aparecen alrededor de cinco días después de la parotiditis y a menudo en ausencia de compromiso parotídeo. La meningitis por el virus de la parotiditis es una manifestación autolimitada sin riesgo significativo de muerte o secuelas a largo plazo. En ocasiones, las parálisis de nervios craneales dejan secuelas permanentes, en particular sordera. En casi el 0.1% de las infecciones, el virus causa encefalitis manifestada por fiebre alta con cambios marcados en el nivel de consciencia, convulsiones y síntomas neurológicos focales. Puede haber alteraciones electroencefalográficas. La tasa de mortalidad vinculada con encefalitis por parotiditis es alrededor del 1.5%. Otros trastornos ocasionales del SNC en la parotiditis incluyen ataxia cerebelosa, parálisis facial, mielitis transversa, hidrocefalia, síndrome de Guillain-Barré, parálisis flácida y cambios conductuales**(29)**.

La pancreatitis por parotiditis, que puede manifestarse como dolor abdominal, ocurre en casi el 4% de las infecciones. Existe controversia acerca de la relación etiológica del virus de la parotiditis y la diabetes mellitus juvenil. La miocarditis y la

fibroelastosis endocárdica son raras y autolimitadas. Otras complicaciones inusuales incluyen tiroiditis, nefritis, artritis, enfermedad hepática, queratouveítis y púrpura trombocitopénica. Es frecuente la disfunción renal, pero es rara la nefritis grave que ponga en peligro la vida. Aún no se confirma si la parotiditis gestacional se relaciona con un número excesivo de abortos espontáneos (**figura 3**) (2, 29).

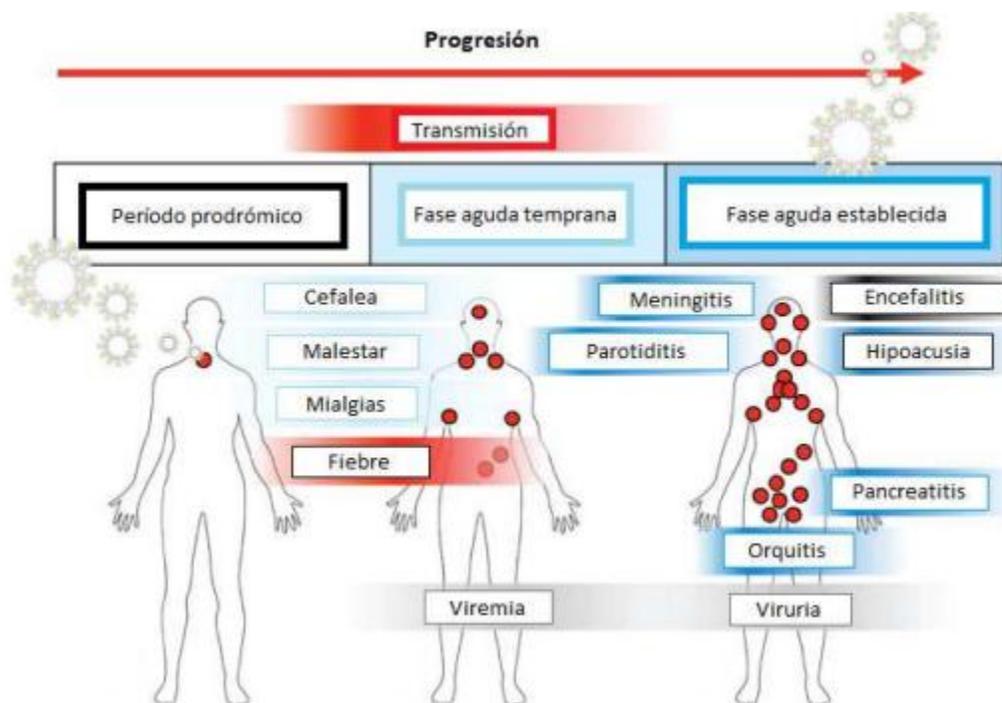


Figura 3: Historia natural de la infección por el Virus de la Parotiditis. La fase prodrómica se caracteriza por síntomas inespecíficos, a menudo leves, como fiebre baja, dolor de cabeza y malestar general. Sigue una fase aguda temprana, que probablemente represente la propagación del virus desde el tracto respiratorio y el desarrollo de síntomas sistémicos, típicamente parotiditis, que dura desde unos pocos días hasta una semana. Durante la fase aguda establecida pueden aparecer orquitis, meningitis o encefalitis (21).

Después de la aplicación de las campañas de vacunación, varios estudios muestran que entre las personas vacunadas, las complicaciones severas no son comunes pero ocurren más frecuentemente en adultos que en niños. En brotes

recientes en los Estados Unidos en 2006 y 2009-2010, las tasas de ocurrencia de orquitis entre hombres post-puberales fueron de 3,3% a 10%; entre mujeres post-puberales las tasas de mastitis y de ooforitis, llegan hasta el 1% **(30)**.

Entre todas las personas infectadas con parotiditis, las tasas reportadas de pancreatitis, sordera, meningitis y encefalitis son de menos del 1%. No han ocurridos muertes relacionadas con la parotiditis en los brotes recientes **(31, 32)**.

Vacunación contra el virus de la parotiditis

Antes del inicio del programa de vacunación, la parotiditis era una enfermedad infecciosa común con una incidencia anual de más de 100 casos por cada 100 000 habitantes **(33)**. Anderson y col. en el año **1987**, calcularon que con índice de vacunación del 60% cambiaría la epidemiología, la incidencia sería reducida, el periodo entre picos epidémicos se incrementaría y el número total de complicaciones relacionadas con el virus decrecería. Para finales de 2016, las vacunas habían sido introducidas en 121 países de acuerdo a la OMS **(34, 35)**.

La estrategia de vacunación global establecida por la OMS, consiste en la vacunación de parotiditis junto con rubéola y sarampión en una formulación triple (PRS), y es parte del esquema de inmunización de varios países. En un primer momento, se recomendó una dosis de esta vacuna. En muchos países una segunda dosis se añadió más tarde al esquema de vacunación, con vistas a optimizar la respuesta inmune y, en particular, para incrementar la proporción de individuos que exhiben anticuerpos. Sin embargo, un meta-análisis reveló que la segunda aplicación solo restaura la inmunidad al nivel de la primera dosis **(36)**.

Como predijeron Anderson y colaboradores, la incidencia de la parotiditis decreció marcadamente después de iniciadas las campañas de vacunación. Desafortunadamente, luego del inicio de estas campañas, la vigilancia se realizó en unos pocos países **(37)**.

Diversidad de las vacunas anti parotidíticas

Considerando que el virus de la parotiditis es monotípico, la vacuna producida con cualquier cepa contra esta enfermedad debería proveer protección de por vida contra infecciones posteriores, no obstante, los brotes de parotiditis persisten aún en poblaciones con altas coberturas de vacunación. Por otra parte, en algunos casos, los anticuerpos neutralizantes del virus de la parotiditis no protegen contra la reinfección con genotipos virales heterólogos **(4)**.

Actualmente, las cepas vacunales más utilizadas son: Jeryl Lynn (JL), RIT 4385, Urabe-AM9, Leningrado-3 (L-3) y Leningrado-zagreb (L-zagreb). Debido a que todas las vacunas de parotiditis son poblaciones de quasiespecies, la descripción adecuada del genoma del virus vacunal debe incluir además de la secuencia propia, la evaluación cuantitativa de las variantes virales existentes **(4)**.

Vacuna Jeryl Lynn

Desarrollada en 1967, a partir de un aislamiento obtenido de un exudado nasofaríngeo de un paciente. Se obtuvo mediante pases del virus por huevos de gallina embrionados y luego por cultivo de célula de embrión de pollo. Tuvo el privilegio de ser la primera vacuna de parotiditis disponible en el mercado internacional. Estados Unidos la adoptó como cepa vacunal única. La vacuna JL es una mezcla de dos cepas virales diferentes, lo cual es probablemente una ventaja. La cepa es muy segura, como se muestra en estudios de reactogenicidad utilizando vacunas de parotiditis monovalente o la vacuna trivalente PRS. Otra de las ventajas de dicha vacuna es que no se relaciona con casos de meningitis aséptica, evento adverso considerado el talón de Aquiles de las vacunas de parotiditis. Los primeros ensayos con la cepa vacunal JL demostraron una eficacia de aproximadamente 95%, pero en condiciones epidémicas, la efectividad disminuye hasta 62% **(33)**.

Vacuna Rubini

Otra vacuna de parotiditis considerada como segura derivó su nombre de Rubini, el niño suizo cuya orina se utilizó como fuente para el aislamiento viral. En 1985 se autorizó su uso en Suiza y se perfeccionó mediante el pase del virus por una línea celular diploide humana, con pases sucesivos por huevos de gallina embrionados y adaptación a la línea celular diploide humana MRC-5. La desventaja de esta vacuna, que utiliza la línea celular diploide humana, es que reporta un rango de baja a ninguna efectividad clínica. Cabe destacar que Portugal comenzó a usar exclusivamente esta vacuna en 1992 y como consecuencia el país completo padeció de una larga epidemia. Experiencias similares se registraron en otros países como Suecia, Italia, y Singapur, lo que condujo al abandono de la cepa vacunal Rubini **(4)**.

Vacuna Urabe-AM9

La cepa Urabe deriva de un aislamiento obtenido de la saliva de un paciente. La vacuna se desarrolló en Japón, extendiéndose su producción en Europa en la década del 80 (Bélgica, Francia e Italia). Esta cepa se produce en el amnios de los huevos de gallina embrionados o en cultivo de célula de embrión de pollo. La cepa es altamente inmunogénica, con un 95% de seroconversión en niños con edades comprendidas entre 14-20 meses. Comparada con la vacuna JL, la inmunogenicidad de la cepa Urabe-AM9, medida por ELISA y traducida en protección es equivalente, reportándose en un estudio que el 88% de los niños entre 13-15 meses que recibieron la vacuna, desarrollaron anticuerpos neutralizantes. En Canadá, un estudio encontró que 5 a 6 años después de aplicada una dosis de la vacuna MMR, la tasa de seropositividad fue del 93% para la cepa Urabe, en comparación con el 85% para la cepa Jeryl Lynn **(33)**.

Vacuna Leningrado-3

La cepa vacunal L-3 se produjo en 1953 a partir de 5 aislamientos del virus de la parotiditis combinados en una única cepa. Se obtuvo a partir de pasajes en un cultivo celular de riñón de cobayo y luego se pasaron a cultivos embrionarios de codorniz japonesa. Se caracterizó como heterogénea sobre la base de la morfología de la placa y el análisis de la secuencia de los genes P y F; sin embargo la composición de L-3 nunca se publicó. Desde 1980, la ex Unión Soviética, la ha utilizado en su programa nacional de inmunización, reportándose una alta efectividad y una protección del 91 al 99%. En la ex República Democrática Alemana, la observación de ocurrencia de eventos de meningitis aséptica entre los receptores, provocó que los ensayos clínicos se cancelaran **(4)**.

Vacuna Leningrado-zagreb

La vacuna L-3 fue atenuada en Zagreb, Croacia, la ex Yugoslavia, y posteriormente renombrada Leningrado-zagreb (L-zagreb). Se desarrolló mediante una adaptación de la cepa vacunal L-3 en un cultivo primario de fibroblastos de embrión de pollo y se demostró su estabilidad genética a nivel de la secuencia típica de esta cepa vacunal, en el curso del proceso de producción. Mediante dos experimentos de clonación independientes. Kosutic-Gulija, (2008), demostraron que la cepa vacunal L-zagreb contiene una sola cepa viral. Sin embargo, numerosas posiciones de los nucleótidos demostraron ser heterogéneas e indicaron la naturaleza de quasiespecies de esta cepa **(38)**.

La asociación de esta cepa con meningitis aséptica es una cuestión discutida. En Brasil, en 1998, se observó después de dos campañas de vacunación una alta incidencia de meningitis aséptica. Sin embargo, en la India se encontró un solo caso de meningitis aséptica entre las 95.361 dosis aplicadas **(33)**.

Investigaciones recientes señalan que la meningitis aséptica no es materia de importancia en la vacunación con la cepa L-zagreb, dada la buena protección que

confiere, demostrado en Croacia, 2007, con los casos de meningitis de naturaleza benigna post vacunación **(33)**.

La vacuna L-zagreb cumple con los requerimientos de la OMS. Algunos estudios demuestran que la efectividad de esta vacuna es mayor del 95% **(33)**.

Brechas persistentes en la eliminación de la parotiditis

A pesar de los programas de vacunación implementados por muchos países, persisten brotes de parotiditis en los cuales se detecta co-circulación de genotipos entre poblaciones vacunadas. Aunque la baja o incompleta cobertura vacunal sea una razón clave, no es suficiente para explicar el problema, dado los numerosos brotes que ocurren en poblaciones con alta cobertura vacunal. Múltiples estudios sugieren que la pérdida de inmunidad y fallos en la administración de la segunda dosis juegan un papel fundamental en este problema **(7)**.

Baja cobertura vacunal

La baja cobertura vacunal es improbable que sea el factor principal en la carga de brotes recientes. En países como Estados Unidos, donde la proporción de vacunación de PRS es generalmente del 90%, ocurren brotes en comunidades altamente vacunadas. Por otra parte, en brotes recientes del 10% al 99% de los casos de parotiditis recibieron previamente dos dosis de la PRS **(39)**.

Por ejemplo, en el 2005, se reportó un brote en la República Checa, con más de 5000 casos, en una población con una cobertura vacunal del 99,6% (de una dosis) y del 70,6% (dos dosis). En los Países Bajos, en el 2004 se demostró este problema, en una población con 93% de vacunación con al menos una dosis de la vacuna **(39)**.

Así, la baja cobertura vacunal no explica, por si sola, el resurgimiento de la parotiditis. Estos brotes en poblaciones altamente vacunadas indican que otros factores contribuyen y deberían ser explorados para comprender las necesidades de prevención y control para la salud pública **(39)**.

Fallo en la vacunación primaria

El fallo en la vacunación primaria es otro factor contribuyente al resurgimiento de la parotiditis. La vacuna Jeryl Lynn indujo seroconversión en el 95% de los vacunados después de realizado un ensayo clínico aleatorio, llevado a cabo en niños seronegativos de 20 meses. Sin embargo, la efectividad de esta cepa (determinada por los ratios de ataque secundarios entre niños inmunizados y no inmunizados) tiene un rango de 62 a 91% **(7)**.

Los fallos vacunales fueron también aparentes con las vacunas Rubini y Urabe. Esto representa un problema significativo para la salud pública en el momento de lidiar con los brotes, donde la alta efectividad de las vacunas es crucial para prevenir la expansión de la enfermedad y los brotes recurrentes **(7)**.

Variación antigénica

La variación antigénica pudiera ser otro posible factor en el fracaso de la vacuna contra las paperas. Por ejemplo, las cepas del virus de las paperas de tipo salvaje (genotipo G) identificadas en brotes (en América del Norte y Europa) tienden a diferir filogenéticamente de la cepa Jeryl Lynn (genotipo A), utilizada en la vacuna MMR-II. Si bien la respuesta de anticuerpos provocada por la vacuna neutraliza de forma cruzada cepas de otros genotipos, existen diferencias antigénicas y el título requerido para la neutralización viral del genotipo G, no es el mismo. Por lo tanto, los estudios sugieren que puede ser necesaria una nueva vacuna que se dirija a múltiples genotipos del virus para mejorar la eficacia y controlar por completo estos brotes **(40)**.

Fallo en la vacunación secundaria/ Pérdida de inmunidad.

Numerosas publicaciones de las dos últimas décadas muestran un elevado riesgo de contraer la enfermedad cuanto más tiempo transcurra después de la inmunización, lo que presupone una pérdida de la inmunidad. De hecho, los

individuos en edades correspondientes a los niveles de secundaria básica y universidad, muestran generalmente una alta probabilidad de contraer la enfermedad **(41)**.

Un análisis retrospectivo de un brote ocurrido en 2006 en el medio-oeste de los Estados Unidos encontró que los casos de parotiditis tenían mayores probabilidades de ocurrir en individuos que habían recibido la segunda dosis 10 años antes de la exposición **(42)**. Estudios de brotes en Francia y Bélgica demostraron que las oportunidades de desarrollar parotiditis se incrementaban de un 10 a un 27% con cada año de vacunación. Un incremento de la susceptibilidad a contraer la enfermedad en el tiempo se observó en numerosos estudios de población **(43)**.

Los datos reafirman que la pérdida de inmunidad es el principal contribuyente en el aumento de la incidencia de casos de parotiditis en poblaciones con altas coberturas de vacunación **(41)**.

Epidemiología

La parotiditis es una enfermedad de distribución mundial. El único reservorio es el ser humano. Se transmite por el aire o por contacto directo con gotas infectadas o saliva, se presenta todo el año y su incidencia se incrementa en invierno y primavera. Se transmite desde el periodo prodrómico, pero se vuelve más contagiosa en el periodo clínico. La transmisión es poco probable en asintomáticos. Se describe que la temperatura media, la humedad relativa, la velocidad del viento y la presión atmosférica podrían ser predictores importantes de la incidencia de la enfermedad y que los ciclones tropicales causan un aumento en los casos de parotiditis **(44)**.

Sin dudas la epidemiología de la parotiditis está fuertemente influenciada por la vacunación. En poblaciones que aún no están vacunadas, hay brotes epidémicos que ocurren cada 2, 3 o 7 años. En países sin programas nacionales de vacunación, la incidencia general calculada es de 100 a 1000 casos por cada 100

000 habitantes. La tasa de ataque en las epidemias varía considerablemente, pero en una población virgen puede llegar hasta el 88% **(45)**.

Antes de que comenzaran los programas de vacunación contra el virus, la parotiditis era una enfermedad que presentaba altas tasas de morbilidad y mortalidad. En la era pre-vacunal, la morbilidad era aproximadamente de 40 a 726 casos por cada 100 000 habitantes por año en Estados Unidos y algunos países europeos y asiáticos. Durante esta etapa la infección circulaba de manera endémica con alzas periódicas de dos a cinco años y una incidencia entre los niños de 5 a 7 años en varias regiones a nivel mundial. La infección ocurría frecuentemente en lugares donde se acumulaba un gran número de personas como, por ejemplo, escuelas, jardines de infantes, barracas militares y otros espacios. Se reportan, además factores de riesgo como la edad, la exposición, el compromiso inmunitario, la época del año, los viajes y el estado vacunal e inmunitario **(25)**.

En la era de la vacunación, el uso expandido de la vacuna redujo sustancialmente el riesgo de ocurrencia de la parotiditis, así como el número de complicaciones asociadas a ella. El ritmo de la infección disminuyó de forma considerable. El cambio en el patrón epidemiológico está basado en los numerosos programas de vacunación que se llevaron a cabo, así como en el número de dosis, la edad de vacunación y la cobertura vacunal **(25)**.

A pesar de la efectividad de la vacuna, se continúan reportando brotes en todo el mundo. Son de especial importancia aquellos que ocurren en países que tienen un amplio programa de inmunizaciones. Además, la vacunación ha generado un cambio epidemiológico, trasladándose la edad de presentación clínica de la parotiditis desde niños y adolescentes a adultos jóvenes **(5)**.

Epidemiología molecular

El virus se divide en 12 genotipos basándose en la secuenciación de los genes HN y SH. No obstante, la OMS recomienda un método estándar para describir las características genéticas del virus, basado en el gen SH, debido a su gran diversidad **(8)**.

El genotipo salvaje no circula desde 1990, mientras que los genotipos A y B fueron aislados frecuentemente en Europa y Japón, respectivamente. Hasta 2012, el virus se fue aislado de 38 países. Los genotipos C, D H y J prevalecieron más en el hemisferio occidental, mientras que los genotipos B, F, G e I fueron más comunes en países de Asia **(8)**. El genotipo F tiene una circulación limitada. Se observa mayormente en China, aunque también se detectó en otros 10 países pertenecientes a Norteamérica, Europa y Asia; pero en la mayoría de estos casos se encontró un vínculo epidemiológico con China **(22, 46)**.

La generalidad de los brotes ocurridos en los últimos años (en países europeos y en Estados Unidos principalmente), dentro de poblaciones vacunadas, están relacionados con el genotipo G y algunos otros con el genotipo H. La mayoría de los genotipos de parotiditis que circulan actualmente parecen haber surgido entre 60 y 100 años atrás, con la excepción del genotipo C que parece ser más antiguo (de hace unos 100-125 años) **(47)**.

Sin embargo, solo seis de los 12 genotipos han estado circulando desde 2010, incluido el genotipo G (52%), H (16%), C (12%), F (8%), K (8%) y D (4%), según lo publicado por Jin y col **(8)**.

Diagnóstico

Diagnóstico diferencial

Durante un brote de parotiditis, el diagnóstico es sencillo en pacientes que presenten inflamación de la parótida y antecedente de exposición reciente. Sin embargo, cuando la incidencia de la enfermedad es baja, deben considerarse otras las causas de inflamación de la parótida y se requieren pruebas de laboratorio para la confirmación. Las causas infecciosas que provocan parotiditis incluyen otros virus como, por ejemplo: coxsackievirus, virus parainfluenza tipo 3, virus de la gripe A, virus de Epstein-Barr, adenovirus, bacterias grampositivas, micobacterias atípicas y especies de *Bartonella*. La inflamación de la parótida también puede aparecer en presencia de sarcoidosis, síndrome de Sjögren, síndrome de Mikulicz, síndrome de Parinaud, uremia, diabetes mellitus, ingestión de almidón de lavandería, desnutrición, cirrosis y en el tratamiento con algunos fármacos. La parotiditis unilateral puede ser resultado de la obstrucción ductal, quistes y tumores. En ausencia de parotiditis o compromiso de otras glándulas salivales, es probable que predominen los síntomas de otros órganos o del SNC, y es necesario el diagnóstico de laboratorio. Cuando las manifestaciones consistentes con la infección por parotiditis aparecen en órganos distintos a las glándulas parótidas, es necesario considerar otras enfermedades. La torsión testicular puede generar una masa escrotal dolorosa parecida a la orquitis por parotiditis. Otros virus (p. ej., enterovirus) pueden causar meningitis aséptica indistinguible en el examen clínico. **(29)**.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico molecular de laboratorio se basa en la detección del ARN viral mediante reacción en cadena de la polimerasa - transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse-transcriptase polymerase chain reaction*), análisis serológico o cultivo viral **(1)**.

Para la prueba de RT-PCR, el ARN viral se extrae en forma directa de las muestras clínicas o de cultivos celulares inoculados con muestras clínicas. El exudado bucal es la muestra por elección para detección del virus, sobre todo si se obtiene en los dos días siguientes a la aparición de manifestaciones, aunque también es fácil detectarlo en exudados faríngeos y en saliva, y en caso de meningitis, en el LCR. El virus rara vez se detecta en sangre **(1)**.

La capacidad para detectar el ARN viral en muestras clínicas disminuye con rapidez una semana después del inicio de los síntomas, y en varios estudios, las tasas de detección del virus fueron mucho menores en los receptores de dos dosis de vacunas que en personas no vacunadas o en las que recibieron una sola dosis. Esta prueba es más recomendable durante la fase aguda de la enfermedad, porque tiene mayor sensibilidad que la serología. Aún más, la serología tiene poco valor predictivo en un ambiente de baja prevalencia **(1)**.

El diagnóstico serológico de parotiditis casi siempre se hace por enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) o por la técnica clásica de inhibición de la hemaglutinación (IH). Los datos deben interpretarse con cautela, ya que en personas vacunadas casi nunca existe la IgM; por lo que un resultado negativo a IgM en una persona vacunada no descarta la infección **(48)**. Además, sin importar el estado de vacunación, es posible que IgM no se detecte si el análisis sérico se hace demasiado pronto (antes del día tres de la aparición de los síntomas) o demasiado tarde (≥ 6 semanas después del inicio de los síntomas). Tampoco puede confiarse en el incremento en el título de IgG en sueros pareados de las fases aguda y convaleciente. Es posible que los títulos de IgG en la fase convaleciente sólo sean ligeramente mayor que los de la fase aguda. Las pruebas serológicas usuales, como la fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación y neutralización viral, son muy laboriosas y ahora sólo se realizan raras veces. La principal desventaja que tendría el cambio de estos ensayos al método ELISA (más rápido), es la detección más tardía de todos los anticuerpos específicos del virus, incluidos los no neutralizantes (no protectores). Por tanto, una persona seropositiva por ELISA puede carecer de

cantidades protectoras de anticuerpos. Aunque existe una marcada relación entre la presencia del anticuerpo neutralizante al virus de la parotiditis y la protección contra la enfermedad, no hay un título de anticuerpo absoluto que sea predictivo de la protección serológica **(49)**.

El virus se puede identificar a través de cultivos celulares. Los cultivos primarios de riñón de mono son las células más sensibles, así como las líneas celulares (BSC-1, Vero, MDCK, y HeLa). La formación de sincitios es el efecto citopático característico, aunque no todas las cepas lo producen, y por lo tanto es necesario realizar hemadsorción con glóbulos rojos de cobayo. Con menor frecuencia se observa vacuolización **(49)**.

Tratamiento y Profilaxis

Curativo: Por lo general, la parotiditis es una enfermedad benigna que se resuelve por si sola. El tratamiento es sintomático con aislamiento del paciente durante 4 días desde el inicio de los síntomas. En ausencia de complicaciones, suele ser domiciliario, simplemente con medidas sintomáticas (analgésicos/antipiréticos), líquidos abundantes (para evitar la deshidratación), modificaciones en la dieta que incluyen alimentos blandos, restricción de líquidos ácidos, muy ácidos o picantes (ya que aumentan el dolor en las glándulas salivales). Las gárgaras de agua tibia con sal pueden ayudar a reducir el dolor, la aplicación de compresas tibias o frías en la región parótida son útiles. Actualmente no hay medicamentos antivirales, corticosteroides, o inmunoterapia pasiva (la inmunoglobulina no es siempre eficaz para evitar la enfermedad y no se recomienda como manejo o profilaxis) en el tratamiento de las parotiditis. La vacunación es la única medida práctica de control. Casi todos los países desarrollados inmunizan contra parotiditis, pero en muchos países, ésta no es una enfermedad de notificación obligatoria y la vacunación a menudo es voluntaria **(45)**.

Materiales y Métodos

Diseño y tipo de estudio

Se realizó un estudio de corte transversal con un componente analítico.

Universo de estudio: Todas las muestras clínicas con sospecha de parotiditis recibidas en el Laboratorio Nacional de Diagnóstico y Rabia del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK) en el periodo de enero 2017 a diciembre de 2019. En el periodo de estudio se recibieron 11 827 muestras.

Muestra de estudio: Todas aquellas muestras clínicas diagnosticadas como positivas al virus de la parotiditis en el periodo comprendido de enero de 2017 a diciembre de 2019, en el Laboratorio Nacional de Diagnóstico y Rabia del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK), procedentes de la vigilancia epidemiológica. De las 1266 muestras positivas al VP, 1220 eran sueros, cuya positividad se determinó por inhibición de la hemaglutinación o por ensayos ELISA, 43 fueron orinas y 3 exudados nasofaríngeo. La positividad de estas últimas se detectó por PCR.

Todas las muestras fueron consideradas para el análisis epidemiológico de la investigación. Para la determinación del genotipo mediante secuenciación del gen SH solo se emplearon las de exudado nasofaríngeo y orina.

Las muestras se conservaron en el laboratorio a -20°C.

Obtención de la información

Se revisaron las bases de datos del laboratorio de Diagnóstico y Rabia y las encuestas epidemiológicas que acompañaron a cada una de las muestras a su arribo al IPK, con el propósito de identificar aquellos especímenes de suero, exudado nasofaríngeo y orina que resultaron positivas durante ese periodo.

Definición de caso:

Caso sospechoso:

- Aumento de volumen agudo de las glándulas salivares, orquitis u ooforitis que no puedan ser explicados por otro diagnóstico
- Un resultado positivo del laboratorio sin síntomas clínicos de parotiditis (con o sin vínculo epidemiológico a un caso probable o confirmado)

Caso Probable:

- Parotiditis aguda u otra hinchazón en las glándulas salivares que perdure por al menos 2 días, orquitis u ooforitis inexplicable por otro diagnóstico en:
 - una persona con un test positivo de suero para el anticuerpo IgM.
 - una persona con vínculo epidemiológico a otro caso probable o confirmado, o vinculado a un grupo o comunidad definida por la salud pública durante un brote de parotiditis.

Caso Confirmado:

- Una RT PCR o cultivo viral positivos de una muestra de un paciente con una enfermedad aguda caracterizada por: inflamación aguda de las parótidas u otras glándulas salivares al menos por dos días, meningitis aséptica, encefalitis, pérdida de la audición, orquitis, ooforitis, mastitis o pancreatitis **(32)**.

Criterios de inclusión:

- Muestras clínicas de sueros positivos por IH o ELISA, y muestras de exudado nasofaríngeo y orina positivas por RT- PCR en el periodo comprendido entre enero de 2017 a diciembre de 2019.
- Presentar una encuesta epidemiológica (**Anexo 1**).

Criterios de exclusión:

- Muestras clínicas de sueros negativos a IH o ELISA o muestras de exudado nasofaríngeo y orina con resultado negativo a Parotiditis por RT- PCR en el periodo comprendido entre enero de 2017 a diciembre de 2019.
- Muestras que estuvieran mal conservadas, con un volumen inferior al solicitado o contaminadas.

Operacionalización de las variables

Variables	Tipo de Variable	Operacionalización		Indicador
		Escala	Descripción	
Edad	Cuantitativa Continua	<20 años 21-30 años 31-40 años 41-50 años >50 años	Edad en años cumplidos	Frecuencias absolutas y frecuencias relativas
Género	Cualitativa Nominal	Masculino Femenino	Género referido en las encuestas	Frecuencias absolutas y frecuencias relativas
Provincia de residencia	Cualitativa Nominal	Según última división política administrativa	PR, Art , LH, May, IJ, Mat, VC, CF, SS, CA,CG, LT, Hol, Gr, SC, GT.	Frecuencias absolutas y frecuencias relativas
Antecedentes de Vacunación	Cualitativa nominal	Presente Ausente	Antecedentes de vacunación referidos en las encuestas clínicas	Frecuencias absolutas y frecuencias relativas

-Colecta, traslado al laboratorio y almacenamiento de las muestras

Muestras de exudado nasofaríngeo: Colectadas en los tres primeros días a partir de la fecha de inicio de los síntomas, en un volumen de 2 mL, fueron homogenizadas mecánicamente, posteriormente se realizaron alícuotas de 1 mL que se conservaron a -20°C, hasta su uso.

-Procesamiento de muestras de orina (al momento de llegar al laboratorio).

Muestras de orina: las muestras se colectaron al quinto día del comienzo de los síntomas y con un volumen entre 15 o 50 mL, en tubos Corning con el fin de evitar el derrame de la muestra. Luego, fueron centrifugadas a 1500 rpm, durante 20 minutos a 4°C, se decantó el sobrenadante y se le añadió al sedimento 1mL de medio de cultivo celular (con antibiótico, con o sin suero). Se homogenizó el sedimento y distribuyó en viales de 1.5 mL. Las muestras se conservaron a -70 °C hasta su procesamiento.

-Extracción de ARN viral

Se realizó la extracción del ARN de las muestras de exudado nasofaríngeo y orina, empleando el estuche comercial QIAmp Viral RNA mini Kit (Qiagen, Alemania). Se adicionó 140µl de la muestra a una mezcla de 5,6 µl de carrier y 560µl de tampón lisis (tampón AVL), mezclándose mediante procedimiento mecánico durante 15 segundos (seg), seguido de una incubación a temperatura ambiente (TA) durante 10 min. A la misma se le añadió 560µl de etanol al 96%, se agitó durante 15 seg y centrifugó a 14 000 rpm durante 30 seg. A una columna (QIAamp spin column) proporcionada por el estuche comercial, se le añadieron 630µl de la mezcla, luego se centrifugó a 8000 rpm durante 1 min, se descartó el filtrado y se repitió el paso anterior. Se añadieron 500µl de tampón de lavado 1(AW1) y se centrifugó a 8000rpm por 1 min. Se adicionó la misma cantidad de tampón de lavado 2 (AW2), centrifugándose a 14 000rpm por 3 min. La columna se pasó a un tubo de centrifuga de 1,5 mL, se añadieron 60 µl del tampón de

elución (AVE) y se incubó a TA por 1 min. Luego se centrifugó la mezcla a 8000rpm por 1 min y el producto final fue guardado a - 80°C hasta su uso.

-Reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción (RT-PCR):

Se utilizaron oligonucleótidos sintetizados por Eurofins MWG (Operon, Huntsville, Luxemburgo). Los datos de los cebadores empleados se muestran en la tabla 1. Las secuencias de los cebadores fueron descritas por Jin y colaboradores en 1999 (50).

Tabla 1. Secuencia de los oligonucleótidos empleados en la técnica de RT-PCR.

Oligonucleótidos	Secuencia (5'- 3')	Posición
Forward SH1	5' AGT AGT GTC GAT GAT CTC AT 3'	6133-6152
Reverse SH2	5' GCT CAA GCC TTG ATC ATT GA 3'	6789-6808

Para la RT-PCR, se empleó el estuche comercial QIAGEN OneStep RT-PCR Kit (Qiagen, Alemania). Se reacción se efectuó a partir de 5 µL del ARN extraído en un volumen final de 50 µL. La mezcla contenía 10 µL de solución tampón 5X, 2 µL de enzima (OneStep TR-RCP Enzyme Mix), 2 µL de trifosfato de desoxinucleotidos (10 mM), 2 µL de cada oligonucleótido que se encontraban a 100 picomoles y se completó el volumen con agua libre de RNasa. Las condiciones de amplificación establecidas en el ensayo fueron las siguientes: un paso inicial de reverso transcripción durante 30 minutos a 50 °C. Seguidamente, un paso de desnaturalización de 15 minutos a 95 °C y luego 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 1 minuto a 50 °C, y 1 minuto a 72 °C.. Se incluyó un paso final de extensión a 72 °C durante 10 minutos.

-PCR Anidada

Se utilizaron oligonucleótidos sintetizados por Eurofins MWG (Operon, Huntsville, Luxemburgo). Los datos de los cebadores se exponen en la tabla 2. Las secuencias de los cebadores se encuentran descritas en el protocolo desarrollado por Jin y colaboradores en 1999 (50).

Tabla 2. Secuencia de los oligonucleótidos empleados en la técnica de PCR anidada.

Oligonucleótidos	Secuencia (5'- 3')	Posición
Forward SH3	5'GTCGATGATCTCATCAGGTAC 3'	6139-6159
Reverse SH4	5' AGCTCACCTAAAGTGACA AT 3'	6758-6777

La PCR anidada se efectuó a partir de 2 µL del cDNA obtenido de la RT-PCR en un volumen final de 23 µL La mezcla contenía 10 µL de solución tampón10X, 1 µL de trifosfato de desoxinucleotidos (10 mM), 0.25 µL de enzima Taq ADN polimerasa (5U/µl, Roche), 2 µL de los oligonucleótidos y se completó el volumen con agua libre de RNasa. Las condiciones de amplificación establecidas en el ensayo fueron las siguientes: un paso inicial de desnaturalización de 2 min a 94 °C. Seguidamente 35 ciclos de 30 seg a 94 °C, 30 seg a 50 °C y 1 min a 72 °C. Se incluyó un paso final de extensión a 72 °C durante 10 min.

-Corrida electroforética para la visualización del producto de PCR.

Para chequear el producto amplificado se tomaron 5µL del producto de la PCR anidada y se les añadieron 2µL del colorante 5x Blue/Orange 6X (Promega, USA). La mezcla se sometió a una corrida electroforética durante 30 min a 100 Volts (V)

en un gel de agarosa al 2% (Promega, USA) usando tampón TBE 1X (Tris-Borato 0,09M (Sigma), EDTA 2mM (Sigma), pH 8). La tinción de los geles se realizó con una solución de GelRed™ Nucleic Acid, a un volumen de 5µL por cada 100 mL de TBE 1X. Para observar las bandas de amplificación, se empleó el procesador de geles UVP MultiDoc-It(analytic-jena, UVP Transilluminator). Se determinó el tamaño de las bandas amplificadas mediante la comparación con el marcador de peso molecular de 100bp DNA ladder (25ug/µL, Promega, USA).

-Purificación del producto de PCR.

Se procedió a la purificación del fragmento de la región de interés utilizando el estuche comercial *QIAquick PCR Purification Kit* (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante.

-Secuenciación nucleotídica y análisis filogenético

Para la realización de la reacción de secuencia se emplearon los mismos cebadores que para la RT-PCR reflejados en la tabla 2. Se prepararon mezclas constituidas por: 1µL de cada uno de los cebadores especificados, que están a 5 pmoles, 8µL de la mezcla de reacción de secuencia *DTCS Quick StartMasterMix*, suministrada con el *DyeTerminatorCycleSequencing (DTCS) Quick Start Kit* (BeckmanCoulter, EEUU), 5 µL de ADNc purificado (aproximadamente 100 ng) y 6 µL de agua libre de nucleasas para RCP, hasta completar 20 µl de reacción.

El ciclaje de la reacción de secuencia constó de una desnaturalización inicial por 2 min a 96°C, seguida de 50 ciclos de 20 seg de desnaturalización a 96°C, 20 seg de hibridación a 50°C y 4 min de extensión a 60°C. Una vez concluida la reacción de secuencia, se pasó a la purificación del producto siguiendo el protocolo descrito en el estuche comercial *DTCS Quick Star Master Mix* (BeckmanCoulter, EEUU). La corrida de la reacción de secuencia se realizó en el secuenciador automático modelo CEQTM 8800 (BeckmanCoulter, EEUU), utilizando el procedimiento de análisis de datos crudos para productos de PCR.

Las secuencias nucleotídicas obtenidas fueron editadas en fragmentos de 316pb, utilizando el programa *Sequencher™Version 4.9* (Genes Codes Corporation, USA), empleando como referencia el genoma completo de la cepa AF201473.1. Al final se obtuvieron secuencias consensos de cada muestra analizada. Dichas secuencias fueron sometidas a un proceso básico de alineamiento (BLAST, del inglés *Basic Local Alignment Search Tool*). Este programa permitió la comparación de las mismas con las secuencias disponibles en la base de datos *GenBank* (www//ncbi.nih.gov), y permitió definir el genotipo del virus de la parotiditis presente en cada muestra.

Para el análisis filogenético las secuencias fueron alineadas utilizando el *sequencher* versión 9.10 y editadas mínimamente con *Mega 6* (Bette Korber et al., 2020). La historia evolutiva se infirió utilizando el método de máxima verosimilitud, basado en el modelo de Kimura-2 parámetros del programa *Mega 6*. El árbol consenso, inferido a partir de 1000 réplicas, se utilizó para representar la historia evolutiva de las secuencias analizadas. Las distancias evolutivas fueron computadas utilizando el método de Kimura-2 parámetros, el porcentaje de variación entre los sitios fue modelado con distribución gamma. Se utilizaron 26 secuencias de referencias de las variantes incluidas en el análisis, que se compararon con las secuencias cubanas obtenidos en este estudio.

- Procesamiento de datos y análisis estadístico

Se confeccionó una base de datos en el programa Microsoft® Office Excel 2010, donde se recogieron los datos de las encuestas y los resultados obtenidos en el laboratorio. Se utilizó el paquete estadístico EPIDAT 3.1 para el análisis de los estadígrafos descriptivos (frecuencias absolutas y relativas). Los resultados se presentan en forma de tablas y gráficos.

-Aspectos éticos

El estudio se realizó de acuerdo a los principios éticos expresados en la Declaración de Helsinki.

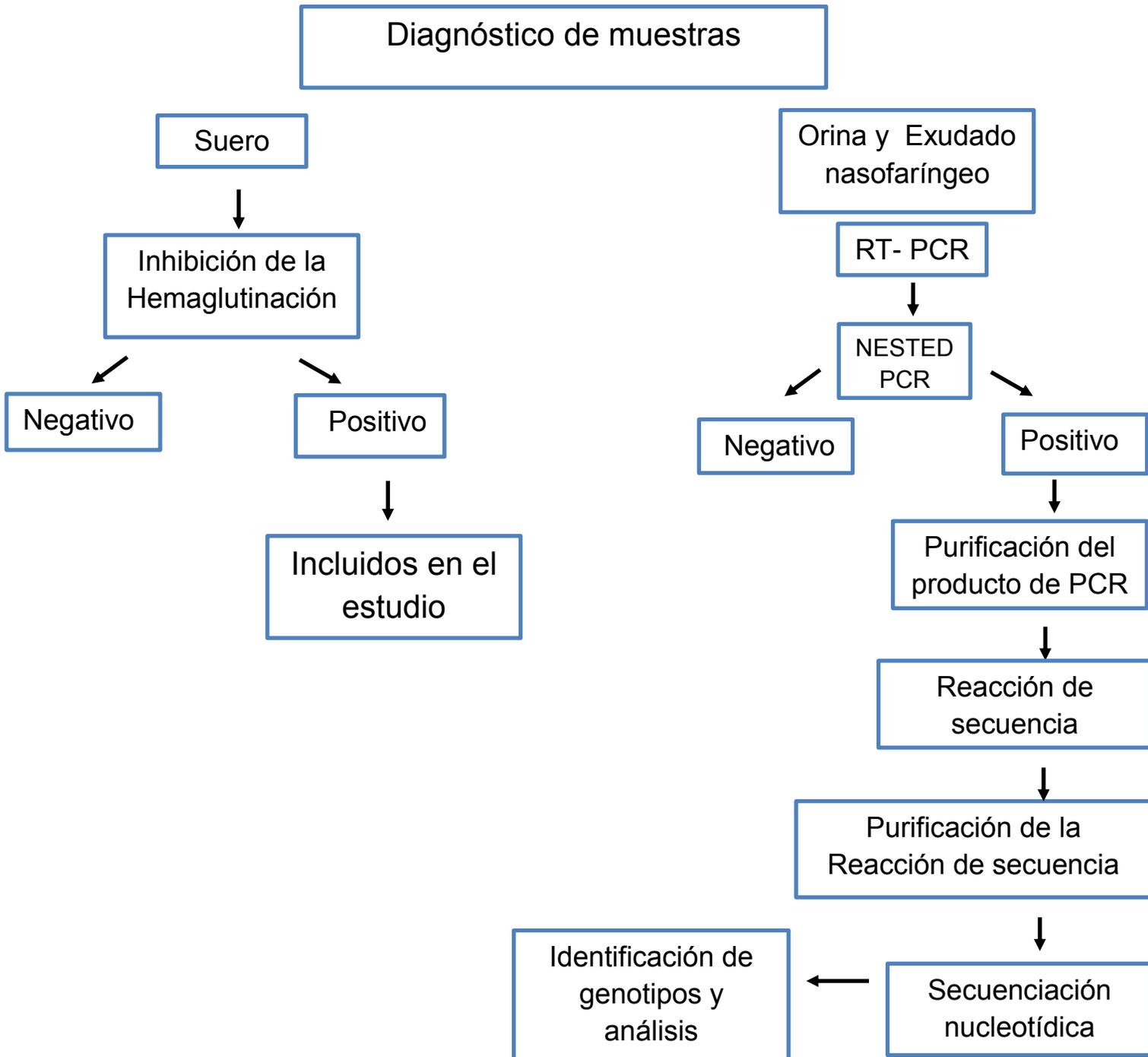
El protocolo de la investigación se evaluó por la Comisión Científica Especializada de Microbiología y por el Comité de Ética de la Investigación del IPK. La investigación se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico y Rabia del IPK. La confidencialidad de los resultados quedará en manos de estos cargos.

Se trabajó con muestras procedentes de la vigilancia que se realiza anualmente para las enfermedades prevenibles por vacunación, por lo cual la utilización de los datos asociados a las muestras, no requirió del consentimiento informado de los pacientes. No se revelará la identidad ni los datos de los pacientes, cuyas muestras están involucradas en el estudio. La información recopilada, por el equipo que participa en la investigación, será protegida por el mismo, y se utilizará para fines investigativos.

Para el trabajo en el laboratorio se tendrán en cuenta los procedimientos establecidos según los Protocolos Operacionales Normalizados del Laboratorio de Diagnóstico y Rabia del IPK. Se utilizará un gabinete de bioseguridad clase II según establece la resolución No. 103 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA).

-Flujo de trabajo

Para una mejor comprensión de la estrategia de trabajo se muestra un diagrama de flujo que resume el proceso.



RESULTADOS

1. Determinar la frecuencia de infección del virus de la parotiditis en Cuba en el periodo de enero 2017 a diciembre 2019

En los años de estudio se analizó un total de 11827 muestras clínicas correspondientes a pacientes con sospecha de parotiditis y confirmados, recibidas en el Laboratorio de Diagnóstico y Rabia como parte de la vigilancia epidemiológica que se realiza a las enfermedades transmisibles en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). Las muestras provenían de las 15 provincias del país y del municipio especial Isla de la Juventud.

En total se confirmaron 1266 casos de parotiditis, valor que comprendió la muestra de estudio de la investigación.

En la **figura 4** se observa la distribución anual por porcentos de las muestras recibidas como sospechosas y las confirmadas.

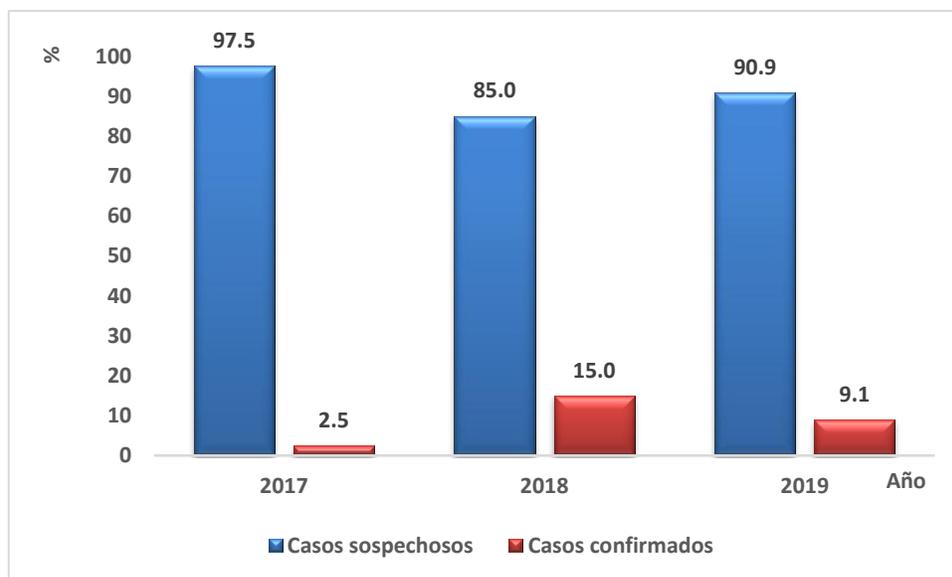


Figura 4: Casos sospechosos y confirmados con infección por el VP en el periodo de enero de 2017 a diciembre de 2019.

En el año 2018 se confirma el mayor número de casos (15,0%), seguido del 2019 (9,1%), mientras que el 2017 muestra los menores valores (2.5%)

La positividad de los tipos de muestras recibidas para la detección del virus de la parotiditis se pueden apreciar en la figura 5. La mayoría de las infecciones se diagnosticaron en muestras de suero.

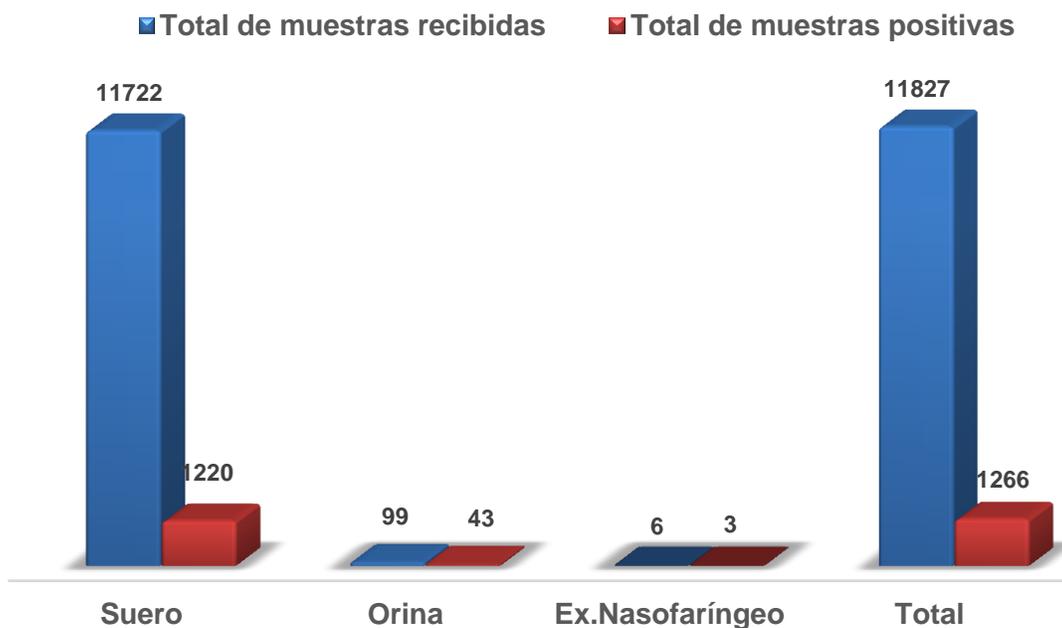


Figura 5. Distribución de la positividad al virus de la parotiditis por tipo de muestra recibida, 2017-2019.

2. Definir la relación entre la positividad al virus de la parotiditis y las variables demográficas y epidemiológicas, en el periodo analizado

Las características socio-demográficas de los pacientes confirmados se resumen en la **tabla 3**. Se desconoce la edad de los pacientes en el 7,8 % de las muestras analizadas (99). El 52.6% (666) de las muestras correspondieron a pacientes masculinos. Entre los 16 a 20 años de edad (30%, 380) se concentró el número de casos confirmados de la infección.

Tabla 3. Variables socio-demográficas de los casos confirmados con infección por el VP parotiditis, 2017-2019 (n=1266).

Variables Socio-Demográficas	No.	%
Género	1266	100
Masculino	666	52,6
Femenino	600	47,4
Edad	1266	100
0-5	119	9,4
06-oct	94	7,4
nov-15	126	9,9
16-20	380	30
21-30	210	16,6
≥31	238	18,8
Desconocido	99	7,8
Provincias	1266	100
PR	77	6,1
Art	132	10,4
LH	413	32,6
MAY	74	5,8
IJ (municipio especial)	7	0,6
MT	62	4,9
VC	201	15,9
CF	50	3,9
SS	32	2,5
CA	9	0,7
CG	53	4,2
LT	26	2,1
HOL	23	1,8
GR	43	3,4
SC	37	2,9
GT	27	2,1

PR: Pinar del Río, ART: Artemisa, LH: La Habana, MAY: Mayabeque, MT: Matanzas, VC: Villa Clara, CF: Cienfuegos, SS: Sancti Spíritus, CA: Ciego de Ávila, CG: Camagüey, LT: Las Tunas, HOL: Holguín, GR: Granma, SC: Santiago de Cuba, GT: Guantánamo, IJ: Isla de la Juventud.

La provincia con mayor número de muestras confirmadas fue La Habana (413, 32,6%), mientras que el menor número fue del municipio especial Isla de la Juventud (7, 0,6%).

La mayor positividad se observó en personas del sexo masculino en los tres años de estudio (**tabla 4**).

Tabla 4. Número absoluto y frecuencia de infecciones confirmadas con el VP por género, 2017-2019.

Años	Género		Total (%)
	Masculino (%)	Femenino (%)	
2017	37 (72,54)	14 (27,45)	51 (100)
2018	430 (51,5)	405 (48,5)	835 (100)
2019	199 (52,37)	181 (47,63)	380 (100)
Total(%)	666 (52,6)	600 (47,39)	1266 (100)

Los mayores valores absolutos de infección se registraron, en las provincias de La Habana (año 2018) y Villa Clara (año 2019). En el resto de las provincias del país y en el municipio especial Isla de la Juventud, el número de infecciones confirmadas por el laboratorio fue muy bajo respecto a estas dos provincias (**Figura 6**).

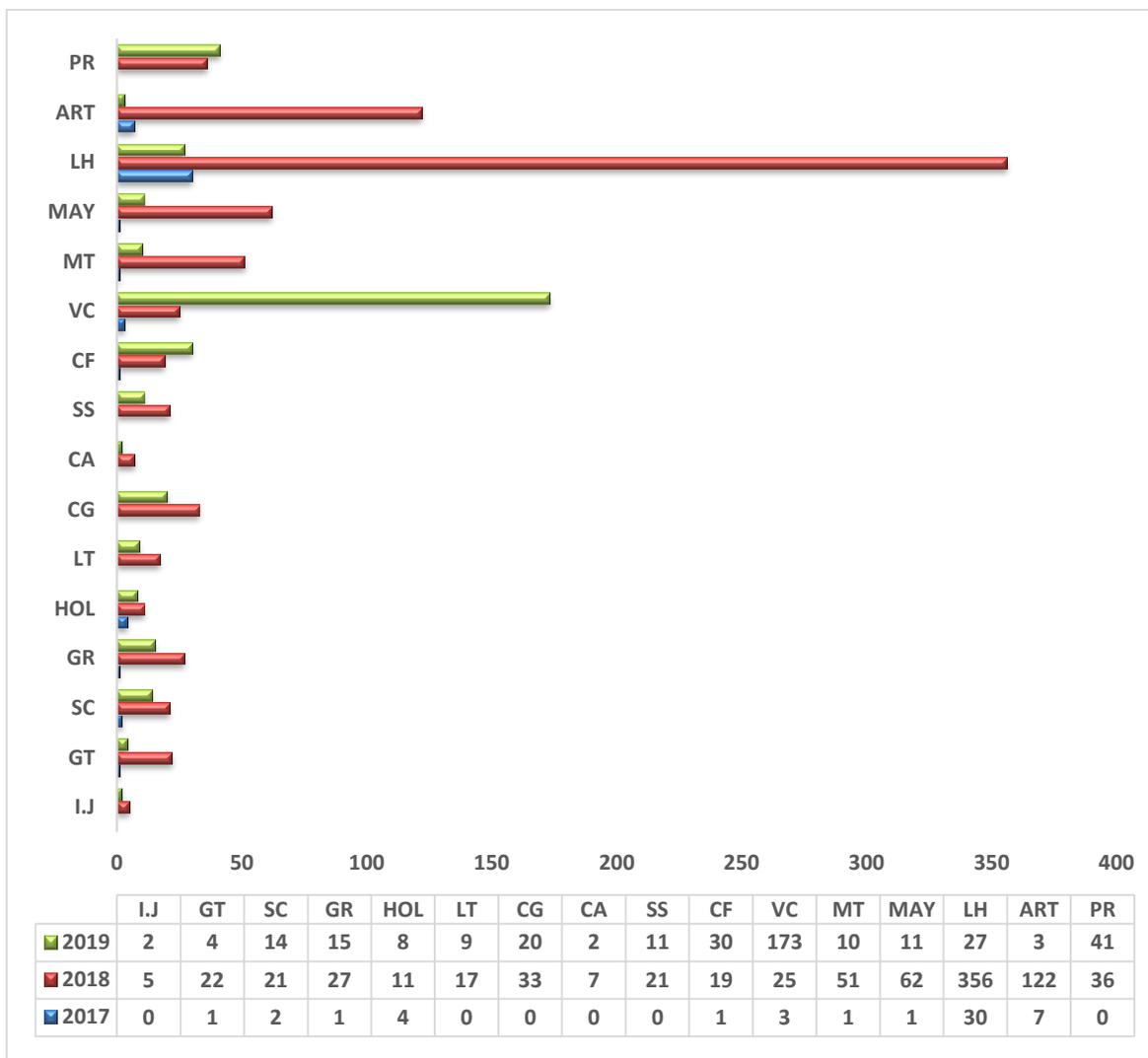


Figura 6. Valores absolutos de muestras confirmadas con infección por el VP por provincia, 2017-2019

PR: Pinar del Río, ART: Artemisa, LH: La Habana, MAY: Mayabeque, MT: Matanzas, VC: Villa Clara, CF: Cienfuegos, SS: Sancti Spíritus, CA: Ciego de Ávila, CG: Camagüey, LT: Las Tunas, HOL: Holguín, GR: Granma, SC: Santiago de Cuba, GT: Guantánamo, IJ: Isla de la Juventud.

Sin embargo, cuando se analiza la prevalencia (%) de las infecciones por provincia y por años, a pesar de que en La Habana (40%) (año 2018) y Villa Clara (39%) (año 2019) se observan los valores más elevados, las demás provincias y el municipio especial, presentaron valores similares en cada uno de estos años. El

año 2017 fue el de menor prevalencia, siendo Artemisa (14%), La Habana (14%) y Holguín (10%), las provincias con mayores valores (**Figura 7**).

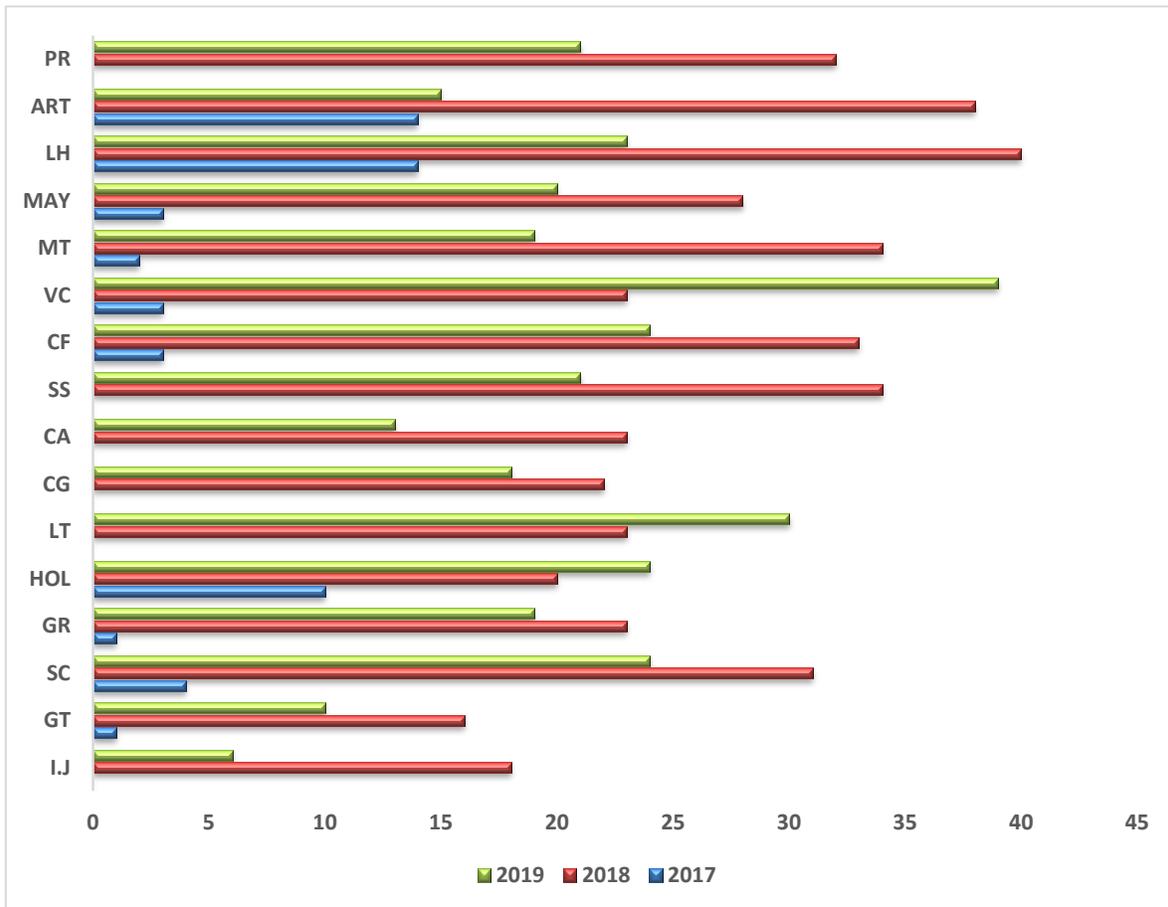


Figura 7. Prevalencia (%) de las infecciones con el VP por provincias, 2017-2019.

PR: Pinar del Río, ART: Artemisa, LH: La Habana, MAY: Mayabeque, MT: Matanzas, VC: Villa Clara, CF: Cienfuegos, SS: Sancti Spíritus, CA: Ciego de Ávila, CG: Camagüey, LT: Las Tunas, HOL: Holguín, GR: Granma, SC: Santiago de Cuba, GT: Guantánamo, IJ: Isla de la Juventud.

El total de casos por grupo etario en cada año de investigación se muestra en la figura 8.

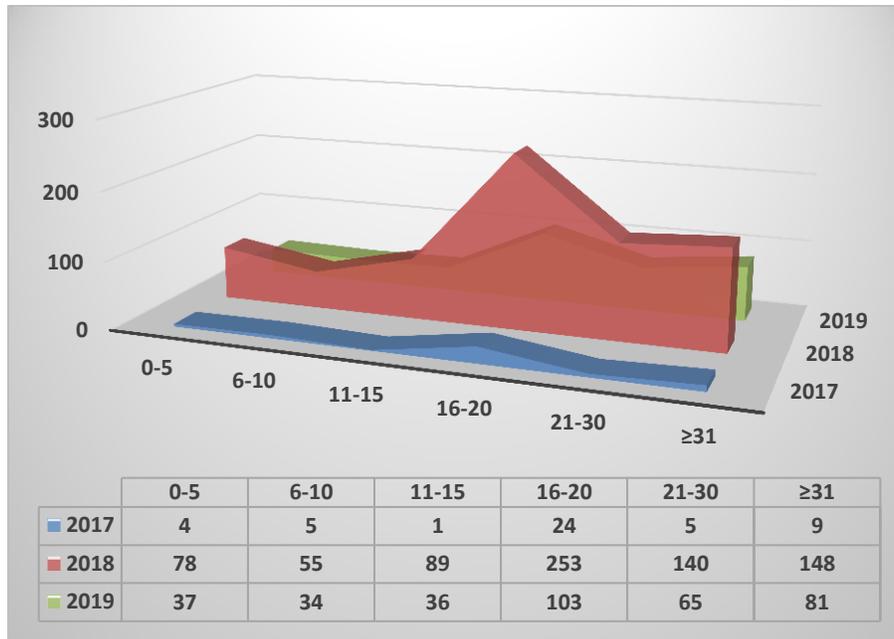


Figura 8: Distribución de casos confirmados con infección por el VP por grupo etario, 2017-2019.

La prevalencia (%) de la infección por el VP en el periodo de la investigación; indica que el grupo etario de 16-20 años presentó un valor superior (92,6%) al que comprende las edades de 21 a 30 años (73,6%). Estos dos grupos fueron los de mayor prevalencia de infección comparados con el resto (**Figura 9**).

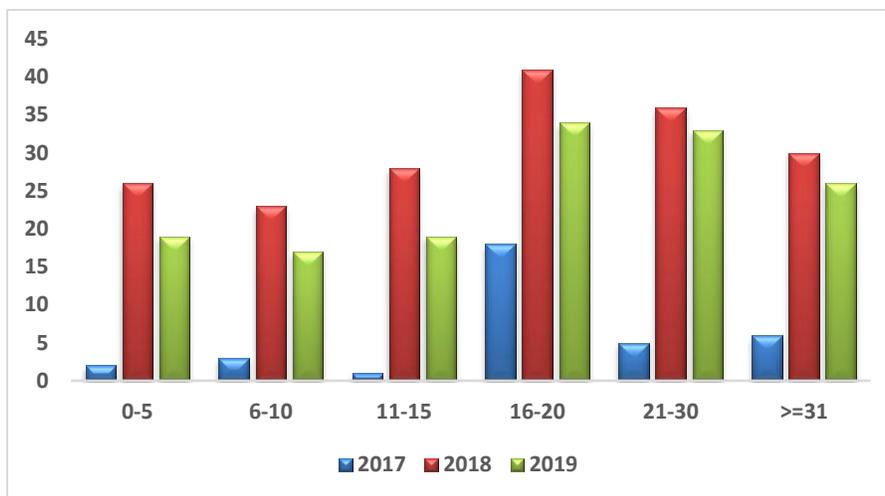


Figura 9. Prevalencia (%) de la infección con el VP por grupos etarios, 2017-2019.

Cuando los valores de prevalencia (%) de la infección de los dos grupos de edades más afectados fueron analizados de acuerdo a la distribución geográfica, la mayor prevalencia (%) se observó en la provincia de Holguín para ambos grupos. Para el rango de edad de 16 a 20 años, la provincia presentó valores de prevalencia de 50%, 60% y 100% anualmente. Para el rango de edad de 21 a 30 años presentó valores de 50% y 100% para los años 2018 y 2019, respectivamente. En el año 2017 para este último grupo etario la provincia no presentó casos.

3. Identificar los genotipos circulantes del virus en el periodo de estudio.

Entre enero de 2017 y diciembre de 2019 se recibieron en el Laboratorio de Diagnóstico y Rabia 105 muestras (6 de exudado nasofaríngeo y 99 de orina) para realizar el diagnóstico de parotiditis. Todas procedían de la vigilancia epidemiológica que se realiza en el Laboratorio para las enfermedades

prevenibles por vacunación. Para estas muestras, el método adecuado para realizar el diagnóstico de la infección por el VP es el PCR, en este caso una RT-PCR, seguido de una PCR anidada.

Del total de muestras, 46 fueron positivas al virus de la parotiditis. Aquellas que resultaron negativas fueron descartadas de la investigación. Para identificar los genotipos circulantes durante el periodo de estudio se llevó a cabo la secuenciación del gen SH. Se lograron genotipar exitosamente 15 muestras **(figura 10)**.

El proceso, desde el diagnóstico hasta la identificación de genotipos se realiza amplificando y secuenciando el gen SH (316 pb), el más variable del genoma viral y recomendado por la OMS para la determinación de genotipos.

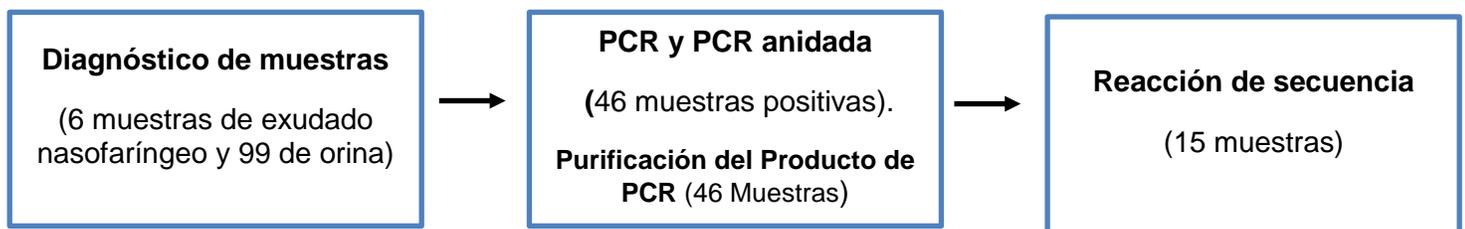


Figura 10: Procedimiento para identificar el genotipo del VP por secuenciación del gen SH, 2017 - 2019.

En la figura 11 se observa el árbol filogenético construido con las secuencias del gen SH del VP de las muestras positivas de los años 2017-2019. Se observan las secuencias cubanas agrupadas con secuencias de referencias **(51)** correspondientes a los genotipos A (9, 66.6%) y G (5, 33.3%).

MV

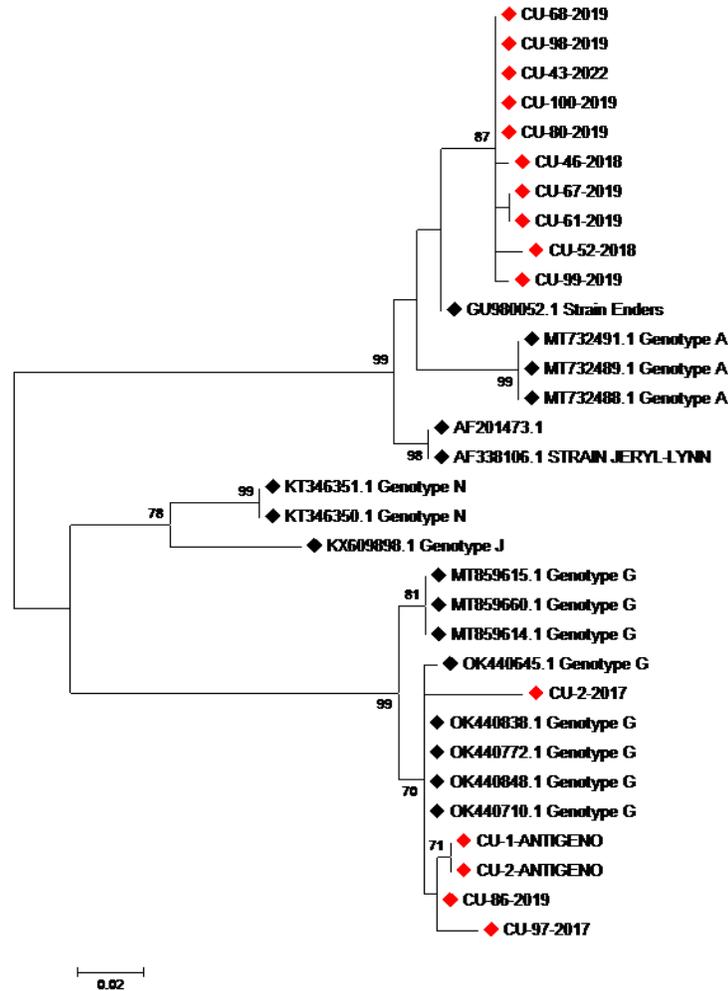


Figura 11: Árbol filogenético del gen SH del VP. El análisis incluyó 15 cepas del VP del periodo 2017-2019 en Cuba y 26 cepas del VP de referencia. La historia evolutiva se infirió utilizando el método de máxima verosimilitud (Mega) y el modelo de sustitución nucleotídica GTR. El árbol consenso, inferido se utilizó para representar la historia evolutiva de las secuencias analizadas. Los diferentes genotipos, marcados con un rombo negro, se nombran en el árbol. Las muestras cubanas secuenciadas en el presente estudio se encuentran marcadas con un rombo rojo, el resto son secuencias de referencia de los diferentes genotipos del VP. Solo se muestran en el árbol aquellas secuencias que en longitud y calidad permitieron la confección del mismo.

Las características epidemiológicas de las muestras genotipadas del VP se observan en la tabla 5.

Tabla 5: Características epidemiológicas de las muestras genotipadas del VP.

Años	Código de las muestras	Año de nacimiento	Genotipos según la secuencia del gen SH	Dosis de PRS recibida	Provincia/Municipio de Residencia	Nexo Epidemiológico
2017	2	1996	G	1	La Habana	
	97	1992	G	1	La Habana	
2018	43	1989	G	1	No refiere	Combinado del Este
	46	1977	A	No	No refiere	Combinado del Este
	52	1986	A	1	No refiere	Combinado del Este
	59	1999	G	1	Villa Clara	
2019	61	2016	A	1	Villa Clara	
	67	2002	A	2	Cienfuegos	Vocacional (Cumanayagua)
	68	2003	A	2	Cienfuegos	Vocacional (Cumanayagua)
	80	1977	A	No	Cienfuegos (Cumanayagua)	
	86	1984	G	No	Cienfuegos (Lajas)	
	88	1987	G	1	Cienfuegos	
	98	1990	A	1	Cienfuegos	
	99	2001	A	2	Cienfuegos	Vocacional (Cumanayagua)
	100	1996	A	1	Cienfuegos (Cruces)	

Discusión

En Cuba, la parotiditis es una enfermedad de notificación obligatoria. En 1986, en el programa nacional de inmunizaciones fue incluida una dosis de la vacuna Parotiditis-Rubeola-Sarampión (PRS), para niños de un año de edad; como parte de un plan estratégico que involucraba alcanzar una cobertura de hasta un 95% para eliminar el sarampión y la infección por rubeola congénita. En la Isla, la vacunación es gratuita, de acceso universal y está integrada en la atención primaria de salud **(52)**.

Después de la implementación de la vacuna PRS, la incidencia de la enfermedad decreció de 318,2 por 100 000 habitantes en 1986 a 0 en 1996 **(53)**. Sin embargo, en 2006 la incidencia se incrementó a 4,5 por 100 000 habitantes. Como consecuencia, una campaña de inmunización suplementaria se realizó a los jóvenes de 12 a 24 años. Luego, una segunda dosis de la vacuna PRS fue añadida al programa de inmunización para niños de seis años de edad. Posterior a la aplicación de la segunda dosis la cantidad de casos sospechosos y confirmados comenzó a decrecer de tal manera que no se reportaron más casos positivos entre 2010 y 2016 **(10)**.

A partir de 2017 se comenzaron a detectar en la provincia de La Habana los primeros casos de lo que serían varios brotes que se extenderían a todo el país en los años subsiguientes.

En la presente investigación fueron analizadas todas las muestras que se recibieron en el Laboratorio de Diagnóstico y Rabia durante el periodo de enero de 2017 a diciembre de 2019. Del total de muestras recibidas, 1266 fueron confirmadas como positivas a la infección por el virus de la parotiditis, que constituyen la muestra utilizada en el resto de la investigación.

En el periodo estudiado, el año 2017 fue el de menor positividad con 51 muestras; mientras que el 2018 fue el de mayor número de casos confirmados con 835, seguido por el 2019 con 380. Los países de América Latina exhibieron un

comportamiento similar: en esos años la cantidad de casos positivos creció o se mantuvo en valores elevados **(54)**.

La distribución de las muestras positivas analizadas fue la siguiente: 1220 muestras de suero, 43 de orina y 3 de exudado nasofaríngeo. Todas recibidas en el Laboratorio de Diagnóstico y Rabia procedentes de la vigilancia epidemiológica realizada en los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología (CPH), distribuidos por todo el archipiélago.

Cuando se analiza la positividad en porcentos, de cada tipo de muestra respecto al total de cada espécimen recibido, se observa que las muestras de exudado nasofaríngeo (50%) exhiben una mayor positividad, luego le siguen las muestras de orina(43,3%) y después las de suero(10,4%). Estos valores están condicionados por la cantidad de muestras que entran de cada tipo, como sospechosas al laboratorio.

El mayor número de tipo muestras que llega al laboratorio son sueros porque la técnica mayormente empleada para el diagnóstico de parotiditis es la inhibición de la hemaglutinación, el *gold standar* para el diagnóstico de parotiditis, cuyo objetivo es la detección de anticuerpos. Esta analiza la seroconversión a IgG a partir de sueros pareados extraídos con dos semanas de diferencia.

Dado que el diagnóstico por IH es cualitativo, es probable que se no se hayan podido diagnosticar más muestras positivas al virus cuando se trabajó con muestras de suero. Por tanto, los valores de positividad mostrados en porciento son marcadamente menores que los valores porcentuales de los casos sospechosos debido a esta dificultad con este diagnóstico clásico y por el hecho de que casi todas las muestras que se reciben son de suero, lo cual hace aumentar esta desventaja.

La PCR es realizada para confirmar los casos de parotiditis cuando las muestra de las que se disponen son, orina y exudado nasofaríngeo **(45)**. La muestra de exudado nasofaríngeo llega con menos frecuencia que la orina y el suero, porque

para obtener resultados válidos a partir de esta, es necesario tomarla en los 3 primeros días de inicio de los síntomas, durante los cuales el virus se replica primariamente en la mucosa del tracto respiratorio superior. En nuestro país, las muestras de orina se colectan entre el 5to y 7mo día después del inicio de los síntomas. Esta muestra también se recibe con menos frecuencia, ya que la carga viral de la parotiditis en orina es usualmente, muy baja, lo que impide una detección exitosa **(32)**.

La mayoría de las infecciones se presentó en personas que fueron previamente inmunizadas con la vacuna PRS, tanto en aquellas que recibieron una sola dosis como en las que recibieron dos dosis de dicha vacuna.

Nuestros resultados concuerdan con lo reportado a nivel internacional, en el mismo periodo de estudio. Investigaciones recientes, demuestran que a pesar de que la vacunación fue exitosa inicialmente y trajo consigo la disminución del riesgo de ocurrencia de la enfermedad, en los últimos años se han sucedido una serie de brotes en países con elevada cobertura de vacunación como son, por ejemplo, Estados Unidos, Canadá, Australia, Reino Unido, Francia y algunos países de América Latina **(55-57)**.

En el 2017 los estados miembros notificaron a la OMS 467 506 casos de parotiditis infecciosa, de los cuales el 55% (n=256 246) tuvo lugar en la Región del Pacífico Occidental. El resto de los casos se distribuyen uniformemente en las demás regiones. China fue el país con mayor número de casos con 252 740 casos en 2017, seguido de Nepal, Iraq, Gana, Burkina Faso y Colombia **(35)**.

En Cataluña, España, después del 2000, ocurrieron varios brotes a pesar de existir en la región una cobertura vacunal del 90% al 95%, para la primera y la segunda dosis respectivamente. Esto igualmente ha sido observado en Inglaterra y Países Bajos **(58)**.

La región de las Américas también se ha visto afectada, la situación es muy similar a la de los países europeos. Entre 2008 y 2017 se notificaron 50 698 casos

sospechosos de parotiditis infecciosa en México, con un promedio de 5 069 casos por año. El año con mayor número de casos notificados fue 2009 con 6 953 casos; la incidencia promedio fue de 4.3 casos por cada 100 000 habitantes con un rango de 2.8 a 6.7 casos **(59)**.

En Brasil, cuyo sistema de inmunización es uno de los más impresionantes del mundo; en el año 2016, ocurrió un brote que se consideró el más extenso en Sao Paulo en los últimos 10 años. Este es el estado más poblado en Brasil y el de mayor movimiento. Como consecuencia del brote, otros nueve estados se vieron afectados. Solo Espírito Santo y Río de Janeiro no reportaron casos **(60)**.

En Estados Unidos, un inusual número de casos se notificaron en 2016 y 2017. En los primeros años de la década del 2000, solo unos pocos casos fueron reportados anualmente, atestiguando el éxito de la vacuna. Este aparente decrecimiento fue interrumpido por un brote de más de 5 000 casos en el medio oeste del país en el 2006, seguido por un periodo de menor incidencia que se prolongó hasta el 2016 **(61)**.

Además, un estudio del 2017 realizado en 20 000 estudiantes universitarios en Iowa, después de un brote, determinó que el radio de ataque pasó de 1,6 casos por cada 1000, para aquellos que recibieron la segunda dosis de vacunación en los dos años que duró el brote, a 11,3 casos por 1000, para aquellos que recibieron la segunda dosis 13 años antes de que ocurriera el brote **(41)**.

Varias son las razones propuestas para explicar la inesperada ocurrencia de estos brotes: pérdida de la inmunidad, disminución de la eficacia de la vacuna, fallo en la vacunación primaria, fallo en la vacunación secundaria, percepción individual, entre otros **(62)**. También se ha expresado que cualquier alteración en la cadena de frío puede provocar cambios significativos en la potencia de la vacuna, con la consiguiente disminución en la respuesta inmune. Además, influyen en este aspecto la demora en su uso después de la reconstitución (más de 30 min) y la exposición a la luz **(63, 64)**.

En nuestra investigación, las provincias que mayor número de casos positivos presentaron fueron: La Habana con 413 (32,6%), Villa Clara con 201 (15,9%) y Artemisa con 132 (10,4%).

A su vez, estas tres provincias (La Habana, Artemisa y Villa Clara), fueron las de mayor prevalencia. Dichos territorios, especialmente La Habana, son zonas con un elevado grado de urbanización, por lo cual; estos resultados se corresponden con la evidencia de que en zonas altamente pobladas la diseminación del virus es más eficiente **(65)**.

En términos de densidad poblacional (habitantes por kilómetros cuadrado), La Habana, es la provincia que ocupa el primer lugar en el país; puesto que tiene mayor población por zona territorial, con 2294,2. Mientras, Artemisa y Villa Clara ocupan el tercer (127,0) y quinto lugar, respectivamente **(66)**. Sin embargo, Santiago de Cuba; segunda provincia en densidad poblacional presentó pocos casos confirmados anualmente (2 en 2017, 21 en 2018 y 14 en 2019).

Similar a lo sucedido en Santiago de Cuba, ocurrió con el resto de las provincias del país (excepto La Habana, Artemisa y Villa Clara), las que presentan altos porcentos de prevalencia, pero estos números están condicionados a la baja cantidad de casos sospechosos enviados al laboratorio. Esto sugiere que la vigilancia de casos probables y sospechosos en dichas provincias no es todo lo eficiente que debería, puesto que por cada caso confirmado de parotiditis deberían reportarse varios más. La parotiditis es una enfermedad que se transmite fácilmente, ya que una persona infectada puede propagar el virus al toser, estornudar o hablar; al compartir objetos que pueden contener saliva, como botellas de agua o tazas o al participar en actividades donde haya contacto cercano con otras personas. La etapa de transmisión ocurre desde unos pocos días después de que las glándulas salivales comiencen a inflamarse hasta cinco días después de que haya comenzado la inflamación **(44)**.

Por otra parte, aunque las complicaciones por parotiditis en poblaciones con alta cobertura de vacunación, no son frecuentes; sí ocurren. Luego, al recibir

solamente desde el punto de vista clínico, a pacientes que tienen la presentación típica de la enfermedad, o sea, el aumento de volumen de las glándulas parótidas, aquellos que tienen complicaciones asociadas a este virus como por ejemplo la orquitis (inflamación de los testículos) en el caso de los varones, y la encefalitis; y no tienen la sintomatología clásica, no son diagnosticados, puesto que no se piensa en este virus como causante de dichas complicaciones. Luego, la infección por el VP en estos casos no se descarta.

Esto también se debe al hecho de que algunas de las complicaciones asociadas a las paperas no son específicas de esta enfermedad. La pancreatitis, la meningitis, la sordera, así como las ya mencionadas anteriormente, son manifestaciones clínicas de varias entidades virales. Por tanto, cuando la condición de los pacientes que presentan complicaciones es asociada a otras enfermedades más frecuentes en Cuba, la sospecha recae sobre otros virus.

En cuanto al género de los pacientes, en el estudio se encontró un ligero predominio del sexo masculino, con 666 casos, que representan el 52, 37% del total de personas infectadas. Dicho resultado es similar a lo observado en un estudio realizado en nuestro país **(10)** y está en concordancia con lo reportado en la literatura **(15, 58, 67)**.

Aunque las razones no están claras, el hecho de que haya más personas masculinas infectadas se ha asociado con las diferencias inmunológicas que existen entre pacientes masculinos y femeninos. Se ha demostrado que las féminas poseen una respuesta inmune más fuerte de células T-cooperadoras 1, así como niveles de anticuerpos mayores y más persistentes comparados con los varones **(68, 69)**. Se ha visto también, que los hombres tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones aún después de haber sido vacunados. Veneti y colaboradores en el año 2018 encontraron que el riesgo de padecer orquitis, después de haber recibido la última dosis de la vacuna de PRS, se incrementa por cada año que pasa. Por otro lado, las diferencias en los comportamientos sociales entre ambos géneros, puede jugar un rol importante en este hecho. Por ejemplo:

los varones pasan más tiempo entre ellos realizando deportes en los que el contacto es estrecho, como pueden ser el fútbol o el basketball **(70)**.

Al analizar la variable edad, vemos que la mayoría de los casos tuvo lugar entre personas que se encontraban entre 16 a 20 años (380 casos; 92,6% de prevalencia). Estos valores son similares a los obtenidos en una investigación que analizaba la epidemiología de la enfermedad en Cuba, desde el año 1986 hasta el año 2007, donde se observa que este fue el segundo grupo de edad con mayor cantidad de casos asociados (420), el primero fue el grupo de 11 a 15 años de edad (460). Sin embargo, este resultado está en correspondencia con lo reportado en Cuba en una investigación realizada con anterioridad, que abarcaba el periodo 2004-2015 en la que se encontró a este grupo etario como el de mayor prevalencia **(9, 10)**. Pensamos, por tanto, que los jóvenes entre 16 y 20 años, en Cuba presentan mayor riesgo de padecer de parotiditis.

El grupo de edad de 21 a 30 años, tuvo una elevada cifra de casos confirmados (210) que representa una prevalencia del 73,6%, a diferencia de un estudio anterior donde apenas se reportaron 8 casos **(9, 10)**. Las personas con edad igual o mayor a 31 años fue el tercer grupo más afectado, con 238 casos, para un 62,3% de prevalencia. La mayoría de estas personas no habían recibido ninguna dosis de la vacuna PRS, por lo que la infección confirmada entre estos pacientes indica que estuvieron en contacto por vez primera con el virus de la parotiditis. Este resultado contrasta con los publicados en las investigaciones realizadas anteriormente, donde este grupo apenas presentó unos pocos casos **(10)**.

Aunque no con cifras tan elevadas como las anteriores, los niños de 0 a 5 años que tuvieron parotiditis en el periodo de estudio fueron 119, y los adolescentes de 11 a 15 años, 126. Los niños en edad escolar fueron el grupo que menos casos presentó, con 94.

Estos valores demuestran que hay un desplazamiento de la edad de presentación clínica de la parotiditis en nuestro país, lo cual se corresponde con lo descrito en la literatura, donde otros autores manifiestan que en la etapa de vacunación la edad

de presentación clínica de la parotiditis se ha trasladado desde niños a adolescentes y adultos jóvenes **(5)**.

Principalmente, en la etapa pre-vacunal, los niños mayormente afectados fueron los que se encontraban en edad escolar. Solamente, en los Estados Unidos hubo más de 185 000 casos de parotiditis entre niños de 5 a 9 años de edad. Después de la implementación de la vacuna PRS, cerca de 1/3 de los casos confirmados estaban entre los jóvenes de 15 años o más, patrón que fue observado, además, en los casos de sarampión y rubeola como resultado de los programas de inmunización aplicados **(71)**. Otros brotes ocurridos entre universitarios, han sido reportados por Greenland y colaboradores en 2012 en Países Bajos, por Whyte y colaboradores en el 2009 en Irlanda, y por Wei y colaboradores en 2020 en Canadá, por solo mencionar algunos ejemplos. Los casos incluían siempre a personas que habían recibido previamente al menos una dosis de la vacuna PRS.

La edad media de los pacientes infectados en la zona este, en el 2002 en Alemania, fue de 11 años. Sin embargo, en 2016, la media de la edad en esa región fue de 33 años, y en Alemania Occidental de 25 años. En contraste con la Alemania del Este, entre 2002 y 2016, en la Alemania Occidental se reportó un mayor número de brotes siendo la edad media de los afectados en ese periodo de 16 a 24 años **(15)**.

Al analizar la prevalencia de los dos grupos de edades más afectados por regiones, se observa que la provincia de Holguín es la que mayor prevalencia tuvo en ambos grupos. Aunque esta región reportó poca cantidad de casos en los tres años, 23 en total, los valores de prevalencia obtenidos indican que de esa cantidad la mayor parte de los casos se encontraba entre las edades de mayor ocurrencia de la infección.

Para determinar los genotipos del VP circulantes en Cuba en el periodo de enero 2017 a Diciembre 2019, se realizó un análisis filogenético basado en la secuenciación del gen SH. Dicho análisis mostró resultados robustos, con valores de bootstraps ≥ 80 %.

Los resultados muestran la existencia de dos genotipos circulantes en Cuba, en el periodo en que se desarrolló la investigación: los genotipos G (6, 40%) y A (9, 60%).

En Cuba no se habían determinado previamente los genotipos circulantes de este agente. El hecho que se desconozcan los genotipos presentes en el país con anterioridad a esta investigación, impide saber cuáles son los que más han conllevado a la aparición de los brotes ocurridos antes de 2017 y, por consiguiente, los que han predominado a lo largo de la historia de los brotes cubanos.

El análisis filogenético muestra la co-circulación de los genotipos A y G durante el periodo de estudio. No se puede concluir formalmente que el genotipo A predomina sobre el genotipo G, ya que una limitante de la presente investigación es la poca cantidad de muestras que se pudieron secuenciar con éxito: 15 muestras de 46 posibles.

Las causas por las que no se logró una secuenciación exitosa en las 31 muestras restantes, pueden ser varias. Por ejemplo, cantidad y calidad del ADN obtenido, la calidad de los cebadores; así como calidad y longitud del segmento secuenciado **(72)**.

En los tres años escogidos para realizar el estudio, hubo circulación del genotipo G. La circulación de este genotipo está en consonancia con lo que se reporta a nivel internacional. En la última década, brotes del virus de la parotiditis asociados a este genotipo han ocurrido en Europa y Norteamérica.

En 2017, por ejemplo, fue descrito un brote de paperas asociado al genotipo G en una población altamente vacunada con la PRS, en Escocia **(73)**.

En Países Bajos se reportó la circulación del genotipo G en 2004 en una población de estudiantes que se encontraba en un hotel. Luego otro brote pequeño vinculado a este genotipo se reportó a finales de 2009; y a este le siguió otro, pero esta vez a nivel nacional. Desde esa fecha hasta la actualidad, el genotipo G es el

que predomina en Países Bajos y es, por tanto, el causante de todos los brotes **(27, 74)**.

En Portugal entre 2019 y 2020, se reportó la presencia de genotipo G en un brote ocurrido entre niños en edad escolar completamente vacunados; y, también en adultos jóvenes **(75)**.

Entre septiembre de 2016 y diciembre de 2018, en un brote detectado en Manitoba (Canadá), todos los aislamientos pertenecían al genotipo G **(76)**.

Aunque países de Europa y Estados Unidos son los que principalmente reportan brotes de paperas vinculados al genotipo G, en algunos países de América Latina y de Asia también se ha detectado su presencia.

En Chile, en 2018 se advirtió de la circulación de este genotipo a partir del análisis de dos casos clínicos **(5)**.

En Brasil, se realizó un estudio para conocer qué genotipos habían estado presentes en el gran brote ocurrido en el estado de Sao Paulo. Además de los genotipos K y M, estaba presente el genotipo G **(77)**.

En un estudio de corte transversal realizado en China que pretendía describir la epidemiología del virus en el país, se encontró que en cuatro provincias circulaba el genotipo G. Sin embargo, los estudios han descrito que el genotipo que predomina en este país es el F **(22)**.

También en Japón se detectó la circulación del genotipo G en 2004 y 2013 **(78, 79)**.

Los pacientes cubanos diagnosticados positivamente con este genotipo, no tenían ningún nexo epidemiológico entre ellos. No fue posible determinar si viajaron al exterior del país o si estuvieron en contacto con algún extranjero o familiar procedente de fuera de Cuba.

Excepto los casos mencionados con anterioridad el resto de las secuencias de nuestro estudio, presentan el virus de la parotiditis perteneciente al genotipo A y, tienen vínculo epidemiológico entre ellos. Los pacientes del 2018 eran reclusos de la prisión del Combinado del Este. Los del 2019 eran todos de la provincia de Cienfuegos y tres de ellos eran becarios del Instituto Preuniversitario Vocacional de Ciencias Exactas (IPVCE) "Carlos Roloff", donde se desencadenó un pequeño brote. Dicha escuela se encuentra ubicada en el municipio cienfueguero de Cumanayagua, en el cual reside otro paciente reportado con genotipo A.

En estas ocasiones en las que se observa la convivencia de dos o más individuos en lugares cerrados, como es la prisión o la escuela becada, se evidencia que la intensidad de la exposición es un factor contribuyente a las apariciones recientes de brotes. La transmisión es más probable que ocurra en estos ambientes, y de una manera más intensa, puesto que en estos lugares se suceden contactos prolongados entre las personas, lo cual facilita la exposición al virus durante las interacciones sociales. Esta afirmación se corresponde con lo reportado en varios estudios, los cuales explican que existe una menor efectividad de la vacuna y un mayor riesgo de infección en lugares donde hay una mayor congregación de personas **(71)**.

Nuestros hallazgos de pacientes con genotipo A contrastan con lo que se escribe a nivel mundial respecto a este genotipo, ya que cepas salvajes del mismo circularon por última vez en Europa y Estados Unidos en la década de 1990 **(8)**. No obstante, en el año 2001, fueron hallados dos casos con genotipo A en Madrid, España. La comparación de estas secuencias con otras pertenecientes al mismo genotipo y con la cepa Jeryl Lynn (administrada en España), reveló diferencias importantes entre los aislamientos salvajes encontrados y la cepa vacunal. De acuerdo con estos datos, los autores de la investigación, concluyeron que esas dos secuencias parecen ser de un nuevo tipo de cepa salvaje de genotipo A. Ambos pacientes habían recibido una dosis de la vacuna 5 y 8 años, respectivamente, antes de la ocurrencia del brote **(80)**.

También, en Argentina, en el año 2000, fue descrito un caso infectado con genotipo A salvaje **(81)**.

Más recientemente, en el año 2016, en Reino Unido se reportó la presencia de genotipo A en un paciente con encefalitis crónica, pero el caso estuvo vinculado a la vacunación con la cepa Jeryl Lynn **(82)**.

Luego, al ser el primer estudio de caracterización genética del VP en Cuba, se podría decir que es muy probable que antes de los hallazgos de esta investigación en el país circulara el genotipo A desde hace varios años; lo cual no se puede descartar, justamente por el hecho de que no se secuenció el virus con anterioridad.

Varias han sido las causas propuestas que intentan dar una explicación a la aparición de brotes de parotiditis. De forma general, los brotes surgen cuando el número acumulado de personas susceptibles es mayor que el umbral epidémico para una población determinada **(83)**.

La posible explicación para la acumulación de individuos susceptibles en Cuba, puede incluir, el hecho de que muchos han recibido una sola dosis de la vacuna PRS, puesto que la segunda dosis se implementó en nuestro país en el año 2006. Del total de casos diagnosticados en este estudio, 456 (60,9%) (entre los que están incluidos la mayoría a los que se les determinó el genotipo) solo recibieron una dosis de la vacuna.

Otra posible causa que se plantea es el hecho de que los anticuerpos neutralizantes generados por la vacunación son específicos a la cepa vacunal empleada y, por tanto, la protección humoral no es lo suficientemente eficiente para prevenir la infección con virus de parotiditis de genotipos diferentes, y la consiguiente progresión de la enfermedad **(84)**.

La pérdida de inmunidad pudiera ser otro factor influyente. Esta se asocia con el periodo de tiempo transcurrido desde que se recibió la vacunación hasta que se inician los brotes. A mayor tiempo transcurrido disminuye la inmunidad del

individuo. Es un factor que también se ha asociado, con un fallo en la vacunación secundaria **(62)**.

Algunos estudios han demostrado que luego de recibir la segunda dosis de la PRS, los niveles de anticuerpos decaen después de doce años a valores similares a los que se observan antes de la aplicación de esta dosis **(85)**.

En nuestro estudio solo 504 pacientes (39,81%) habían recibido dos dosis de la vacunación. De ellos 89 (17,6%), hacía doce años que se habían inmunizado con la segunda dosis.

La diversidad antigénica también se sugiere como otra causa. En un experimento llevado a cabo en Croacia, en el que se desarrolló un ensayo de neutralización enfrentando muestras con genotipo G a varias cepas vacunales de diferentes genotipos (Jeryl Lynn, Urabe Am9 y JL5), se concluyó que la evolución viral, más que la pertenencia a un genotipo determinado, resulta en una divergencia antigénica de las cepas vacunales, lo cual hace decrecer la capacidad neutralizante de los anticuerpos inducidos por vacuna **(86)**.

Debido a que los brotes ocurren en poblaciones que reciben diversas cepas vacunales, el desarrollo de una nueva vacuna probablemente no solucionaría este problema. En vez de eso, la re-vacunación con una tercera dosis en adolescentes pudiera reparar la pérdida de inmunidad **(87)**. De hecho, el CDC recomienda una tercera dosis de la PRS como medida post-exposición para controlar los brotes **(88)**.

Conclusiones

- ✓ La elevada prevalencia de la infección por el virus de la parotiditis evidencia la necesidad de realizar una mejor pesquisa de la enfermedad en todas las provincias del país.
- ✓ Los adolescentes y jóvenes de 16 a 20 años, especialmente los varones, constituyen la población más vulnerable para desarrollar la infección por el virus de la parotiditis, lo que indica la importancia de realizar investigaciones más amplias en estos grupos de riesgo.
- ✓ Se observa la diversidad genética del virus de la parotiditis circulante en Cuba, con la detección de los genotipos A y G.
- ✓ La mayoría de los casos ocurrieron en personas que habían recibido dos dosis de la vacuna, lo cual sugiere que un fallo en la vacunación secundaria pudiera ser uno de los factores que más influyen en la aparición de los brotes cubanos.

Recomendaciones

- ✓ Mejorar e intensificar la vigilancia clínica de casos probables y sospechosos de presentar paperas, abordando todas las manifestaciones de la enfermedad, que van desde la presentación clásica hasta las complicaciones más frecuentes; para proveer mejores estimados de los datos de la enfermedad en Cuba.

- ✓ Recomendar al Programa de Inmunoprevenibles incluir otra dosis de la vacuna PRS solo para conferir una protección individual adicional contra las paperas durante los brotes, como lo demuestran estudios de efectividad de la vacuna realizados durante los mismos.

- ✓ Realizar la secuenciación de otros genes del virus de la parotiditis para establecer una comparación entre el genotipo A encontrado en el periodo de estudio, con los genotipos A que circularon en la década de 1990 y el de la cepa vacunal Jeryl Lynn.

Bibliografía

1. L'Huillier AG, Eshaghi A, Racey CS, Ogbulafor K, Lombos E, Higgins RR, et al. Laboratory testing and phylogenetic analysis during a mumps outbreak in Ontario, Canada. *Virology journal*. 2018;15(1):98.
2. Dilcher M, Barratt K, Douglas J, Strathdee A, Anderson T, Werno A. Monitoring Viral Genetic Variation as a Tool To Improve Molecular Diagnostics for Mumps Virus. *Journal of clinical microbiology*. 2018;56(10).
3. Cui A, Zhu Z, Hu Y, Deng X, Sun Z, Zhang Y, et al. Mumps Epidemiology and Mumps Virus Genotypes Circulating in Mainland China during 2013-2015. *PloS one*. 2017;12(1):e0169561.
4. Hernández R RI, Giambalvo G D, Montilla M MdIA, Morón R DM, Ghisays G. Diversidad antigénica de las vacunas antiparotidíticas. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*. 2013;44:46-51.
5. Le-Corre N, Barría S, López T, Martínez-Valdebenito C, Contreras AM, Ferrés M. [Parotiditis in Chile: clinical and molecular characterization of two cases in a highly vaccinated population]. *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*. 2018;35(2):198-203.
6. Sun X, Tang F, Hu Y, Deng X, Wang Z, Zhou M, et al. High risk of mumps infection in children who received one dose of mumps-containing vaccine: waning immunity to mumps in children aged 2-5 years from kindergartens in Jiangsu Province, China. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2020;16(7):1738-42.

7. Ramanathan R, Voigt EA, Kennedy RB, Poland GA. Knowledge gaps persist and hinder progress in eliminating mumps. *Vaccine*. 2018;36(26):3721-6.
8. Jin L, Örvell C, Myers R, Rota PA, Nakayama T, Forcic D, et al. Genomic diversity of mumps virus and global distribution of the 12 genotypes. *Reviews in medical virology*. 2015;25(2):85-101.
9. Ribas DMdIA. La vigilancia de laboratorio como soporte fundamental del programa de eliminación del sarampión , la rubeola y la parotiditis en Cuba, 1988-2007. Repositorio de Tesis , IPK. 2010:121.
10. Ribas MLA, Tejero Y, Valcarcel M, Galindo M, Cordero Y, Sausy A, et al. Mumps epidemiology in Cuba between 2004 and 2015. *Archives of virology*. 2018;163(11):3059-64.
11. Debove G M AC. Maladies Infectieuses. Manuel de Médecine. 1897; TomoVIII.:p 529-50.
12. Bariety M CC. Histoire de la Médecine. EdLibrairie Artheme Fayard Paris Francia 1963:p 94-113.
13. Laval R E. [Notes about epidemic parotitis (mumps)]. *Revista chilena de infectologia : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia*. 2005;22(3):282-4.
14. Mandary MB, Masomian M, Poh CL. Impact of RNA Virus Evolution on Quasispecies Formation and Virulence. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(18).

15. Beleni AI, Borgmann S. Mumps in the Vaccination Age: Global Epidemiology and the Situation in Germany. *International journal of environmental research and public health*. 2018;15(8).
16. Howley DMKaPM. *Fields Virology Sixth Edition*. 2013.
17. Kondo K, Bando H, Kawano M, Tsurudome M, Komada H, Nishio M, et al. Sequencing analyses and comparison of parainfluenza virus type 4A and 4B NP protein genes. *Virology*. 1990;174(1):1-8.
18. Jack PJ, Boyle DB, Eaton BT, Wang LF. The complete genome sequence of J virus reveals a unique genome structure in the family Paramyxoviridae. *Journal of virology*. 2005;79(16):10690-700.
19. Galván Morales MA, Sarmiento Silva RE, Manjarrez Zavala ME. Modulación de la síntesis de interferones en la infección por paramixovirus. *Neumología y cirugía de tórax*. 2013;72(3):241-55.
20. Lamb RA, Paterson RG, Jardetzky TS. Paramyxovirus membrane fusion: lessons from the F and HN atomic structures. *Virology*. 2006;344(1):30-7.
21. Rubin S, Eckhaus M, Rennick LJ, Bamford CG, Duprex WP. Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus. *The Journal of pathology*. 2015;235(2):242-52.
22. Cui A, Rivaller P, Zhu Z, Deng X, Hu Y, Wang Y, et al. Evolutionary analysis of mumps viruses of genotype F collected in mainland China in 2001-2015. *Scientific reports*. 2017;7(1):17144.

23. Noton SL, Fearn R. Initiation and regulation of paramyxovirus transcription and replication. *Virology*. 2015;479:545-54.
24. al Be. Jawetz, Melnick y Adelberg *Microbiología médica* 25a. edición. 2010.
25. Su SB, Chang HL, Chen AK. Current Status of Mumps Virus Infection: Epidemiology, Pathogenesis, and Vaccine. *International journal of environmental research and public health*. 2020;17(5).
26. Wu H, Wang F, Tang D, Han D. Mumps Orchitis: Clinical Aspects and Mechanisms. *Frontiers in immunology*. 2021;12:582946.
27. Gouma S, Koopmans MP, van Binnendijk RS. Mumps virus pathogenesis: Insights and knowledge gaps. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2016;12(12):3110-2.
28. Mourez T, Dina J. [Mumps virus: a comprehensive review]. *Virologie (Montrouge, France)*. 2018;22(4):199-214.
29. al. DKe. Harrison : principios de Medicina Interna, 19e 2015.
30. Barskey AE, Schulte C, Rosen JB, Handschur EF, Rausch-Phung E, Doll MK, et al. Mumps outbreak in Orthodox Jewish communities in the United States. *The New England journal of medicine*. 2012;367(18):1704-13.
31. Nelson KR, Marienau KJ, Barskey AE, Schembri C. No evidence of mumps transmission during air travel, United States, November 1, 2006-October 31, 2010. *Travel medicine and infectious disease*. 2012;10(4):165-71.

32. CDC. Guidance for Optimizing Mumps Testing. 2020.
33. Galazka AM, Robertson SE, Kraigher A. Mumps and mumps vaccine: a global review. *Bulletin of the World Health Organization*. 1999;77(1):3-14.
34. Anderson RM, Crombie JA, Grenfell BT. The epidemiology of mumps in the UK: a preliminary study of virus transmission, herd immunity and the potential impact of immunization. *Epidemiology and Infection*. 1987;99(1):65-84.
35. WHO. La vacunación hoy y en el próximo decenio. 2018.
36. Lewnard JA, Grad YH. Vaccine waning and mumps re-emergence in the United States. *Science translational medicine*. 2018;10(433).
37. Koskiniemi M, Vaheri A. Effect of measles, mumps, rubella vaccination on pattern of encephalitis in children. *Lancet (London, England)*. 1989;1(8628):31-4.
38. Kosutic-Gulija T, Forcic D, Santak M, Ramljak A, Mateljak-Lukacevic S, Mazuran R. Genetic heterogeneity of L-Zagreb mumps virus vaccine strain. *Virology journal*. 2008;5:79.
39. Smith MJ, Jordanov E, Sheng X, Tsang PH. Safety and Immunogenicity of DTap5-IPV Compared With DTap5 Plus IPV as the Fifth Dose in

Children 4-6 Years of Age. *The Pediatric infectious disease journal*. 2017;36(3):319-25.

40. May M, Rieder CA, Rowe RJ. Emergent lineages of mumps virus suggest the need for a polyvalent vaccine. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2018;66:1-4.
41. Gu XX, Plotkin SA, Edwards KM, Sette A, Mills KHG, Levy O, et al. Waning Immunity and Microbial Vaccines-Workshop of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. *Clinical and vaccine immunology : CVI*. 2017;24(7).
42. Dayan GH, Quinlisk MP, Parker AA, Barskey AE, Harris ML, Schwartz JM, et al. Recent resurgence of mumps in the United States. *The New England journal of medicine*. 2008;358(15):1580-9.
43. Vandermeulen C, Roelants M, Vermoere M, Roseeuw K, Goubau P, Hoppenbrouwers K. Outbreak of mumps in a vaccinated child population: a question of vaccine failure? *Vaccine*. 2004;22(21-22):2713-6.
44. CDC. *VPD Surveillance Manual* 9 Mumps: Chapter 9.1. 2015.
45. González All, Moreno JZ. Parotiditis reemergente: Un nuevo brote epidémico. *Revista Médica Hondureña*. 2018;86(1-2):64-70.

46. Rivaller P, Abernathy E, Icenogle J. Genetic diversity of currently circulating rubella viruses: a need to define more precise viral groups. *The Journal of general virology*. 2017;98(3):396-404.
47. Stapleton PJ, Eshaghi A, Seo CY, Wilson S, Harris T, Deeks SL, et al. Evaluating the use of whole genome sequencing for the investigation of a large mumps outbreak in Ontario, Canada. *Scientific reports*. 2019;9(1):12615.
48. Maillet M, Bouvat E, Robert N, Baccard-Longère M, Morel-Baccard C, Morand P, et al. Mumps outbreak and laboratory diagnosis. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2015;62:14-9.
49. Carballal G, Oubiña JR. *Virología Médica*. 2014.
50. Jin L, Beard S, Brown DW. Genetic heterogeneity of mumps virus in the United Kingdom: identification of two new genotypes. *The Journal of infectious diseases*. 1999;180(3):829-33.
51. WHO. Mumps virus nomenclature update: 2012 A report based on the WHO Mumps Nomenclature Update Meeting. Geneva, 22 September 2011. 2012
52. Ambrón LL, Torres LIE, Carreras AP, Santana BMG, Sardiña MÁ G, Aguirre SR, et al. [Cuban experience in immunization, 1962-2016Experiência cubana em imunização, 1962-2016]. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*. 2018;42:e34.

53. M V. Comportamiento de la parotiditis en Cuba, años 2000-2006. Unpublished master thesis. 2007.
54. Trejos MLA-A y AM. Parotiditis: Una enfermedad inmunoprevenible que requiere atención. *Revista chilena de infectología*. 2019;36(6).
55. Peltola H, Kulkarni PS, Kapre SV, Paunio M, Jadhav SS, Dhere RM. Mumps outbreaks in Canada and the United States: time for new thinking on mumps vaccines. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007;45(4):459-66.
56. Brockhoff HJ, Mollema L, Sonder GJ, Postema CA, van Binnendijk RS, Kohl RH, et al. Mumps outbreak in a highly vaccinated student population, The Netherlands, 2004. *Vaccine*. 2010;28(17):2932-6.
57. Vareil MO, Rouibi G, Kassab S, Soula V, Duffau P, Lafon ME, et al. Epidemic of complicated mumps in previously vaccinated young adults in the South-West of France. *Medecine et maladies infectieuses*. 2014;44(11-12):502-8.
58. Barrabeig I, Antón A, Torner N, Pumarola T, Costa J, Domínguez À. Mumps: MMR vaccination and genetic diversity of mumps virus, 2007-2011 in Catalonia, Spain. *BMC infectious diseases*. 2019;19(1):954.
59. Flores GDdC. Infectious Viral Mumps: Review, Epidemiological Panorama and Challenges. *Aten Fam*. 2018;25:162-8.
60. Urbano PR, Fujita DM, Romano CM. Reemergence of mumps in São Paulo, Brazil - the urgent need for booster shot campaign to prevent a

serious infectious disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2017;50(4):535-8.

61. Wohl S, Metsky HC, Schaffner SF, Piantadosi A, Burns M, Lewnard JA, et al. Combining genomics and epidemiology to track mumps virus transmission in the United States. *PLoS biology*. 2020;18(2):e3000611.
62. Connell AR, Connell J, Leahy TR, Hassan J. Mumps Outbreaks in Vaccinated Populations-Is It Time to Re-assess the Clinical Efficacy of Vaccines? *Frontiers in immunology*. 2020;11:2089.
63. Kancherla VS, Hanson IC. Mumps resurgence in the United States. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006;118(4):938-41.
64. Domínguez A, Torner N, Castilla J, Batalla J, Godoy P, Guevara M, et al. Mumps vaccine effectiveness in highly immunized populations. *Vaccine*. 2010;28(20):3567-70.
65. Doshi RH, Alfonso VH, Hoff NA, Mukadi P, Gerber S, Bwaka A, et al. Evidence of Mumps Infection Among Children in the Democratic Republic of Congo. *The Pediatric infectious disease journal*. 2017;36(5):462-6.
66. Oficina Nacional de Estadística e Información RdC. anuario demográfico de Cuba 2020.
67. Indenbaum V, Hübschen JM, Stein-Zamir C, Mendelson E, Sofer D, Hindiyeh M, et al. Ongoing mumps outbreak in Israel, January to August 2017. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2017;22(35).

68. Kenny L, O'Kelly E, Connell J, De Gascun C, Hassan J. Mumps outbreaks in a highly vaccinated population: Investigation of a neutralization titre against the current circulating wildtype genotype G5 mumps virus. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2016;74:8-12.
69. Muenchhoff M, Goulder PJ. Sex differences in pediatric infectious diseases. *The Journal of infectious diseases*. 2014;209 Suppl 3(Suppl 3):S120-6.
70. Sane J, Gouma S, Koopmans M, de Melker H, Swaan C, van Binnendijk R, et al. Epidemic of mumps among vaccinated persons, The Netherlands, 2009-2012. *Emerging infectious diseases*. 2014;20(4):643-8.
71. Lam E, Rosen JB, Zucker JR. Mumps: an Update on Outbreaks, Vaccine Efficacy, and Genomic Diversity. *Clinical microbiology reviews*. 2020;33(2).
72. Anónimo. Problemas más frecuentes y soluciones en la secuenciación. Nanopdfcom. 2018.
73. Willocks LJ, Guerendiain D, Austin HI, Morrison KE, Cameron RL, Templeton KE, et al. An outbreak of mumps with genetic strain variation in a highly vaccinated student population in Scotland. *Epidemiology and infection*. 2017;145(15):3219-25.
74. Shah AA, Bodewes R, Reijnen L, Boelsums T, Weller CM, Fanoy EB, et al. Outbreaks of mumps genotype G viruses in the Netherlands between

October 2019 and March 2020: clusters associated with multiple introductions. *BMC infectious diseases*. 2021;21(1):1035.

75. Perez Duque M, San-Bento A, León L, Custódio P, Esperança MA, Albuquerque MJ, et al. Mumps outbreak among fully vaccinated school-age children and young adults, Portugal 2019/2020. *Epidemiology and infection*. 2021;149:e205.
76. Wei Y, Wilkinson K, Rusk R, Kadkhoda K, Loepky C. Large community mumps outbreak in Manitoba, Canada, September 2016-December 2018. *Canada communicable disease report = Relevé des maladies transmissibles au Canada*. 2020;46(4):70-6.
77. Silva DBBd, Santos CLS, Santos KCdO, Theobaldo M, Paulino RdS, Sasaki NA, et al. Mumps virus genotypes identified during disease outbreaks in the state of São Paulo, Brazil: 2011-2016. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2016:1-5.
78. Inou Y, Nakayama T, Yoshida N, Uejima H, Yuri K, Kamada M, et al. Molecular epidemiology of mumps virus in Japan and proposal of two new genotypes. *Journal of medical virology*. 2004;73(1):97-104.
79. Aoki Y, Matoba Y, Tanaka S, Yahagi K, Itagaki T, Katsushima F, et al. Chronological changes of mumps virus genotypes in Japan between 1999-2013. *Infectious diseases (London, England)*. 2016;48(7):524-9.
80. Echevarría JE, Castellanos A, Sanz JC, Pérez C, Palacios G, Martínez de Aragón MV, et al. Circulation of mumps virus genotypes in Spain from 1996 to 2007. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48(4):1245-54.

81. Palacios G, Jabado O, Cisterna D, de Ory F, Renwick N, Echevarria JE, et al. Molecular identification of mumps virus genotypes from clinical samples: standardized method of analysis. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(4):1869-78.
82. Morfopoulou S, Mee ET, Connaughton SM, Brown JR, Gilmour K, Chong WK, et al. Deep sequencing reveals persistence of cell-associated mumps vaccine virus in chronic encephalitis. *Acta neuropathologica*. 2017;133(1):139-47.
83. Park SH. Resurgence of mumps in Korea. *Infection & chemotherapy*. 2015;47(1):1-11.
84. Nöjd J, Tecle T, Samuelsson A, Orvell C. Mumps virus neutralizing antibodies do not protect against reinfection with a heterologous mumps virus genotype. *Vaccine*. 2001;19(13-14):1727-31.
85. LeBaron CW, Forghani B, Beck C, Brown C, Bi D, Cossen C, et al. Persistence of mumps antibodies after 2 doses of measles-mumps-rubella vaccine. *The Journal of infectious diseases*. 2009;199(4):552-60.
86. Šantak M, Lang-Balija M, Ivancic-Jelecki J, Košutić-Gulija T, Ljubin-Sternak S, Forcic D. Antigenic differences between vaccine and circulating wild-type mumps viruses decreases neutralization capacity of vaccine-induced antibodies. *Epidemiology and infection*. 2013;141(6):1298-309.
87. Barskey AE, Glasser JW, LeBaron CW. Mumps resurgences in the United States: A historical perspective on unexpected elements. *Vaccine*. 2009;27(44):6186-95.

88. Cardemil CV, Dahl RM, James L, Wannemuehler K, Gary HE, Shah M, et al. Effectiveness of a Third Dose of MMR Vaccine for Mumps Outbreak Control. *The New England journal of medicine*. 2017;377(10):947-5

SEPSIS URINARIA: Disuria

Otros: _____

22-Estudio solicitado:

Diagnóstico

Referencia

SI

NO

Fecha :

|_|_|_|_|_|_|_|
Día Mes Año

23-SUEROS PAREADOS

Fecha de
colecta:

1^{er} Suero |_|_|_|_|_|_|_|_|
Día Mes Año

2^{do} Suero |_|_|_|_|_|_|_|_|
Día Mes Año

Confirmatorio
(Dengue)

Referencia

24- Nombre del Facultativo:

25- RESULTADOS

Anexo 2: Casos sospechosos por provincias y por año de estudio.

PROVINCIAS	AÑOS		
	2017	2018	2019
Isla de la Juventud (Municipio Especial)	23	28	35
Guantánamo	78	134	40
Santiago de Cuba	56	67	59
Granma	68	118	79
Holguín	41	53	33
Las Tunas	24	73	30
Camagüey	67	150	111
Ciego de Ávila	18	31	15
Sancti Spíritus	36	62	53
Cienfuegos	39	57	125
Villa Clara	98	108	440
Matanzas	52	152	52
Mayabeque	29	221	54
La Habana	217	884	118
Artemisa	50	321	20
Pinar del Río	42	113	198

Anexo 3: Casos sospechoso por grupos etarios y por año de estudio.

EDAD	AÑOS		
	2017	2018	2019
0-5	183	297	189
6-10	160	238	199
11-15	110	313	186
16-20	136	609	298
21-30	108	384	198
≥31	142	490	308

Anexo 4: Casos sospechosos por provincias en el grupo etario 21-30 años.

PROVINCIAS	AÑOS		
	2017	2018	2019
Isla de la Juventud (Municipio Especial)	0	0	0
Guantánamo	6	11	1
Santiago de Cuba	7	6	2
Granma	11	17	6
Holguín	2	2	1
Las Tunas	1	7	0
Camagüey	6	22	13
Ciego de Ávila	2	2	4
Sancti Spíritus	1	5	5
Cienfuegos	12	10	14
Villa Clara	5	12	63
Matanzas	0	32	5
Mayabeque	1	26	5
La Habana	46	157	11
Artemisa	4	58	0
Pinar del Río	4	16	32

Anexo 5: Casos positivos por provincias en el grupo etario 21-30 años.

PROVINCIAS	AÑOS		
	2017	2018	2019
Isla de la Juventud (Municipio Especial)	0	0	0
Guantánamo	0	0	0
Santiago de Cuba	0	3	1
Granma	0	3	1
Holguín	0	1	1
Las Tunas	0	2	0
Camagüey	0	4	5
Ciego de Ávila	0	1	2
Sancti Spíritus	0	1	0
Cienfuegos	0	6	11
Villa Clara	0	5	32
Matanzas	0	13	2
Mayabeque	0	5	1
La Habana	5	74	3
Artemisa	0	29	0
Pinar del Río	0	6	4

Anexo 6: Casos sospechosos por provincias en el grupo etario 16-20 años.

PROVINCIAS	AÑOS		
	2017	2018	2019
Isla de la Juventud (Municipio Especial)	0	1	1
Guantánamo	5	6	6
Santiago de Cuba	4	2	10
Granma	5	17	7
Holguín	4	3	1
Las Tunas	1	0	0
Camagüey	1	16	16
Ciego de Ávila	0	5	3
Sancti Spíritus	2	4	6
Cienfuegos	4	6	36
Villa Clara	7	11	111
Matanzas	10	50	3
Mayabeque	2	45	1
La Habana	69	299	19
Artemisa	19	117	1
Pinar del Río	3	26	62

Anexo 7: Casos positivos por provincias en el grupo etario 16-20 años.

PROVINCIAS	AÑOS		
	2017	2018	2019
Isla de la Juventud (Municipio Especial)	0	1	0
Guantánamo	0	3	1
Santiago de Cuba	0	0	4
Granma	1	9	1
Holguín	2	2	1
Las Tunas	0	0	0
Camagüey	0	6	7
Ciego de Ávila	0	3	1
Sancti Spíritus	0	1	1
Cienfuegos	1	3	12
Villa Clara	0	4	55
Matanzas	1	21	0
Mayabeque	0	16	0
La Habana	21	144	4
Artemisa	5	45	0
Pinar del Río	0	8	13