

El uso de la técnica del 2-mercaptoetanol en el diagnóstico de la rubéola congénita

A. AGULLERA, G. KOURÍ, S. BARCELONA Y F. BORBONET

*Dpto. de Virología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas,
Ciudad de la Habana, Cuba*

Recibido: 4 de enero de 1977

Recibido: 23 de marzo de 1977

ABSTRACT. The first study made in Cuba for the detection of Congenital Rubella was by using 2ME technique in order to determine the presence of IgM. After the Rubella outbreak of 1974, 250 sera from newborns were studied. At the same time virus isolation was made. The 78.4% had antibodies titles and 6.4% were positive of prenatal infection. In 12 of 16 positive cases, virus isolation was obtained from nasopharyngeal or rectal swabs, or in both. Recommendations of the technics which should be used in order to determine IgM for the diagnosis of pre-natal infection are made.

RESUMEN. Se realiza por primera vez en nuestro país el diagnóstico de la rubéola congénita utilizando la técnica de 2ME para determinar la presencia de IgM. Se estudiaron un total de 250 sueros obtenidos de sangre del cordón umbilical de recién nacidos después de la epidemia de 1974. Paralelamente se hizo aislamiento del virus en los niños. El 78.4% presentó títulos de anticuerpos y el 6.4% fueron positivos de infección intrauterina. Se pudo aislar el virus de la nasofaringe, recto, o en ambos, en 12 de los 16 casos positivos. Se hacen recomendaciones de las técnicas a utilizar para determinar IgM con el fin de conocer la infección intrauterina.

INTRODUCCION

La Rubéola al igual que el resto de las enfermedades virales se caracteriza por una respuesta inmunológica del organismo afectado, y es al inicio a expensas de la inmunoglobulina M, la cual es gradualmente sustituida por la inmunoglobulina G.

En el diagnóstico de esta enfermedad, el método de elección es la demostración de un aumento significativo del título de anticuerpos en sueros pareados.

Por otra parte, se ha demostrado un incremento de las cantidades de IgM en la sangre de los niños recién nacidos con infecciones congénitas. Se conoce que a partir de las 20 semanas de gestación el feto puede producir cantidades significativas de IgM cuando se producen infecciones intrauterinas entre las cuales se encuentra la Rubéola.

Otro hecho importante es que la placenta constituye una barrera selectiva para las inmunoglobulinas, permitiendo a la IgG de la madre pasar a través de ella, pero no a la IgM. Por lo tanto, cantidades elevadas de IgM en la sangre fetal puede atribuirse a una respuesta inmunológica del feto a la infección viral (*Antoniadis y Tischer, 1973*).

En la actualidad existen varios métodos para determinar la presencia de anticuerpos IgM, entre los cuales se encuentra la inmunofluorescencia (*Baublis and Brown, 1968*), el fraccionamiento del suero en gradiente de densidad de sacarosa (*Vesikari and Veheri, 1968*), la gel filtración por columnas de SEPHADEX (*Gupta y cols., 1971*) y el uso del 2 mercaptoetanol (*Banatvala y cols., 1967*).

En la práctica diaria se presentan situaciones difíciles en el diagnóstico de esta enfermedad en la mujer embarazada. Frecuentemente, no podemos obtener sueros pareados, la paciente se presenta muy tarde o la urgencia del diagnóstico no nos permite esperar 2 ó 3 semanas para la obtención del segundo suero. En otras ocasiones es un recién nacido con alteraciones congénitas o sospecha de infección intrauterina al cual debemos confirmar el diagnóstico.

La determinación de IgM nos permite por lo tanto, en el caso de una infección postnatal reciente o de rubéola congénita en el recién nacido, conocer con exactitud esta situación. En este trabajo presentamos nuestros resultados del estudio realizado en sueros de recién nacidos en el Hospital Ramón González Coro del Regional Plaza en el período después de la epidemia de Rubéola en 1974 obtenidos mediante la técnica del 2 mercaptoetanol para determinar la presencia de IgM en los mismos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 250 sueros obtenidos del cordón umbilical de niños recién nacidos en el Hospital Ramón González Coro, en el período post epidé-

mico de 1974, seleccionados aleatoriamente. A todos se les hizo la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (IHA).

Los sueros que presentaron anticuerpos contra la rubéola fueron tratados con 2 mercaptoetanol (2 ME) según la técnica de Banatvala (*Ban- natvala y cols., 1967*). En nuestro caso reducciones de 4 veces el título fueron considerados positivos. Cuando no existió esta diferencia, se consideró negativo. Por otro lado, se tomaron muestras de exudado nasofaríngeo y rectal para aislamiento del virus en cultivo de tejidos. Se determinó la presencia del mismo por medio de la técnica de inmunofluorescencia.

RESULTADOS

Prueba de IHA: De los 250 sueros estudiados, 196 presentaron títulos de IHA por encima de 1:10, representando el 78.4% del total de casos.

Prueba con 2 ME: De los 196 sueros positivos se encontró en 16 una diferencia de 4 veces la disminución del título de IHA entre el suero antes y después de tratados, representando el 6.4% del total de casos.

En la Tabla I se presentan las características de los 16 recién nacidos dados como positivos, los antecedentes epidemiológicos de la madre, así como el aislamiento viral y el título de IHA.

Como se observa, 9 niños fueron prematuros, 2 presentaron malformaciones al nacer y 5 fueron aparentemente sanos. Otro hecho interesante es que 9 de las 16 madres refirieron no haber sufrido nunca la enfermedad antes o durante el embarazo y 2 refirieron rubéola clínica durante el embarazo y sus hijos eran aparentemente normales.

En 12 casos hubo aislamiento viral.

DISCUSION

Se estudia por primera vez en nuestro país la incidencia de la infección viral en recién nacidos después de una epidemia de Rubéola, mediante el método del 2 ME para la determinación de IgM.

Se destaca que de los casos positivos, 5 eran aparentemente normales lo cual indica que la infección intrauterina no produjo en los mismos

alteraciones apreciables al nacer, no pudiéndose descartar la posibilidad de malformaciones con manifestaciones tardías.

TABLA I

Caso	Aislamiento viral	Título IHA	Rubéola en el embarazo		Antecedentes de Rubéola antes del embarazo		Prematuro	Normal	Malformado
			SI	NO	SI	NO			
1	X	1:160	—	X	X	—	X	—	—
2	X	1:320	X	—	—	X	—	X	—
3	X	1:80	—	X	—	X	—	X	—
4	X	1:160	X	—	—	X	—	X	—
5	X	1:160	—	X	X	—	—	X	—
6	X	—	—	X	—	X	—	X	—
7	X	1:320	—	X	—	X	X	—	—
8	X	1:160	—	X	—	X	X	—	—
9	X	1:80	—	X	—	X	X	—	—
10	X	1:80	—	X	—	X	X	—	—
11	X	1:80	—	X	—	X	X	—	—
12	X	1:80	—	X	X	—	—	—	X
13	—	1:160	—	X	—	X	X	—	—
14	—	1:320	—	X	—	X	X	—	—
15	—	1:160	—	X	X	—	X	—	—
16	—	1:160	—	X	X	—	—	—	X
Totales	12		2	14	5	11	9	5	2

En las embarazadas que reportaron antecedentes de rubéola durante el embarazo, los recién nacidos fueron aparentemente normales, pero la técnica de 2 ME y el aislamiento viral fueron positivos no pudiéndose descartar tampoco la posibilidad de malformaciones que tengan manifestaciones tardías.

De los casos positivos, 7 reportaron antecedentes de rubéola antes del embarazo, lo cual plantea o un error diagnóstico previo o una reinfección. Se demuestra que en los casos positivos, 9 de ellos no reportaron antecedentes de rubéola, lo cual confirma el hecho de la alta incidencia de rubéola subclínica durante las epidemias.

Nuestros resultados confirman la utilidad de la técnica que utiliza el 2 ME en el diagnóstico de la rubéola congénita mediante la determinación de la IgM, ya que hubo coincidencia entre aislamiento y el 2 ME en 12 de los 16 casos, y en 4 donde no se pudo aislar el virus, esta técnica permitió conocer la infección intrauterina en ellos.

Recomendamos el uso de esta técnica por su sencillez y poco costo. Sin embargo, debido a las limitaciones que algunos autores (*Best y cols., 1968; Forghani y cols., 1973; Gupta y cols., 1971*) reportan de la misma, tanto para el diagnóstico de la rubéola prenatal como postnatal, ya que sus resultados dependen de la presencia de altas concentraciones de IgM en el suero, proponemos los siguientes pasos ante el diagnóstico de la enfermedad.

- a) Casos de rubéola que se presentan pasado varios días el período de convalecencia: Tomar el suero y montar la técnica con 2 ME. Los resultados positivos no tendrán duda, los negativos serán sometidos a técnicas más precisas y refinadas como son la ultracentrifugación o la gel filtración (*Gupta, 1975*), para descartar falsos negativos.
- b) Rubéola Congénita: Tomar el suero y montar técnica con 2 ME. Los resultados negativos serán sometidos a otros procedimientos.
- c) Rubéola postnatal o sea con menos de 7 días: Montar la técnica de IHA a este suero, esperar 2 ó 3 semanas y tomar otra muestra de suero y determinar IHA buscando un aumento de 4 veces del mismo. Si el diagnóstico o la duda lo requieren, seguir las recomendaciones antes señaladas.

CONCLUSIONES

- a) Se confirma la posibilidad de infección intrauterina en el feto sin la producción de alteraciones apreciables en el recién nacido, aunque no se descarta la posibilidad de malformaciones con manifestaciones tardías.

- b) Se demuestra la alta incidencia de infección subclínica, así como la posibilidad de error en el diagnóstico clínico.
- c) Se confirma la utilidad de la técnica que utiliza el 2 ME en el diagnóstico de la Rubéola Congénita; aunque es necesario contar con técnicas más precisas para descartar falsos negativos.

REFERENCIAS

- ANTONIADIS G. AND TISCHER I. Early detection of prenatal infections in newborn. *Zbl. Bakt., I Abt. Orig. A* 225, 279, 1973.
- BANATVALA J.E., BEST J.M., KENNEDY E.A., SMITH E.E. AND SPENCE M.E. A Serological method for demonstrating recent infection by rubella virus. *Brit. Med. J. III*, 285, 1967.
- BAUBLIS J.V. AND BROWN G.C. Specific responses of immunoglobulins to rubella infectiva. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (NY)*, 128, 206, 1968.
- BEST J.M., BANATVALA J.E. AND WATSON D. Serum IgM and IgG responses in postnatally acquired rubella. *The Lancet II*, 65, 1968.
- FORGHANI B., SCHMIDT N.J. AND LENNETTE E.H. Demonstration of rubella IgM antibody by indirect fluorescent antibody staining, sucrose density gradient centrifugation and mercaptoethanol reduction. *Intervirology I*, 48, 1973.
- GUPTA J.D., PETERSON V., MARILYN STOUT AND MURPHY M. Single sample diagnosis of recent rubella by fractionation of antibody on sephadex G-200 column. *J. Clin. Path.* 24, 547, 1971.
- GUPTA J.D. Annotations. Rubella-specific IgM antibody as an aid to the diagnosis of acquired and congenital rubella. *American Heart J.* 89, 258, 1975.
- VESIKARI T. AND VAHERI A. Rubella: a method for rapid diagnosis of a recent infection by demonstration of the IgM antibodies. *Brit. Med. J. I*, 221, 1968.