

# Estudio del rendimiento diagnóstico de la detección de IgM específica y de la amplificación genómica de rubéola

María del Mar Mosquera<sup>a</sup>, Juan Carlos Sanz<sup>b</sup>, Juan Emilio Echevarría<sup>a</sup>, Nieves Herranz<sup>b</sup>, Marisa Fernández<sup>b</sup> y Fernando de Ory<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Microbiología Diagnóstica. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. <sup>b</sup>Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. España.

**En la actualidad la mayoría de los casos de enfermedades exantemáticas prevenibles por inmunización afectan a jóvenes. Además, una elevada proporción de estos casos se confirman como rubéola. El objetivo de este estudio es evaluar el rendimiento de la IgM específica y una técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) en el diagnóstico de la infección por virus de la rubéola. Se estudiaron 59 pacientes bajo sospecha clínica de sarampión o rubéola de los cuales se disponía de muestras de suero, sangre completa, orina y exudado faríngeo. Se comprobó que la RT-PCR en exudado faríngeo fue el marcador diagnóstico más eficaz en los primeros días de la enfermedad (2,5 días de media). Sin embargo, la detección de IgM mostró un mayor rendimiento (76,2%), aunque más tardíamente (3,7 días).**

**Palabras clave:** Rubéola. PCR. IgM específica. ELISA. Exudado faríngeo.

Diagnostic performance of specific IgM detection and genomic amplification in rubella

**Nowadays, most exanthematic diseases for which a vaccine is available affect young adults. A large percentage of these cases prove to be rubella. The aim of this study is to assess the performance of specific IgM and RT-PCR for the diagnosis of rubella infection. Fifty-nine patients with clinically suspected measles or rubella, and with available serum, whole blood, urine and pharyngeal exudate specimens were studied. RT-PCR in pharyngeal exudate was found to be the most effective marker at the start of the disease (mean, 2.5 days). IgM detection yielded a larger percentage of positive results (76.2%), but at a later time (3.7 days).**

**Key words:** Rubella. PCR. Specific IgM. ELISA. Pharyngeal exudates.

Correspondencia: Dra. María del Mar Mosquera. Servicio de Microbiología Diagnóstica. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ctra. de Majadahonda-Pozuelo, s/n. 28220 Majadahonda. Madrid. España. Correo electrónico: mmosquera@isciii.es

Manuscrito recibido el 9-5-2005; aceptado el 1-6-2005.

## Introducción

El virus de la rubéola origina una enfermedad exantemática que se acompaña con frecuencia de adenopatías, y ocasionalmente de artralgias. Entre las complicaciones de esta infección se incluyen encefalopatía y trombocitopenia en niños. Sin embargo, la mayor trascendencia de este virus deriva de su poder teratogénico y de la posibilidad de ocasionar el síndrome de rubéola congénita (SRC) cuando la enfermedad se produce en una gestante durante el primer trimestre del embarazo<sup>1</sup>.

Dentro del Plan Nacional de Eliminación de Sarampión<sup>2</sup> se incluye el diagnóstico diferencial con otros virus como rubéola y parvovirus B19 (PVB19). Recientemente, la Oficina Europea de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha planteado, aprovechando la logística de este plan en Europa, el objetivo de reducir la incidencia del SRC a menos de un caso por 100.000 nacidos vivos para el año 2010<sup>3,4</sup>.

En el contexto de este Plan, en los últimos años, se detectó que en nuestro entorno una proporción significativa de casos de enfermedad exantemática afecta a adultos, y con relativa frecuencia se confirman como casos de rubéola. El objetivo de este estudio es evaluar prospectivamente el rendimiento de diferentes marcadores diagnósticos de infección por virus de la rubéola en casos ocurridos en Madrid en los primeros meses de 2005.

## Métodos

Según el Informe Semanal del 16 de mayo de 2005 de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, a fecha 12 de mayo, se notificaron en la Comunidad de Madrid 375 casos de rubéola. El 81,6% de los casos se confirmaron. El 37,1% de los casos notificados hasta ese momento correspondieron a individuos españoles y el 51,7% a personas de otros países (en el resto de los casos se desconocía la nacionalidad). Por el momento no se ha observado un aumento de la incidencia de rubéola en otras comunidades autónomas.

En el actual trabajo se estudiaron muestras de fase aguda, tomadas durante los primeros 12 días desde la aparición del exantema, de 59 pacientes con enfermedad exantemática bajo sospecha clínica de sarampión o rubéola. Dichos pacientes no habían recibido vacunación frente a rubéola. Estas muestras se obtuvieron entre febrero y marzo de 2005 en la Comunidad de Madrid. Se recogieron simultáneamente muestras de suero, sangre completa, orina y exudado faríngeo en los 59 pacientes mencionados. Solamente en 6 pacientes se dispuso de suero de seguimiento. La edad media de los afectados fue 27,1 años, con rango comprendido entre 3 y 58 años.

El diagnóstico serológico de rubéola se basó en la detección de inmunoglobulina M (IgM) específica por análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) indirecto (Enzygnost, Dade Behring, Ale-

TABLA 1. Rendimiento de los diferentes marcadores en el diagnóstico de rubéola. En cada caso se dispuso de cuatro tipos de muestras extraídas simultáneamente

Resultado	IgM	PCR en exudado faríngeo	PCR en suero	PCR en sangre	PCR en orina
Positivo	32 (54,2%)	22 (37,3%)	13 (22,0%)	5 (8,5%)	6 (10,2%)
Equívoco	5 (8,5%)	—	—	—	—
Tiempo medio (días) de evolución en positivos (IC 95%)	3,7 (2,9-4,5)	2,5 (1,8-3,2)	1,9 (1,4-2,4)	3,0 (0,2-5,8)	1,3 (0,9-1,7)

IgM: inmunoglobulina M; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; IC 95%: intervalo de confianza del 95%.

mania), y/o de captura de cadenas pesadas (Platelia Rubella IgM, BIO-RAD, Francia). Según las directrices del Plan<sup>2</sup> se realizó diagnóstico diferencial mediante detección de IgM frente a sarampión por ELISA indirecto (Enzygnost, Dade Behring, Alemania) y frente a PVB19 por ELISA de captura (Parvovirus B19 IgM EIA, Biotrin, Irlanda). En todas las muestras se aplicó una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) múltiple capaz de detectar los tres virus<sup>5</sup>.

## Resultados

De los 59 casos investigados 42 (71%) resultaron positivos a rubéola por alguna de las aproximaciones diagnósticas. Eran mujeres 12 (28,6%) y varones 30 (71,4%). Dieciocho (42,9%) casos positivos fueron diagnosticados sólo por serología, 10 (23,8%) sólo por RT-PCR y 14 (33,3%) por ambos tipos de técnicas. De los 10 casos positivos sólo por RT-PCR se obtuvo resultado equívoco para IgM en cinco (11,9% del total de positivos), siendo negativos los otros cinco. En estos pacientes confirmados como rubéola por RT-PCR y con resultados IgM equívocos e IgM negativos no se detectaron diferencias significativas en la media de días desde el inicio del exantema. En un paciente con resultado equívoco de IgM y en tres con IgM negativa se dispuso de muestra de suero de seguimiento, observándose en todos ellos seroconversión tanto de IgG como de IgM. Los otros 2 casos en que se dispuso de muestra de seguimiento presentaban IgM positiva en ambos sueros.

De los 24 casos positivos por RT-PCR, 22 lo fueron en muestras de exudado faríngeo, 13 en suero, seis en orina y cinco en sangre (tabla 1). En 11 casos, la RT-PCR en exudado faríngeo fue la única prueba genómica positiva.

Empleando la detección de IgM y del virus en faringe se diagnosticaron 40 casos. El rendimiento de las diferentes combinaciones de técnicas y tipo de muestra en función del tiempo de evolución de la enfermedad se muestra en la tabla 1. El tiempo medio de evolución entre el inicio del exantema y la obtención de las muestras en los 32 casos con IgM positiva resultó significativamente superior ( $p < 0,05$ ) al tiempo medio de evolución de los 21 casos positivos por RT-PCR en exudado faríngeo.

Entre los casos negativos a rubéola, sólo se detectó un caso producido por PVB19, diagnosticado tanto por PCR como por detección de IgM, no detectándose ningún caso positivo a sarampión.

## Discusión

Si bien el objeto prioritario del Plan de Eliminación de Sarampión es el control de este virus, puede resultar útil para la detección de otros agentes virales exantemáticos.

En este sentido, la OMS aconseja el control de la rubéola para la reducción de la incidencia del SRC aprovechando la estructura de dicho plan<sup>3,4</sup>.

Después de la introducción de la vacuna en 1981, la rubéola disminuyó drásticamente entre la población infantil. La seroprevalencia frente a rubéola supera en España el 95% en mujeres<sup>6,7</sup>, aunque es inferior en varones jóvenes<sup>6</sup>. Estos menores niveles de protección en varones muy posiblemente son debidos a la reducción de la circulación de virus salvajes a partir de 1970, relacionada con la ausencia de antecedentes de vacunación en varones, ya que en 1979 se instauró, con el fin de prevenir el SRC, una campaña de inmunización específica sólo en mujeres, al igual que se estableció en otros países<sup>8,9</sup>. En un estudio clínico descriptivo realizado en 1993 sobre la frecuencia de casos de rubéola, ocurridos en Puerto de Santa María (Cádiz), se observó que ésta fue significativamente mayor en varones que en mujeres en edades comprendidas entre los 12 a 16 y 17 a 21 años<sup>10</sup>.

Por otra parte, en los últimos años se han experimentado en nuestro entorno importantes cambios demográficos motivados por el incremento de población originaria de otras naciones. Estos cambios pueden dar lugar, como ha sucedido en otros países<sup>11,12</sup>, a un aumento del número de susceptibles debido a la integración en nuestra sociedad de personas provenientes de regiones, como América Latina y Este de Europa, en las que hasta hace pocos años no se ha instaurado una vacunación sistemática frente a rubéola. Este cúmulo de susceptibles favorece la circulación del virus y la consiguiente aparición de brotes<sup>13</sup>, especialmente importantes cuando se producen en mujeres en edad fértil.

En el presente estudio, la mayoría de los casos se confirmaron por serología. Sin embargo, el 26,2% fueron diagnosticados solamente por RT-PCR. El exudado faríngeo fue la muestra en la que con mayor rendimiento se obtuvo resultado positivo en momentos tempranos de la enfermedad. De hecho, el tiempo medio de evolución en los casos con IgM positiva resultó significativamente superior al de los casos con RT-PCR positiva en exudado faríngeo, lo que resulta lógico teniendo en cuenta que ese es el primer lugar en el que comienza a excretarse el virus<sup>1</sup>. Empleando la detección en faringe y la IgM se diagnosticaron 40 casos, por lo que ambas técnicas deben ser empleadas de forma complementaria. Dos casos en los que la detección de IgM fue negativa se diagnosticaron únicamente por detección de ARN en suero. Por este motivo, en casos con elevada sospecha de rubéola y ante resultados simultáneamente negativos para IgM específica y para RT-PCR en exudado faríngeo sería conveniente llevar a cabo el estudio retrospectivo por RT-PCR en la muestra de suero.

A la vista de estos resultados, parece aconsejable ante una sospecha de infección por rubéola en una embarazada confirmar los posibles resultados negativos tanto en serología como en detección directa, mediante el estudio de una segunda muestra en fase convaleciente.

### Agradecimientos

Los autores queremos agradecer a las Dras. Asia de la Loma y Alicia Téllez del Servicio de Orientación Diagnóstica del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III su colaboración en la orientación clínica y comunicación de los resultados de este estudio.

### Bibliografía

1. Wolinsky JS. Rubella. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p. 899-929.
2. Amela C, Pachón I. La Vigilancia Epidemiológica del sarampión en el contexto del "Plan de acción para eliminar el sarampión en España". *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2000;8:169-72.
3. Strategic plan for measles and congenital rubella infection in the European Region of WHO. Copenhagen, WHO Regional Office For Europe. 2003 [consultada 26 abril 2005]. Disponible en: <http://www.euro.who.int/document/e81567.pdf>
4. Surveillance guidelines for measles and congenital rubella infections in the WHO European Region. Copenhagen, WHO Regional Office For Europe. 2003 [consultada 26 abril 2005]. Disponible en: <http://www.euro.who.int/document/E82183.pdf>
5. Mosquera MM, De Ory F, Moreno M, Echevarría JE. Simultaneous detection of measles virus, rubella virus, and parvovirus B19 by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40:111-6.
6. Amela C, Pachon I, De Ory F. Evaluation of the measles, mumps and rubella immunisation programme in Spain by using a sero-epidemiological survey. *Eur J Epidemiol*. 2003;18:71-9.
7. III Encuesta de Serovigilancia de la Comunidad de Madrid. *Boletín Epidemiológico de la Comunidad de Madrid*. 2002;8:3-43.
8. Rafila A, Marin M, Pistol A, Nicolaiciuc D, Lupulescu E, Uzicanin A, et al. A large rubella outbreak, Romania-2003. *Euro Surveill*. 2004;9:7-8.
9. Panagiotopoulos T, Georgakopoulou T. Epidemiology of rubella and congenital rubella syndrome in Greece, 1994-2003. *Euro Surveill*. 2004. p. 9.
10. García Rodríguez J, Clerig Arnau U, Palacios Vaca F, Martínez Montero JC. Brote de rubéola en Puerto de Santa María (Cádiz). *Aten Primaria*. 1993;11:276-80.
11. Cooper LZ. Current lessons from 20th century serosurveillance data on rubella. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1287.
12. Tookey P. Rubella in England, Scotland and Wales. *Euro Surveill*. 2004;9:21-3.
13. Sanz JC, Lemos C, Herrera D, Ramírez-Fernández R. Brote de rubéola en población inmigrante de origen latinoamericano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22:197.