

Seroprevalencia edad dependiente frente al virus Toscana en la Comunidad de Madrid: años 1993-1994 y 1999-2000

Fernando de Ory-Manchón^a, Juan Carlos Sanz-Moreno^b, Emiliano Aranguéz-Ruiz^b y Rosa Ramírez-Fernández^b

^aServicio de Microbiología Diagnóstica. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda.

^bInstituto de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. España.

OBJETIVO. Valorar la seroprevalencia frente a virus Toscana (VTOS) en la Comunidad de Madrid.

MÉTODOS. Se estudiaron muestras de dos encuestas de serovigilancia obtenidas durante 1993-1994 (2.262 individuos) y 1999-2000 (1.945 individuos). Las muestras se procesaron mediante análisis inmunoenzimático (ELISA) para la detección de IgG frente a VTOS.

RESULTADOS. La seroprevalencia en 1993-1994 (7,2%; IC 95%: 6,2-8,4) resultó significativamente mayor (χ^2 ; $p < 0,05$) que en 1999-2000 (5,7%; IC 95%: 4,7-6,9). En ambos períodos la prevalencia aumentó significativamente según la edad.

CONCLUSIÓN. Estos resultados confirman la circulación de VTOS en la Comunidad de Madrid durante los últimos años.

Palabras clave: Virus Toscana. ELISA. Comunidad de Madrid.

Age-dependent seroprevalence of Toscana virus in the Community of Madrid: 1993-1994 and 1999-2000

OBJECTIVE. The aim of this study was to assess the seroprevalence of Toscana virus (TOSV) in the Community of Madrid.

METHODS. Samples from two serosurveys obtained during 1993-1994 (2262 individuals) and 1999-2000 (1945 individuals) were studied. Samples were tested by ELISA for TOSV IgG detection.

RESULTS. The seroprevalence of TOSV IgG was significantly higher in 1993-1994 (7.2%; 95% CI 6.2-8.4) than in 1999-2000 (5.7%; 95% CI 4.7-6.9) (chi-square, $p < 0.05$). In both periods, the prevalence increased significantly with age.

CONCLUSION. These results confirm that TOSV has been circulating in the Community of Madrid over the last years.

Key words: Toscana virus. ELISA. Madrid Community.

Introducción

El virus Toscana (VTOS) se incluye en el género *Phlebovirus*, familia *Bunyaviridae*. Es un virus transmitido por flebotomos (*Phlebotomus perniciosus* constituye su principal vector, no obstante otras especies como *Phlebotomus perfiliewi* también pueden difundirlo)¹. Su denominación hace referencia a la región italiana donde se produjo su aislamiento inicial y se identificaron los primeros casos humanos². Puede ocasionar cuadros de meningitis aséptica y meningoencefalitis de pronóstico generalmente favorable, caracterizados por un período de incubación corto seguido de fiebre, mialgia, cefalea, vómitos, dolor ocular y rigidez de nuca¹. La infección presenta una marcada estacionalidad estival¹ con una distribución geográfica que abarca regiones templadas de la cuenca mediterránea². En España se han descrito algunos casos en Granada, Almería, Murcia, Alicante y Madrid²⁻⁵. La infección es más frecuente en los entornos rurales^{5,6}. Aunque la incidencia real no es bien conocida, algunos estudios señalan una elevada seroprevalencia frente a VTOS en alguna región española (Granada)⁶. El objetivo de este trabajo fue valorar la prevalencia de anticuerpos IgG frente a VTOS en la población general de la Comunidad de Madrid y la variación entre dos períodos de tiempo: 1993-1994 y 1999-2000.

Materiales y métodos

Se estudiaron muestras de suero correspondientes a dos encuestas de serovigilancia llevadas a cabo en la Comunidad de Madrid durante los períodos 1993-1994 (2.262 individuos: 1.178 mujeres y 1.084 varones) y 1999-2000 (1.945 individuos: 995 mujeres y 950 varones). Estas muestras fueron obtenidas mediante muestreos bietápicos por conglomerados en centros públicos de atención primaria para ser representativas, en cada período de tiempo, de la población general de la Comunidad de Madrid de entre 2 y 60 años. Sólo se evaluaron las variables demográficas correspondientes a edad, sexo y área sanitaria de residencia. La edad media de los individuos incluidos resultó comparable en ambas encuestas (media 23,03 años, desviación estándar [DE] 15,18 en 1993-1994 y media 23,25 años, DE 15,13 en 1999-2000). El número de sujetos por área sanitaria (áreas 1-11) fue de 287, 167, 139, 249, 252, 172, 226, 188, 181, 129, 271 en 1993-1994 y de 257, 135, 137, 181, 226, 175, 181, 169, 146, 135, 203 en 1999-2000. Las muestras estuvieron con-

Correspondencia: Dr. F. de Ory-Manchón.
Servicio de Microbiología Diagnóstica Centro Nacional de Microbiología.
Instituto de Salud Carlos III.
28220 Majadahonda. Madrid. España.
Correo electrónico: fory@isciii.es

Manuscrito recibido el 10-5-2006; aceptado el 7-8-2006.

Este trabajo ha sido presentado en parte en el XII Congreso de la Sociedad Española de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (Valencia del 10 al 13 de mayo de 2006).

servadas a -20 °C hasta su estudio. Se determinó la presencia de IgG frente al VTOS mediante un ensayo de análisis inmunoenzimático (ELISA) indirecto, que emplea un antígeno recombinante de la nucleoproteína del virus (Enzywell Toscana virus, Dienes, Italia). Los porcentajes de seroprevalencia según grupo de edad y año del estudio se calcularon (para valores de numeradores con n > 5) con intervalos de confianza del 95% (IC 95%).

Resultados

La seroprevalencia global detectada en 1993-1994 (7,2%; IC 95%: 6,2-8,4) resultó significativamente mayor (χ^2 ; p < 0,05) que la observada en 1999-2000 (5,7%; IC 95%: 4,7-6,9). Tanto en el período 1993-1994 como en 1999-2000 la prevalencia aumentó significativamente en función de la edad (χ^2 tendencia lineal p < 0,001), pasando en ambos estudios de ser inferior al 1% en menores de 5 años hasta alcanzar en los mayores de 40 el 14,6% (IC 95%: 11,1-18,9) en 1993-1994 y el 12,3% (IC 95%: 8,9-16,7) en 1999-2000. La tabla 1 muestra los niveles de prevalencia según grupo de edad y año del estudio. En ninguno de los dos cortes temporales se evidenciaron diferencias significativas en

función del sexo (7,4% [IC 95%: 5,9-9,1] en varones frente a 7,0% [IC 95%: 5,7-8,7] en mujeres durante 1993-1994 y 5,9% [IC 95%: 4,5-7,6] en varones frente a 5,5% [IC 95%: 4,2-7,2] en mujeres en 1999-2000).

En lo referente a la distribución geográfica se observó que, en cada uno de los dos cortes temporales, la seroprevalencia varió entre diferentes áreas sanitarias de la Comunidad de Madrid (fig. 1). Algunas áreas sanitarias (3, 6, 8 y 9) experimentaron un aumento de prevalencia durante 1999-2000, en relación con 1993-1994, mientras que el resto (1, 2, 4, 5, 7, 10 y 11) sufrieron un descenso de prevalencia en 1999-2000 respecto a 1993-1994 fue significativo en las áreas 11 (p < 0,01) y 7 (p < 0,05).

Discusión

El VTOS puede aislarse en diferentes líneas celulares. Sin embargo, la baja sensibilidad del cultivo, motivada por la corta viremia y la reducida carga viral, ha hecho que éste se haya visto en gran medida reemplazado por otros procedimientos¹. En la actualidad los métodos de

TABLA 1. Niveles de seroprevalencia frente a virus Toscana según grupo de edad y año del estudio

Grupo	1993				1994			
	N	IgG (+) (%)	IC 95%	OR tendencia lineal	N	IgG (+) (%)	IC 95%	OR tendencia lineal
≤ 5 años	276	0,4	No aplicable*	1,00	206	0,5	No aplicable*	1,00
6 a 10 años	293	2,4	1,1-5,1	6,73	234	1,3	No aplicable*	2,7
11 a 15 años	289	5,2	3,0-8,6	15,05	301	4,0	2,2-7,0	8,5
16 a 20 años	315	7,3	4,8-10,9	21,66	293	4,4	2,5-7,7	9,5
21 a 30 años	413	5,8	3,8-8,6	16,97	311	5,8	3,6-9,2	12,6
31 a 40 años	334	12,9	9,6-17,1	40,64	299	9,0	6,1-13,0	20,3
> 40 años	342	14,6	11,1-18,9	47,09	301	12,3	8,9-16,7	28,7
Total	2.262	7,2	6,2-8,4	p < 0,001	1.945	5,7	4,7-6,9	p < 0,001

No aplicable*: valor del numerador n < 5.

IC 95%: intervalo de confianza del 95%; OR: odds ratio; IgG: inmunoglobulina G.

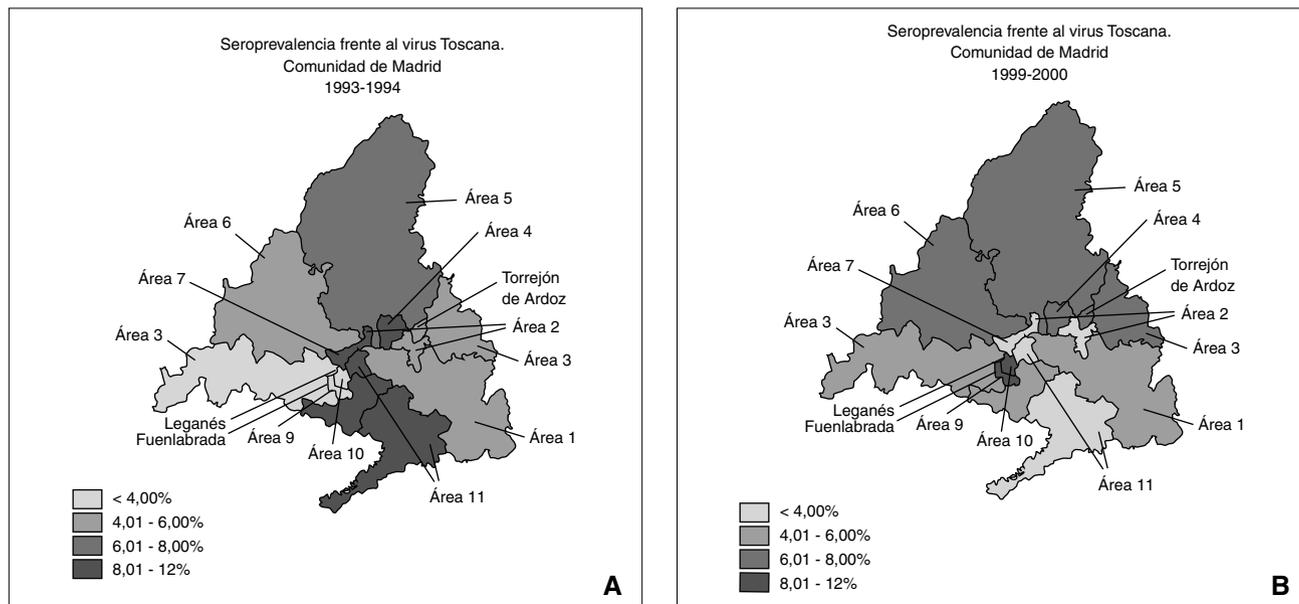


Figura 1. Seroprevalencia frente al virus Toscana en la Comunidad de Madrid por área sanitaria. Años 1993-1994 y 1999-2000.

transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) son los más utilizados con fines diagnósticos³. No obstante, la demora en la obtención de muestras puede condicionar la aparición de resultados falsos negativos. Además, debido a la variabilidad genética del virus, ciertas técnicas moleculares diseñadas para la detección de las cepas circulantes en determinadas zonas geográficas (Italia)⁷ pueden no reconocer a las cepas de nuestro entorno³. Por ello es conveniente complementar su empleo con la investigación por ELISA de la presencia de anticuerpos específicos (detección de IgM sérica y/o determinación de la producción intratecal de IgG)^{4,7}. Estas técnicas de ELISA presentan la ventaja de permitir el procesamiento rápido de un elevado número de muestras, lo que las convierte en ideales para realización de estudios epidemiológicos. Un inconveniente radica en la posibilidad de reacciones antigénicas cruzadas con otros Phlebovirus^{2,3}. La técnica de ELISA empleada en el presente estudio se ha revelado como sensible y específica para la detección de IgG frente a VTOS⁸ y ha sido previamente utilizada en otros estudios de prevalencia^{6,9,10}.

Esta es la mayor encuesta de seroprevalencia poblacional frente a VTOS llevada a cabo por el momento en España y la primera que evalúa variaciones en función del tiempo. La seroprevalencia obtenida fue inferior a la informada en el sur de España (Granada, 24,9%)⁶ y centro de Italia (Umbría, 16%; Toscana, 22,7%)^{9,10} pero superior a la de otras zonas del norte de este último país (Piamonte, 2,5%)⁹. Estos resultados confirman la circulación de VTOS en la Comunidad de Madrid durante los últimos años. Si bien no se dispone de información concreta sobre el tiempo de persistencia de los anticuerpos frente al virus Toscana, al igual que ocurre en otras infecciones virales, probablemente la presencia de IgG específica sea detectable de por vida. De esta forma, el aumento de prevalencia edad-dependiente, descrito con anterioridad por otros autores⁶, podría indicar un efecto cohorte relacionado con la exposición a VTOS a lo largo de la vida.

Pese a que en este estudio no se analizó la evolución de las características sociodemográficas en las diferentes áreas sanitarias, el descenso en la prevalencia global registrado en 1999-2000 respecto a 1993-1994 quizá se deba a cambios ambientales y ecológicos relacionados con el vector y/o modificaciones en los hábitos de vida de la población. Curiosamente, en los municipios de Torrejón, Leganés y Fuenlabrada, localizados en algunas de las áreas sanitarias (áreas 3 y 9) (fig. 1) en las que se detectó un au-

mento de prevalencia durante 1999-2000, se confirmaron entre 1998 y 1999 varios casos clínicos de infección aguda por VTOS⁴. Aunque los datos recogidos en las dos encuestas no permitieron evaluar antecedentes clínicos (historia de meningitis y/o signos y síntomas compatibles) los resultados de este estudio sugieren, en conformidad con los aportados en investigaciones previas, que una considerable proporción de casos de infección por VTOS pueden ser asintomáticos o paucisintomáticos y pasar clínicamente inadvertidos^{9,10}. No obstante, de acuerdo con los niveles de seroprevalencia detectados, este virus debería considerarse en el diagnóstico diferencial de los cuadros de meningitis aséptica en nuestro medio.

Agradecimientos

El trabajo ha sido financiado en parte por la Red EVITAR (Enfermedades Víricas Transmitidas por Artrópodos y Roedores), Fondo de Investigaciones Sanitarias, Ministerio de Sanidad (G03/059).

Bibliografía

- Dionisio D, Esperti F, Vivarelli A, Valassina M. Epidemiological, clinical and laboratory aspects of sandfly fever. *Curr Opin Infect Dis.* 2003;16:383-8.
- Charrel RN, Gallian P, Navarro-Mari JM, Nicoletti L, Papa A, Sánchez-Seco MP, et al. Emergence of Toscana virus in Europe. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11:1657-63.
- Sánchez-Seco MP, Echevarría JM, Hernández L, Estévez D, Navarro-Mari JM, Tenorio A. Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *J Med Virol.* 2003;71:140-9.
- Echevarría JM, De Ory F, Guisasaola ME, Sánchez-Seco MP, Tenorio A, Lozano A, et al. Acute meningitis due to Toscana virus infection among patients from both the Spanish Mediterranean region and the region of Madrid. *J Clin Virol.* 2003;26:79-84.
- Navarro JM, Fernández-Roldán C, Pérez-Ruiz M, Sanbonmatsu S, De la Rosa M, Sánchez-Seco MP. Meningitis por el virus Toscana en España: descripción de 17 casos. *Med Clin (Barc).* 2004;122:420-2.
- Sanbonmatsu-Gómez S, Pérez-Ruiz M, Collao X, Sánchez-Seco MP, Morillas-Márquez F, De la Rosa-Fraile M, et al. Toscana virus in Spain. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1701-7.
- Valassina M, Cusi MG, Valensin PE. Rapid identification of Toscana virus by nested PCR during an outbreak in the Siena area of Italy. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2500-2.
- Soldateschi D, Dal Maso GM, Valassina M, Santini L, Bianchi S, Cusi MG. Laboratory diagnosis of Toscana virus infection by enzyme immunoassay with recombinant viral nucleoprotein. *J Clin Microbiol.* 1999;37:649-52.
- Valassina M, Valentini M, Pugliese A, Valensin PE, Cusi MG. Serological survey of Toscana virus infections in a high-risk population in Italy. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10:483-4.
- Francisci D, Papili R, Camanni G, Morosi S, Ferracchiato N, Valente M, et al. Evidence of Toscana virus circulation in Umbria: first report. *Eur J Epidemiol.* 2003;18:457-9.