



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Scientific Letter

Valoración de un kit comercializado de RT-PCR para el diagnóstico de la infección por el virus del sarampión



Valuation of a commercialized RT-PCR kit for the diagnosis of infection caused by the measles virus

El sarampión es una enfermedad vacunable y de Declaración Obligatoria¹ que se encuentra sujeta a un Plan de Eliminación en España². En nuestro medio el sarampión ha dejado de ser una patología pediátrica, pasando a dar lugar a brotes, frecuentemente de origen importado y que afectan cada vez más a individuos adultos³. Pese a la interrupción de la transmisión endémica continuada, la incidencia de la infección en Europa ha aumentado en los últimos años, asociada a descensos en las coberturas vacunales⁴. La sospecha clínica, que se basa en la presencia de exantema maculopapular acompañado de tos, coriza o conjuntivitis, requiere confirmación de laboratorio^{1,2}. El diagnóstico serológico mediante detección de IgM específica resulta difícil en sujetos previamente inmunizados, en los que pueden aparecer resultados falsos negativos, y su uso se complementa mediante el empleo de técnicas de amplificación molecular por reacción en cadena de la polimerasa de transcripción reversa (RT-PCR)⁵. El Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Víricas Inmunoprevenibles del Centro Nacional de Microbiología (LRIEVI-CNM) cuenta con una técnica de RT-PCR convencional (no en tiempo real) múltiple que permite detectar de manera simultánea a los virus de sarampión, rubéola y parvovirus B19^{6,7}. Aunque existen algunas técnicas de RT-PCR en tiempo real para sarampión disponibles en el mercado⁸, se dispone de poca información sobre la utilidad de nuevos kits. El objetivo de este trabajo fue valorar el rendimiento de un kit de RT-PCR en tiempo real (*Measles Virus Real Time* RT-PCR Kit; Shanghai ZJ Bio-Tech Co.) para el diagnóstico de la infección por el virus del sarampión. Se procesaron 250 muestras de exudado faríngeo obtenidas a partir de pacientes con sospecha de sarampión recibidas entre 2012 y 2019 en el Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Todas las muestras fueron ensayadas por *Measles Virus Real Time* RT-PCR Kit y por el método de referencia de RT-PCR del LRSR-CNM^{6,7}. Se efectuaron extracciones independientes de los ácidos nucleicos para su empleo en la técnica de RT-PCR evaluada y en la de referencia. Para la extracción en la técnica *Measles Virus Real Time* RT-PCR Kit; Shanghai ZJ Bio-Tech Co. se empleó el equipo Qiagen EZ1 en combinación con kits EZ1 (Qiagen GmbH). Para cada muestra, se partió de un volumen inicial de 200 μ l y tras completar

el proceso de extracción se añadieron 5 μ l de ARN a 20 μ l de la mezcla maestra (volumen final para la reacción de RT-PCR de 25 μ l). La extracción para la técnica de referencia de RT-PCR convencional múltiple se usó QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (Qiagen GmbH); volumen de muestra 400 μ l y 40 μ l de elución; 72 muestras resultaron positivas por el método de referencia y 57 de ellas fueron también positivas por la técnica evaluada. Entre las 188 muestras negativas por el procedimiento de referencia, 187 (10 de ellas positivas a parvovirus B19 y dos a rubéola) también aportaron resultados negativos por *Measles Virus Real Time* RT-PCR Kit. La **tabla 1** muestra los resultados de sensibilidad y especificidad de la técnica en estudio expresados en términos de porcentaje con sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%). A pesar de estar incluida en el calendario sistemático de vacunación, el sarampión ocasiona esporádicamente brotes⁹. En el contexto del Plan Nacional de Eliminación del Sarampión, se considera preciso llegar a la identificación rápida de todos los casos sospechosos con criterios de alta especificidad². Una limitación de este estudio estriba en que las muestras no se procesaron por la técnica evaluada y la de referencia partiendo de la misma elución. Esto pudo condicionar diferencias no atribuibles a la RT-PCR y motivadas realmente por fallos en la extracción. La técnica de RT-PCR en tiempo real aquí valorada es sencilla, presenta una excelente especificidad y una aceptable sensibilidad. El número de falsos negativo de esta técnica comercial puede repercutir en su aplicación clínica, máxime dada la elevada contagiosidad del sarampión. Sin embargo, puede resultar adecuada para la dar una respuesta ágil en la confirmación de las sospechas, siempre que se investiguen los casos negativos por un método definitivo más sensible como la técnica del LRIEVI-CNM empleada en este trabajo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Protocolos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Madrid. 2013. Disponible en: <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=08/07/2015-28724e36ba>.
2. Plan de Eliminación del Sarampión en España. Madrid: Instituto de Salud Carlos III; 2000. <https://repisalud.isciii.es/bitstream/20.500.12105/4937/1/Plandeeliminaci%3b3ndel%202000.pdf>.
3. Masa-Calles J, López-Perea N, Godoy P. Perfil epidemiológico del sarampión en España: casos en adultos, secundarios a la importación y asociados con la asistencia sanitaria. *Semergen*. (en prensa). 2020, pii: S1138-3593(20)30014-9. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1138359320300149?token=DB1479DA46011586416F7FF33EEB5B053FE6DA99AFB442219B6667D1571AD2F6065AC647FB4FE4E7EE89B2B779C39907>.
4. Plans-Rubió P. Low percentages of measles vaccination coverage with two doses of vaccine and low herd immunity levels explain measles incidence and persistence of measles in the European Union in 2017–2018. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38:1719–29.
5. Risco-Risco C, Masa-Calles J, López-Perea N, Echevarría JE, Rodríguez-Caravaca G. Epidemiología del sarampión en personas vacunadas, España 2003–2014. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35:569–73.

Tabla 1

Rendimiento de *Measles Virus Real Time* RT-PCR Kit para el diagnóstico de la infección por el virus del sarampión

	Sensibilidad			Especificidad		
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%
Total	57/62	91,9	81,5–97,0	187/188	99,5	96,6–100

6. Mosquera M, del M, 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.
7. Mosquera MM, de Ory F, Gallardo V, Cuenca L, Morales M, Sánchez-Yedra W, et al. Evaluation of diagnostic markers for measles virus infection in the context of an outbreak in Spain. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5117–21.
8. Chua KYL, Thapa K, Yapa CM, Somerville LK, Chen SC, Dwyer DE, et al. What assay is optimal for the diagnosis of measles virus infection? An evaluation of the performance of a measles virus real-time reverse transcriptase PCR using the Cepheid SmartCycler® and antigen detection by immunofluorescence. *J Clin Virol.* 2015;70:46–52.
9. García Comas L, Ordoñas Gavín M, Sanz Moreno JC, Ramos Blázquez B, Rodríguez Baena E, Córdoba Deorador E, et al. Community-wide measles outbreak in the Region of Madrid, Spain, 10 years after the implementation of the Elimination Plan, 2011–2012. *Hum Vaccin Immunother.* 2017;13:1078–83.

Juan Carlos Sanz^{a,b,*}, Aurora Fernández-García^{b,c},
Juan Emilio Echevarría^{b,c} y Fernando de Ory^{b,c}

^a Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid, Dirección General de Salud Pública, Consejería de Sanidad Comunidad de Madrid, Madrid, España

^b Consorcio de Investigación Biomédica de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España

^c Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Virales Inmunoprevenibles, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: juan.sanz@salud.madrid.org (J.C. Sanz).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.05.014>

0213-005X/ © 2020 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española

de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Infección del tracto genitourinario en el niño por *Aerococcus* no *viridans*. Revisión bibliográfica y descripción de 3 casos



Genitourinary tract infection in children due to Aerococcus other than Aerococcus viridans. Literature review and 3 case reports

El género *Aerococcus* spp. fue descrito por primera vez en 1953. Comprende 8 especies diferentes, de las cuales *Aerococcus urinae* y *Aerococcus sanguinicola* son las principales patógenas humanas, asociándose a enfermedad de base en adultos¹. Sin embargo, se han descrito excepcionalmente como causa de infección en la población pediátrica. Presentamos las características clínicas y microbiológicas en 3 casos.

Caso 1

Varón de 10 años que acude a Urgencias por fiebre de 40 °C de 24 h de evolución asociada a dolor abdominal. Destacaba dolor a la palpación del flanco derecho con puñoperCUSión dolorosa.

Antecedente de ingreso con 25 días de vida por sospecha de ITU febril, sin confirmar microbiológicamente. La ecografía renal demostró dilatación pielocalicial bilateral. Con 7 años fue diagnosticado de apendicitis aguda. En el postoperatorio reingresó por fiebre y elevación de reactantes de fase aguda, con urianálisis normal, siendo tratado con piperacilina-tazobactam con evolución favorable.

El urianálisis objetivó leucocituria; se realizó urocultivo y analítica sanguínea que mostraba 14.259 leucocitos/mm³ y PCR 22,6 mg/l. Se diagnosticó de pielonefritis, decidiéndose tratamiento con cefixima durante 7 días. La ecografía renal realizada mostró dilatación pielocalicial, uréter derecho tortuoso en su porción distal y defecto de vaciamiento vesical.

Caso 2

Varón de 5 años con eritema del meato urinario y exudado uretral blanquecino, siendo el resto de la exploración normal. Se tomó muestra para cultivo del exudado y se comenzó tratamiento con corticoide tópico. Acudió a su pediatra 21 días después por persistencia del exudado uretral, sin presentar fiebre. Se prescribió mupirocina tópica durante una semana, remitiendo la sintomatología.

Caso 3

Varón de 8 años con dolor abdominal cólico de 2 días de evolución, disuria y deposiciones diarreicas. Presentó microhematuria en urinoanálisis, y se realizó urocultivo de orina de micción media. Se prescribió fosfomicina-trometamol durante 2 días desapareciendo la clínica. El estudio ecográfico renal realizado posteriormente fue normal.

Estudio microbiológico

Mediante procedimientos previamente descritos^{1,2}, los urocultivos realizados mostraron > 100.000 UFC/ml y > 10.000 UFC/ml de *A. urinae* y *A. sanguinicola*, para los casos 1 y 3, respectivamente; en el cultivo del exudado uretral crecieron colonias abundantes y únicas de *A. urinae*. Para los urocultivos fue estudiada la sensibilidad a cefotaxima, ciprofloxacino, nitrofurantoina, penicilina y vancomicina; y para el exudado uretral a ampicilina, levofloxacino, linezolid, meropenem, rifampicina, tetraciclina y vancomicina. Los microorganismos fueron sensibles a todos los antibióticos estudiados.

Conclusiones

El uso del cultivo de las muestras del aparato genitourinario permite la identificación de microorganismos inusuales que pueden presentarse en pacientes con factores de riesgo. Dos de estos microorganismos, recientemente descritos, son *A. urinae* y *A. sanguinicola*. La infección por estos microorganismos ha sido ampliamente descrita como causante de enfermedades potencialmente graves (pielonefritis, bacteriemia, endocarditis, peritonitis...) en pacientes ancianos con alteraciones del tracto urinario, patología inmune o sistémica¹. En la revisión realizada con PubMed (7/2/2020) encontramos solo 8 casos en pacientes de 0 a 18 años de edad (tabla 1)^{3–10}. En 6 casos destacó una orina extremadamente maloliente y 2 presentaron endocarditis. Otro correspondió a un caso de pielonefritis en un paciente con reflujo vesicoureteral que mostró dolor abdominal y fiebre⁸. También se describe un caso de bacteriemia en un paciente de 14 años con leucemia⁹. La mayoría de los pacientes fueron varones adolescentes o preadolescentes, generalmente diagnosticados de forma tardía. De nuestra serie destacamos el caso 2 por ser el primer caso descrito de balanitis por *A. urinae*.