

# LA IgM SERICA COMO INDICADOR DE INFECCION INTRAUTERINA EN LOS RECIEN NACIDOS DE COLOMBIA<sup>1</sup>

David N. McMurray,<sup>2</sup> Ana Carlina de Aly<sup>3</sup> y Humberto Rey<sup>4</sup>

*Concentraciones séricas muy elevadas de IgM (más de 50 mg%) y concentraciones séricas detectables de IgA (más de 1 mg%) se correlacionaron con infecciones manifestadas en menos del 1% de 2,029 recién nacidos colombianos. La toxoplasmosis y la infección por citomegalovirus eran las infecciones más frecuentes. Apparently, la estimulación antigénica no infecciosa in utero manifestada por una concentración sérica moderada de IgM (20-50 mg%), es bastante común en esta población infantil.*

## Introducción

Las infecciones en el período perinatal son en todo el mundo una causa importante de morbilidad y mortalidad entre los recién nacidos. Las manifestaciones clínicas de las infecciones perinatales son alarmantes. Incluyen el retardo del crecimiento fetal, embriopatía, afectación del sistema nervioso central, incapacidades perceptivas y cognoscitivas y disfunción inmunitaria (1, 2). Las estimaciones de la incidencia de infecciones intrauterinas varían entre el 0.2 y el 4% de todos los re-

cién nacidos, según la población estudiada (3, 4). Dificulta la determinación de esta incidencia el hecho de que muchos niños con infección prenatal son asintomáticos al nacer (5, 6). Las secuelas de la infección pueden aparecer a los pocos meses o años después, cuando la asociación con un hecho perinatal es difícil de establecer (7).

El diagnóstico de las infecciones intrauterinas latentes es un requisito para el tratamiento adecuado de los niños afectados, pero este diagnóstico se complica por la falta de un indicador confiable de la infección asintomática. Para ayudar a tratar este problema, varios investigadores han demostrado la utilidad de evaluar la inmunoglobulina M (IgM) en el suero del cordón umbilical del recién nacido (8-10).

Las concentraciones de IgM en los recién nacidos normales tienden a estar dentro de la gama de 0 a 20 mg%, en tanto que los neonatos infectados por lo general tienen concentraciones de IgM superiores a 20 mg% (11). Desafortunadamente, algunos fetos infectados no producen cantidades elevadas de IgM (12) y, a la in-

<sup>1</sup> Trabajo patrocinado por el Centro Internacional de Investigación Médica (CIDEIM) de la Tulane University-Universidad del Valle, y por una subvención (No. AI-10050) del Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas. Institutos Nacionales de Salud, Servicio de Salud Pública de EUA. Se publica en inglés en el *Bulletin of the Pan American Health Organization*, Vol. 14, No. 4, 1980.

<sup>2</sup> Profesor adjunto, Departamento de microbiología e inmunología médicas, Facultad de Medicina, Texas A & M University, College Station, Texas 77843, EUA.

<sup>3</sup> Técnica, Laboratorio de inmunología, Centro Internacional de Investigación Médica, Tulane University-Universidad del Valle, Cali, Colombia.

<sup>4</sup> Profesor asociado, Departamento de Pediatría, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

versa, algunos niños nacidos con concentraciones de IgM mayores de 20 mg% nunca muestran signo alguno de enfermedad (13). Por lo tanto, la evaluación clínica de ambos grupos requiere vigilancia durante cuando menos algunos meses para detectar la aparición retardada o la ausencia continuada de síntomas.

Se ha asociado una lista creciente de agentes infecciosos con las infecciones intrauterinas. Estos incluyen los agentes denominados TORCH (*Toxoplasma gondii*, virus de la rubeola, citomegalovirus, virus herpético), *Treponema pallidum*, y otros (3). La diferenciación entre estos agentes patógenos es a menudo imposible sobre bases meramente clínicas, necesitándose la identificación del agente etiológico mediante cultivos o serología (14). Esta última, aplicando pruebas de inmunofluorescencia a anticuerpos IgM específicos para cada uno de los patógenos comunes (15), ha demostrado ser el método de identificación más viable.

Algunas investigaciones anteriores sugieren que la estimulación antigénica y las infecciones *in utero* son más frecuentes entre las poblaciones económicamente desfavorecidas, tanto en las sociedades industrializadas (16) como en las sociedades en desarrollo (17, 18). Mata *et al.* (19) han informado que hasta el 15% de los recién nacidos en los poblados rurales de Guatemala tenían concentraciones séricas elevadas de IgM al nacer, aun cuando muchos de estos niños no tenían infección manifiesta (19). No se dispone de datos similares para las poblaciones de Colombia.

La presente investigación se proyectó para lograr tres objetivos: 1) evaluar la utilidad de la IgM sérica como indicador de infección intrauterina en los recién nacidos de Colombia; 2) determinar la incidencia de la infección en una población urbana pobre, y 3) identificar algunos de los patógenos microbianos específicos causantes de infecciones intrauterinas en esta población.

## Pacientes y métodos

En un total de 2,029 niños nacidos en el Hospital Universitario del Valle en Cali, Colombia, entre noviembre de 1976 y abril de 1978 se investigó la concentración de inmunoglobulina M (IgM) en el suero. Se obtuvo el consentimiento de todas las madres de los recién nacidos participantes. Se tomó una pequeña muestra de sangre haciéndoles una punción en el talón con una lanceta durante las primeras veinticuatro horas de vida. Se dejó coagular la muestra sanguínea a la temperatura ambiente y el suero fue separado por centrifugación y analizado a las pocas horas.

La concentración de IgM en el suero de cada recién nacido se determinó empleando dos técnicas, la inmunodifusión radial (IDR) y la contrainmunolectroforesis (CIE). La prueba de IDR se suele emplear en los laboratorios de inmunología clínica para cuantificar las inmunoglobulinas y otras proteínas séricas (20). Se llevó a cabo esta prueba, colocando antisuero IgM anti humano monoespecífico comercial (Hyland-Travenol) en agar Noble al 1% con una concentración de 1:60 sobre un portaobjetos. Después se hicieron hoyos en el agar, que se llenaron con sueros de los recién nacidos. Al cabo de cuarenta y ocho horas, se midió el diámetro del anillo de precipitina formado alrededor de cada pozo con un micrómetro ocular. Se ensayó un juego de cuatro diluciones patrón de IgM humana con cada lote de sueros de los recién nacidos, y con los resultados de los patrones se trazó una gráfica en papel semilogarítmico a partir de la cual se calcularon las concentraciones desconocidas de IgM sérica. Se expresaron los resultados como mg de IgM por 100 ml de suero (mg%). Se encontró que la concentración mínima detectable de IgM empleando este procedimiento era de aproximadamente 1.0 mg%.

Se proyectó la prueba CIE como un ensayo rápido y semicuantitativo para

detectar concentraciones elevadas de IgM en un período de dos horas, en vez de dos días. Se llevó a cabo la prueba empleando una cámara de electroforesis Gelman deluxe y aplicando una capa de agarosa al 1% sobre una bandeja llena de portaobjetos. Se hicieron pares de hoyos adyacentes en el agar. Se colocó una dilución al 1:10 de antisuero IgM antihumano monoespecífico comercial (Hyland-Travenol) en cada pozo en el lado del ánodo y se puso el suero del recién nacido en el hoyo correspondiente en el lado del cátodo. Se llevó a cabo la electroforesis empleando un amortiguador de alta resolución (Tris-barbital-barbital sódico; pH 8.8,  $\mu = 0.05$ ) con un voltaje constante de 250 V y una corriente eficaz de aproximadamente 2-3 miliamperes por bandeja de seis portaobjetos. Se ensayaron seis sueros simultáneamente en cada portaobjetos, con un total de 36 por bandeja.

Después de un período total de electroforesis de 90 minutos, se examinaron los portaobjetos para comprobar la presencia de una banda de precipitina entre los pares de hoyos (las pruebas preliminares mostraron que solamente se obtenían resultados positivos en estas condiciones cuando la concentración de IgM en el suero era mayor de 25-30 mg%; por lo tanto, una banda de precipitina entre los pozos indicaba una concentración elevada de IgM en el suero del recién nacido). Después de este examen inicial, se incubaron todos los portaobjetos a la temperatura ambiente durante 24 horas más para detectar la aparición retardada de un precipitado.

Los niños en los que se registró, mediante la prueba CIE, una concentración elevada de IgM en el suero fueron sometidos a un examen físico completo en las primeras 24 horas de vida. Este examen incluía radiografías de los huesos largos, del pecho y del cráneo, un examen de fondo de ojo para la retinopatía, un recuento sanguíneo completo, y palpación

para la organomegalia. Se determinó la edad gestacional del niño aplicando los criterios físicos y neurológicos de Dubowitz (21). Además, se tomó una muestra de sangre venosa para investigaciones inmunológicas ulteriores. Se seleccionaron al azar, como grupo testigo, 75 recién nacidos sanos con concentraciones de IgM normales (inferiores a 20 mg%).

Las pruebas inmunológicas incluían la determinación de las concentraciones séricas de IgG, IgA, IgD y del complemento C<sub>3</sub>, aplicando una prueba IDR similar a la descrita para la IgM y empleando anti-suero comercial monoespecífico (Hyland-Travenol). La prueba para la IgA se modificó para detectar las concentraciones muy bajas de IgA que se esperaba encontrar en los sueros de recién nacidos. La concentración mínima detectable mediante esta prueba modificada era de 1.0 mg%. La blastogénesis linfocítica se evaluó *in vitro* con linfocitos de la sangre periférica de estos recién nacidos, empleando una técnica de cultivo de sangre entera, adaptada del procedimiento descrito por Han y Pauly (22).

Se cultivaron células de cada paciente en presencia o en ausencia de dos lectinas vegetales—fitohemaglutinina (FHA) y mitógeno de hierba carmín (MHC)—que estimulan la transformación blástica y la mitosis en solo los linfocitos derivados del timo (FHA) o en estos y además en los derivados de la médula ósea (MHC). La actividad blastogénica se midió incorporando timidina tritiada (<sup>3</sup>H-TdR; actividad específica: 6.7 mCi/mM; New England Nuclear) en los cultivos celulares, después de mantenerlos durante cuatro días a 37°C y midiendo la radioactividad en un contador de escintilación líquida después de otras 24 horas. Se expresaron los resultados como índice de blastogénesis linfocítica, que es el cociente del recuento medio por minuto (rpm) de <sup>3</sup>H-TdR en el cultivo estimulado por el rpm medio del cultivo sin estimular (testigo). Se ensayaron cultivos

duplicados en todos los casos. Todos los recuentos se corrigieron teniendo en cuenta los valores de fondo y de extinción y se ajustaron para representar la actividad de  $10^6$  linfocitos.

Además de estas pruebas inmunológicas generales, se llevaron a cabo pruebas serológicas para detectar anticuerpos IgM específicos contra algunos patógenos comunes causantes de infecciones intrauterinas. Se aplicó la prueba de inmunofluorescencia indirecta para detectar los anticuerpos IgM específicos contra *Toxoplasma gondii*, el virus herpético (tipos 1 y 2) y los citomegalovirus. Se emplearon para cada prueba equipos comerciales que contenían una preparación antigénica fijada en un portaobjetos y un antisuero IgM antihumano conjugado con fluoresceína (*Microbiological Research Corporation*). El suero de cada recién nacido se examinó en una serie de diluciones duplicadas y se determinó el punto final. Cada prueba incluía un suero de control negativo, así como otros dos positivos, uno débil y otro fuerte. Las diluciones mínimas aceptadas como positivas fueron 1:100 para los citomegalovirus; 1:100 para los virus herpéticos 1 y 2; y 1:250 para *Toxoplasma gondii*.

A los recién nacidos que obviamente estaban enfermos se les retuvo para su tratamiento y observación. Se envió a su casa a los que no mostraban síntomas de enfermedad. Se visitó en sus hogares tanto a los niños sintomáticos como a los asintomáticos a los dos, tres y seis meses de edad y se les examinó para detectar la eventual aparición retardada de una enfermedad.

## Resultados

De los 2,029 sueros examinados, se encontró que un total de 315 (16%) contenían concentraciones de IgM de 20 mg% o mayores. El cuadro 1 muestra las concentraciones séricas medias de IgM, agru-

**CUADRO 1—Concentraciones de IgM en el suero de recién nacidos examinados en el Hospital Universitario del Valle.**

Grupo (por la concentración de IgM observada)	No. de niños	Concentraciones de IgM observadas (mg%)	
		Rango	Media $\pm$ ETM <sup>a</sup>
<20 mg%	1,714	0-19.5	6.00 $\pm$ 0.15
20-50 mg%	286	20.0-50.0	26.60 $\pm$ 0.41
> 50 mg%	29	65-520	222.67 $\pm$ 35.64
Todos los sueros	2,029	0-520	12.02 $\pm$ 0.78

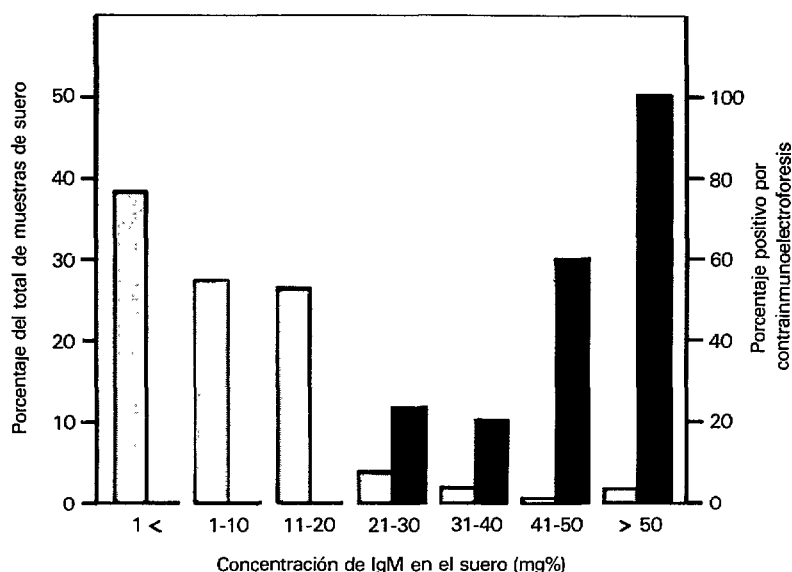
<sup>a</sup> ETM = Error típico de la media.

pando a los recién nacidos arbitrariamente en tres categorías según tuvieran menos de 20 mg% de IgM, entre 20 y 50 mg% y más de 50 mg%. Se desprende de estos promedios que la mayoría de los niños incluidos en el grupo de 20-50 mg% tenía niveles de IgM cercanos a 20 mg%, en tanto que la mayoría de los del grupo con más de 50 mg% tenían concentraciones muy superiores a 50 mg%. En total la concentración sérica media de IgM en los 2,029 niños fue de unos 12 mg%.

Casi el 39% de los niños tenían concentraciones de IgM menores que la concentración mínima detectable (1.0 mg%). Por otra parte, casi el 1.5% de los sueros contenía más de 50 mg%. La concentración de IgM más elevada fue de 520 mg%.

La figura 1 muestra la distribución de las concentraciones de IgM en el suero de los recién nacidos estudiados (barras claras) junto con la capacidad relativa de la prueba CIE para detectar las concentraciones elevadas de IgM (barras oscuras). El cuadro 2 compara los resultados obtenidos con las pruebas IDR y CIE para la IgM sérica. Ambas pruebas se aplicaron a todos los sueros examinados. Los resultados de la prueba CIE se presentan como la presencia (resultado positivo) o ausencia (resultado negativo) de una banda de precipitina en las condiciones descritas. En los dos extremos de la concentración

**FIGURA 1—Distribución de las concentraciones de IgM (barras claras) y contrainmunolectroforesis positiva para IgM (barras oscuras) en sueros de recién nacidos colombianos.**



de IgM (menos de 20 mg% y más de 50 mg%) hubo una coincidencia total entre ambas pruebas. Todos los niños con concentraciones de IgM elevadas (más de 50 mg%) al nacer dieron resultados positivos en la prueba CIE, al igual que 35 de los 39 con más de 40 mg%. Por otra parte, solo 23 de los 85 (27%) recién nacidos con

concentraciones de 21-40 mg% dieron resultados positivos en la prueba CIE.

De los 58 recién nacidos identificados en la prueba CIE con concentraciones de IgM en el suero elevadas, un total de 14 (24%) presentó signos y síntomas de enfermedad manifiesta después de un examen físico exhaustivo. Las afecciones físicas más fre-

**CUADRO 2—Comparación de los resultados obtenidos por inmunodifusión radial (IDR) y por contrainmunolectroforesis (CIE) para detectar concentraciones elevadas de IgM en el suero de recién nacidos en el Hospital Universitario del Valle.**

IgM detectada por inmunodifusión radial (en mg%)	Resultados de la CIE para sueros con distintos valores de IgM			
	Sueros positivos		No. de sueros negativos	No. total de sueros
	No.	%		
0-20	0	0	1,882	1,882
21-30	16	23	55	71
31-40	7	19	30	37
41-50	6	60	4	10
> 50	29	100	0	29
Total	58	2.8%	1,971	2,029

**CUADRO 3—Comparación de algunos parámetros inmunológicos en recién nacidos con concentraciones séricas de IgM elevadas y normales.**

Variable	IgM sérica normal (media $\pm$ error típico de la media n = 75)	IgM sérica elevada (>20 mg%) media $\pm$ error típico de la media	
		Asintomáticos (n = 35)	Sintomáticos (n = 14)
IgM sérica (mg%)	8.9 $\pm$ 3.2	40.2 $\pm$ 4.3 <sup>a</sup>	202 $\pm$ 51 <sup>a</sup>
IgA sérica (mg%)	1.4 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.9	13.1 $\pm$ 6.6 <sup>a</sup>
IgG sérica (mg%)	1,095 $\pm$ 85	1,083 $\pm$ 74	1,061 $\pm$ 184
C <sub>3</sub> sérico (mg%)	95 $\pm$ 7	100 $\pm$ 9	83 $\pm$ 7
Blastogénesis linfocítica <sup>b</sup> con fitohemaglutinina	23.2 $\pm$ 4.3	17.5 $\pm$ 6.4	5.7 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>
Blastogénesis linfocítica <sup>b</sup> con mitógeno de hierba carmín	16.8 $\pm$ 4.8	17.6 $\pm$ 6.1	8.9 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>
No. total de linfocitos por mm <sup>3</sup>	4,468 $\pm$ 314	4,818 $\pm$ 460	4,875 $\pm$ 533
Peso corporal (g)	3,380 $\pm$ 102	3,231 $\pm$ 93	2,814 $\pm$ 229 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Significativamente diferente de los valores de control con  $p < .05$ .

<sup>b</sup> Índice de blastogénesis linfocítica =  $\frac{\text{rpm en el cultivo estimulado}}{\text{rpm en el cultivo no estimulado}}$

cuentas eran hepatomegalia (10 de 14), esplenomegalia (7 de 14), ictericia (6 de 14), retinopatía (7 de 14) y calcificaciones del cráneo o de los huesos largos (3 de 14). Los otros 44 niños con concentraciones elevadas de IgM eran totalmente asintomáticos.

El cuadro 3 compara los datos inmunológicos relativos a los recién nacidos sintomáticos y asintomáticos con elevada concentración de IgM (determinada por la prueba CIE) con un grupo de recién nacidos que tenían concentraciones séricas normales de IgM al nacer. Además de las diferencias notables en las concentraciones medias de IgM, los neonatos sintomáticos tenían significativamente más IgA en el suero al nacer. La blastogénesis linfocítica (estimulada con fitohemaglutinina y mitógeno de hierba carmín) disminuyó notablemente en los niños sintomáticos, aun cuando el número medio de linfocitos circulantes no difería mucho del observado en los recién nacidos normales.

Los recién nacidos con enfermedades

manifestas pesaban significativamente menos al nacer que el grupo testigo o el asintomático, aun sin diferencia significativa en sus edades gestacionales medias. Las concentraciones de IgG y del tercer componente del complemento fueron aproximadamente iguales en todos los grupos. Salvo por una concentración sérica significativamente mayor de IgM los neonatos asintomáticos parecían ser similares a los recién nacidos normales en lo que respecta a las demás inmunoglobulinas y a la función linfocítica *in vitro*.

Las pruebas serológicas de los anticuerpos IgM específicos contra *Toxoplasma gondii*, los virus herpéticos de los tipos 1 y 2, y los citomegalovirus se llevaron a cabo en 14 recién nacidos sintomáticos, 23 asintomáticos con IgM elevada y 20 del grupo testigo. No se encontró ningún anticuerpo IgM contra estos agentes patógenos en ninguno de los niños testigos. Dos de los neonatos asintomáticos tenían valores de IgM significativos contra los citomegalovirus, así como cuatro de los 14 neonatos con en-

fermedades manifiestas. Además, tres niños sintomáticos tenían anticuerpos IgM específicos contra *T. gondii* y uno presentaba un valor significativo de anticuerpos IgM contra el virus herpético del tipo 2. En conjunto un total de ocho (57%) de los 14 neonatos sintomáticos mostraron signos serológicos de infección causada por uno de los agentes patógenos estudiados. Solamente dos de 23 (9%) de los neonatos asintomáticos tenían anticuerpos que indicaran una exposición previa a estos patógenos.

Desaparecieron del estudio varios niños en el curso de las visitas efectuadas a los dos, tres y seis meses del parto. Tres de los recién nacidos sintomáticos murieron durante este período, y otros tres ya no pudieron ser visitados debido a la reubicación de sus familias. Los ocho niños restantes con enfermedades manifiestas al nacer se hicieron asintomáticos durante el período de observación. Seis eran ya normales cuando se les practicó un examen físico a los dos meses de edad.

Ocho de los niños asintomáticos no pudieron ser localizados después de salir del hospital. Sin embargo, ninguno de los demás niños asintomáticos, incluidos los dos con valores significativos de anticuerpos IgM contra los citomegalovirus, presentó signos o síntomas de enfermedad durante sus primeros seis meses de vida que pudieran relacionarse con el medio intrauterino.

## Discusión

La estimulación antigénica del feto humano durante el segundo o tercer trimestre provoca normalmente la producción activa de anticuerpos, sobre todo de la clase IgM (12). Esto es especialmente cierto cuando el antígeno toma la forma de un agente infeccioso.

Varias investigaciones anteriores han documentado la utilidad de una con-

centración sérica elevada de IgM al nacer como indicador de infección intrauterina (8-10). Sin embargo, la utilidad de esta medición depende de la definición que se dé a una concentración "normal" puesto que la concentración normal de IgM varía algo de una población a otra (16, 17).

Ha sido objeto de especial interés la hipótesis de que las infecciones intrauterinas son más comunes en las poblaciones caracterizadas por los bajos ingresos, el apiñamiento, la malnutrición y la mayor exposición a las infecciones (23). Nuestros resultados no confirmaron esta hipótesis. Si se acepta como prueba de infección intrauterina la presencia de signos o síntomas en los primeros seis meses de vida o la presencia de anticuerpos IgM específicos contra un presunto patógeno en el suero del recién nacido, entonces la incidencia de infecciones intrauterinas en la población estudiada fue inferior al 1%, cifra comparable con la obtenida en las sociedades industrializadas. Las madres de estos niños pertenecían predominantemente a una zona urbana pobre de Cali.

Datos socioeconómicos sobre familias similares a las estudiadas por nosotros han aparecido en otras publicaciones (24). Sin embargo, se ha de advertir que el grupo de nuestro estudio quizá no sea totalmente representativo de una población urbana pobre. Muchas madres de este sector de la sociedad no vienen al hospital para dar a luz y no existen datos sobre abortos tempranos que puedan haber sido provocados por infecciones intrauterinas. Por lo tanto, nuestros cálculos de la incidencia de estas infecciones en la población total tal vez sean un poco bajos.

En contraste con la incidencia relativamente baja de enfermedades manifiestas (menos de 1%), hemos observado una incidencia bastante elevada (más de 15%) de niños nacidos con concentraciones elevadas de IgM en el suero (20 mg% o más). Esto no podría explicarse por contaminación de las muestras con sangre materna,

puesto que se obtuvieron todas las muestras de suero directamente de los niños mediante una punción en el talón. Mata *et al.* (19) han registrado una incidencia similar (15%) de IgM elevada en una población rural guatemalteca. Como en la presente investigación, no encontró Mata síntomas de infección en muchos de los recién nacidos con concentraciones de IgM mayores de 20 mg%. Asimismo, Alford *et al.* (16) han encontrado concentraciones séricas elevadas de IgM con mayor frecuencia entre los niños nacidos de mujeres de estratos socioeconómicos pobres.

La ausencia de enfermedades detectables entre el gran número de niños con concentraciones séricas elevadas de IgM en nuestra muestra sugiere que quizá el nivel de 20 mg%, no sea un buen valor diferenciador para ciertas poblaciones marginadas. Nuestros datos distinguen claramente entre los recién nacidos infectados, todos los cuales tenían concentraciones de IgM mayores (por lo general mucho mayores) de 50 mg%, y los recién nacidos asintomáticos que tenían concentraciones de IgM entre 20 y 50 mg%. La importancia clínica de una concentración "moderadamente" elevada de IgM (es decir, de 20-50 mg%) aún es incierta. Los datos nos sugieren, sin embargo, que los tipos no infecciosos de estimulación antigénica del feto tal vez sean más frecuentes en poblaciones como la estudiada.

A una conclusión similar llegaron los investigadores que estudiaron un grupo de 523 recién nacidos hawaianos, en los cuales la concentración media de IgM al nacer era de 17 mg%. Estos autores concluyeron que una concentración de IgM superior a 20 mg% no era necesariamente un buen indicador de infección intrauterina en los neonatos asintomáticos (25). Sin embargo, parece necesario esclarecer la naturaleza de la estimulación *in utero* que provoca una producción significativamente mayor de IgM en poblaciones como estas.

La concentración media total de IgM en el suero de nuestros recién nacidos ( $12.0 \pm 0.8$  mg%) fue muy similar al valor obtenido en un estudio anterior sobre 101 recién nacidos colombianos ( $13.9 \pm 1.0$  mg%) (26). Este último grupo también incluía varios niños con concentraciones de IgM mayores de 20 mg%, ninguno de los cuales tenía signos manifiestos de enfermedad.

De los demás parámetros inmunológicos evaluados, la concentración de IgA en el suero parecía estar asociada íntimamente con enfermedades clínicas en nuestros recién nacidos. De hecho, una IgA detectable (más de 1 mg%) fue encontrada principalmente en el suero de recién nacidos enfermos. Sin embargo, no todos los recién nacidos infectados tenían concentraciones elevadas de IgA.

También otros autores han encontrado concentraciones elevadas de IgA entre los niños con infección intrauterina (27). Cederqvist *et al.* (28) han registrado la frecuente presencia de IgA en sueros del cordón umbilical de neonatos infectados y Mason *et al.* (29) han observado una fuerte correlación entre las concentraciones detectables de IgA en el suero (1 mg% o más) y la infección por citomegalovirus. Nuestros resultados sugieren que la medición de la IgA en el suero de los recién nacidos, además de la de IgM, permitiría a los investigadores clínicos identificar a los neonatos infectados con mayor seguridad.

Los citomegalovirus parecen ser una causa frecuente de infección intrauterina en el área de Cali, seguida por *Toxoplasma gondii* y los virus herpéticos. La incidencia relativa real de estas infecciones no ha podido averiguarse con el presente estudio, debido al pequeño tamaño de la muestra y al hecho de que no se llevaron a cabo pruebas serológicas específicas para otros posibles patógenos (por ejemplo, virus de la rubeola, *T. pallidum*, etc.). Como en estudios anteriores, no se pudo identificar ningún agente etiológico



específico en una proporción importante (50%) de los recién nacidos sintomáticos.

Nuestros resultados, por lo tanto, confirman los de otros autores, quienes han informado que la toxoplasmosis y la infección por citomegalovirus son causas frecuentes de morbilidad fetal (8, 14). Mata et al. (23) han obtenido resultados muy similares en un estudio de seroconversión entre 61 mujeres guatemaltecas de una aldea rural. Durante la gestación, 6% de las mujeres desarrollaron anticuerpos contra los citomegalovirus, el 5% contra los virus herpéticos y casi el 2% contra *T. gondii*.

Una dificultad que presenta la prueba de inmunodifusión radial (IDR) con la IgM para la identificación de recién nacidos infectados es la demora (24-48 horas) en la obtención de los resultados. Este es un problema especialmente grave en las sociedades en desarrollo en que la hospitalización por parto suele ser bastante corta (24 horas o menos). La prueba de contrainmunolectroforesis (CIE) constituyó un método rápido y útil para detectar concentraciones elevadas de IgM en el suero de los recién nacidos. Se disponía de los resultados a las dos horas de recibir la muestra de suero y la prueba detectó a casi todos los recién nacidos que tenían concentraciones de IgM en el suero mayores de 40 mg% y a todos los que tenían enfermedades manifiestas o dieron resultados serológicos positivos respecto a uno de los patógenos específicos investigados. En general, el procedimiento CIE ha demostrado su utilidad para diagnosticar infecciones específicas, y nuestros datos abonan su adopción sistemática para detectar las concentraciones elevadas de IgM cuando sea necesaria la identificación rápida de los niños con una concentración elevada de IgM.

Quizá uno de los resultados más interesantes de este estudio fue la demostración de que los recién nacidos sintomáticos tenían una deficiente inmunidad celular

*in vitro*. A pesar de una leve linfocitosis, la respuesta blastogénica de los linfocitos de la sangre periférica en los recién nacidos con enfermedades manifiestas estaba significativamente reducida (cuadro 3). Los efectos inmunosupresores de las infecciones por *Toxoplasma gondii* (30), citomegalovirus (31), y virus de la rubeola (32), han sido ya comprobados en seres humanos y animales de experimentación. Parece que se puede influir en los componentes humorales y celulares de la respuesta inmunitaria. Los datos experimentales sugieren diversos mecanismos etiológicos posibles, como la infección viral directa de las células linforreticulares (31), el deterioro del desarrollo y función del timo (33), la competencia antigénica y la alteración de subpoblaciones de linfocitos (34). Esto último podría causar ya sea una reducción de la población de linfocitos o la supresión activa de la blastogénesis *in vitro* debido al incremento de la actividad linfocítica supresora. Nuestros resultados sugieren más bien una alteración de la función linfocítica, puesto que no disminuyó el número de linfocitos.

Aunque la correlación entre la función inmunitaria celular *in vivo* e *in vitro* no es absoluta, la demostración del deterioro de la blastogénesis linfocítica implica que los recién nacidos infectados intrauterinamente quizás no presenten una respuesta inmunitaria normal a su infección primaria, con el riesgo consiguiente de contraer además infecciones secundarias. Por lo tanto, la importancia clínica de las secuelas inmunológicas entre los niños infectados *in utero* es una cuestión que merece estudiarse más detenidamente.

## Resumen

Un estudio de 2,029 recién nacidos de una población urbana pobre de Colombia reveló que menos del 1% adolecía de una infección intrauterina manifestada por

signos o síntomas dentro de los primeros seis meses de vida o por la presencia de anticuerpos IgM específicos contra ciertos patógenos. La contrainmunolectroforesis proporcionó un método eficaz para detectar rápidamente concentraciones elevadas de IgM en el suero de los recién nacidos, permitiendo así una rápida identificación de los niños potencialmente infectados.

De los recién nacidos estudiados, el 16% tenía concentraciones de IgM superiores al criterio comúnmente aceptado de 20 mg%. Todos los recién nacidos sintomáticos tenían concentraciones de IgM muy elevadas (más de 50 mg%) y concentraciones séricas de IgA detectables (más de 1 mg%). En cambio, los recién nacidos asintomáticos tenían concentraciones de IgM moderadamente elevadas (20-50 mg%) y no tenían concentraciones de IgA detectables (menores de 1 mg%). La concentración media de IgM para todos los recién nacidos fue de unos 12 mg%.

De los tres patógenos microbianos res-

pecto a los cuales se llevaron a cabo pruebas serológicas específicas a la IgM, los más prevalentes fueron los citomegalovirus (en 4 de 14 niños sintomáticos) y *Toxoplasma gondii* (en 3 de 14).

Los recién nacidos sintomáticos presentaron una función inmunitaria celular deficiente, manifestada por una reducción significativa de la blastogénesis linfocítica *in vitro* estimulada con mitógeno. Nuestros resultados sugieren que la estimulación antigénica *in utero*, sin que se trate necesariamente de una infección, quizás sea más frecuente entre las poblaciones pobres que entre otras poblaciones. ■

### Agradecimiento

Los autores damos las gracias a la Sra. Nancy Morales por el reclutamiento de pacientes y la recolección de las muestras de sangre y a la Srta. María Cristina Solanilla por la coordinación del estudio y la verificación de los datos.

### REFERENCIAS

- (1) Sever, J. L. y W. T. London. Viruses and embryos. *Teratology* 2:39, 1969.
- (2) South, M. A., J. R. Montgomery y W. E. Rawls. Immune deficiency in congenital rubella and other viral infections. *Birth Defects* 11:234, 1975.
- (3) Nahmias, A. J. The TORCH complex. *Hospital Practice* 5:65, 1974.
- (4) Kaiser, E., M. Bakó, J. Storz, I. Otvos, I. Rubecz y J. Mestyan. Clinical correlations with immunoglobulin levels in newborns in a referral neonatal unit. *Acta Paediatr Acad Sci Hung* 14:179, 1973.
- (5) Reynolds, D. W., S. Stango, K. G. Stubbs, A. J. Dahle, M. M. Livingston, S. S. Saxon y C. A. Alford. Inapparent congenital cytomegalovirus infection with elevated cord IgM levels. *N Engl J Med* 290:291, 1974.
- (6) Starr, J. G., R. D. Bart, Jr. y E. Gold. Inapparent congenital cytomegalovirus infection: Clinical and epidemiologic characteristics in early infancy. *N Engl J Med* 282:1075, 1970.
- (7) Melish, M. E. y J. B. Hansaw. Congenital cytomegalovirus infection: Developmental progress of infants detected by routine screening. *Am J Dis Child* 126:190, 1973.
- (8) Alford, C. A., Jr., J. Schaefer, W. J. Blankenship, J. V. Straumfjord y G. Cassady. A correlative immunologic, microbiologic and clinical approach to the diagnosis of acute and chronic infections in newborn infants. *N Engl J Med* 277:437, 1967.
- (9) Alford, C. A., Jr. Immunoglobulin determination in the diagnosis of fetal infection. *Pediatr Clin North Am* 18:99, 1971.

- (10) Gotoff, S. P., C. Gadzala, R. L. Ying y P. W. Wendell. Relationship of neonatal IgM values to congenital abnormalities and mental retardation. *J Pediatr* 78:1020, 1971.
- (11) Sever, J., J. Hardy, S. Korones, M. Gilkeson, L. Corridon, A. Ley, H. Tzan y D. Yarnack. Cord immunoglobulins in a middle class Caucasian population. *J Pediatr* 75:1224, 1969.
- (12) Stiehm, E. R. Fetal defense mechanisms. *Am J Dis Child* 129:438, 1975.
- (13) Miller, M. J., P. J. Sunshine y J. S. Remington. Quantitation of cord serum IgM and IgA as a screening procedure to detect congenital infection: Results in 5,006 infants. *J Pediatr* 75:1287, 1969.
- (14) Alford, C. A., Jr., S. Stagno y D. W. Reynolds. Perinatal infections caused by viruses, *Toxoplasma*, and *Treponema pallidum*. En: S. Aladjem y A. K. Brown (Eds.) *Clinical Perinatology*. St. Louis, Mo., C. V. Mosby, 1974.
- (15) Robertson, P. W. y V. Kertesz. Modified fluorescent antibody technique to detect immuno-globulin M antibodies to *Toxoplasma gondii* in congenital infection. *J Clin Microbiol* 2:461, 1975.
- (16) Alford, C. A., Jr., J. W. Foft, W. J. Blankenship, G. Cassady y J. M. Benton. Subclinical central nervous system disease of neonates: A prospective study of infants born with increased levels of IgM. *J Pediatr* 75:1167, 1969.
- (17) Lechtig, A. y L. J. Mata. Levels of IgG, IgA, and IgM in cord blood of Latin American newborns from different ecosystems. *Rev Lat Am Microbiol* 13:173, 1971.
- (18) Lechtig, A. y L. J. Mata. Cord IgM levels in Latin American neonates. *J Pediatr* 78:909, 1971.
- (19) Mata, L. J. y E. Villatoro. Umbilical cord immunoglobulins. En: R. M. Suskind (Ed.) *Malnutrition and the immune response*. Nueva York: Raven Press, 1977. Pág. 201.
- (20) Mancini, G., A. O. Carbonara y J. R. Heremans. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Int J Immunochemistry* 2:235, 1965.
- (21) Dubowitz, L. M., V. Dubowitz y C. Goldberg. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 77:1, 1970.
- (22) Han, T. y J. Pauly. Simplified whole blood method for evaluating *in vitro* lymphocyte reactivity of laboratory animals. *Clin Exp Immunol* 11:137, 1972.
- (23) Mata, L. J., J. J. Urrutia, G. Serrato, E. Mohs y T. D. Y. Chin. Viral infections during pregnancy and early life. *Am J Clin Nutr* 30:1834, 1977.
- (24) McMurray, D. N., S. A. Loomis, L. J. Casazza, H. Rey y R. Miranda. Development of impaired cell-mediated immunity in mild and moderate malnutrition. *Am J Clin Nutr* 34:68, 1981.
- (25) Wang, W., C. Sprague, M. Yokoyama y H. S. Park. IgM levels of newborns in Hawaii. *Experientia* 29:871, 1973.
- (26) McMurray, D. N., M. A. Reyes, H. Rey y L. J. Casazza. Niveles de inmunoglobulinas en el suero de recién nacidos y niños normales en Cali. *Acta Med Valle* (Colombia) 8:6, 1977.
- (27) Cederqvist, L. L., L. C. Francis, I. A. Zervoudakis, C. G. Berker y S. D. Litwin. Fetal immune response following prematurely ruptured membranes. *Am J Obstet Gynecol* 126:321, 1976.
- (28) Cederqvist, L. L., A. C. Kimball, L. C. Ewooly S. D. Litwin. Fetal immune response following congenital toxoplasmosis. *Obstet Gynecol* 50:200, 1977.
- (29) Mason, E. O. Jr., M. A. South y J. R. Montgomery. Cord serum IgA in congenital cytomegalovirus infections. *J Pediatr* 89:945, 1976.
- (30) Strickland, G. T., L. E. Pettitt y A. Voller. Immunodepression in mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Am Trop Med Hyg* 22:452, 1973.
- (31) Howard, R. J. y J. S. Najarian. Cytomegalovirus-induced immune suppression: I. Humoral immunity. *Clin Exp Immunol* 18:109, 1974.
- (32) Stern, L. M. e I. J. Forbes. Dysgammaglobulinaemia and temporary immune paresis in a case of congenital rubella. *Aust Pediatr J* 11:38, 1975.
- (33) Hultdt, G., S. Gard y S. G. Olovson. Effect of *Toxoplasma gondii* on the thymus. *Nature* 244:301, 1973.
- (34) Schauf, V., A. J. Strelkauskas y A. Deveikis. alteration of lymphocyte subpopulations with cytomegalovirus infection in infancy. *Clin Exp Immunol* 26:478, 1976.

### Serum IgM as an indicator of intrauterine infection in Colombian newborns (Summary)

A study of 2,029 Colombian newborns from a poor urban population revealed that less than 1 per cent suffered from overt intrauterine infection that showed itself through signs or symptoms within the first 6 months of life or through the presence of specific IgM antibodies to suspected pathogens. Counterimmunoelectrophoresis provided an effective method for quickly detecting elevated serum IgM concentrations in newborn sera, thereby permitting rapid identification of potentially infected infants.

Sixteen per cent of the newborns studied had serum IgM levels elevated above the commonly accepted criterion of 20 mg per cent. Symptomatic newborns all had greatly elevated serum IgM levels (over 50 mg per cent) and detectable serum IgA levels (over 1 mg per cent) and detectable serum IgA levels (over 1 mg per

cent). In contrast, asymptomatic newborns had moderately elevated serum IgM levels (20-50 mg per cent) and no detectable IgA levels (under 1 mg per cent). The mean IgM level for all newborns was about 12 mg per cent.

Of the three microbial pathogens for which specific IgM serologic tests were performed, cytomegalovirus (in 4 of 14 symptomatic infants) and *Toxoplasma gondii* (in 3 of 14) were the most prevalent.

Symptomatic newborns exhibited impaired cell-mediated immune function, as evidenced by a significant reduction in mitogen-stimulated lymphocyte blastogenesis *in vitro*. Our results suggest that antigenic stimulation *in utero*, but not necessarily infection, may be more common among economically disadvantaged populations than it is among other populations.

### A IgM do soro como indicador de infecção intrauterina nos recém-nascidos da Colômbia (Resumo)

Um estudo de 2.029 recém-nascidos da Colômbia, numa povoação urbana pobre, revelou que menos de 1% sofria uma infecção intrauterina revelada por indícios ou sintomas dentro dos primeiros seis meses de vida ou pela presença de anticorpos IgM específicos contra certos elementos patogênicos. A contraímuno-electroforese proporcionou um método eficaz para descobrir rapidamente concentrações elevadas de IgM no soro dos recém-nascidos, permitindo assim uma rápida identificação das crianças potencialmente infectadas.

Dos recém-nascidos estudados, 16% tinha concentrações de IgM superiores ao nível geralmente aceite de 20 mg%. Todos os recém-nascidos sintomáticos tinham concentrações de IgM muito elevadas (mais de 50 mg%) e encontraram-se-lhes concentrações de soro de IgA de mais de um miligrama por cento. Em contraposição, os recém-nascidos assintomáticos tinham

concentrações de IgM moderadamente elevadas (20-50 mg%) e não encontraram-se-lhes concentrações de IgA (menos de 1 mg%). A concentração média de IgM entre todos os recém-nascidos foi de uns 12 mg%.

Dos três elementos patogênicos microbianos sobre os quais se realizaram exames serológicos específicos para a IgM, os que predominaram foram os citomegalovirus (em 4 de 14 crianças sintomáticas) e *Toxoplasma gondii* (em 3 de 14).

Os recém-nascidos sintomáticos apresentaram uma função imunitária celular deficiente, manifestada por uma redução importante da blastogênese linfocítica *in vitro* estimulada com mitogenio. Os nossos resultados fazem-nos pensar que a estimulação antigénica *in utero*, sem que se trate necessariamente de uma infecção, talvez seja mais freqüente entre as populações pobres que entre as outras.

### Sérum IgM comme indicateur d'infection intra-utérine chez les nouveau-nés, en Colombie (Résumé)

Une étude de 2.029 nouveau-nés colombiens d'une population urbaine pauvre révéla que

moins de 1% souffrait d'une infection intra-utérine se manifestant par des signes ou

symptômes au cours des six premiers mois de vie ou par la présence d'anticorps IgM spécifiques contre des microbes pathogènes dont on soupçonnait la présence. La contre-immuno-electrophorèse fournit une méthode efficace pour déceler rapidement des concentrations élevées de IgM dans le sérum des nouveau-nés, permettant ainsi l'identification précoce de nourrissons potentiellement infectés.

Parmi les nouveau-nés étudiés, 16% présentaient des concentrations de IgM supérieures au critère communément accepté de 20 mg%. Tous les nouveau-nés symptomatiques présentaient des concentrations de IgM très élevées dans le sérum (plus de 50 mg%) et des niveaux de IgA décelables (plus de 1 mg%) dans le sérum. Par contre, les nourrissons asymptomatiques présentaient des concentrations de IgM dans le sérum modérément

élevées (20-50 mg%) et pas de concentrations de IgA décelables (moins de 1 mg%). La concentration moyenne de IgM pour l'ensemble des nouveau-nés fut d'environ 12 mg%.

Sur les trois microbes pathogènes, pour lesquels on fit des tests spécifiques de IgM dans le sérum, les plus fréquemment observés furent les cytomégalovirus (chez 4 d'un groupe de 14 nouveau-nés symptomatiques) et *Toxoplasma gondii* (chez 3 d'un groupe de 14 nouveau-nés).

Les nouveau-nés symptomatiques présentaient une fonction immunitaire cellulaire déficiente, manifestée par une réduction significative de la blastogenèse lymphocytaire stimulée par mitogène, *in vitro*. Nos résultats suggèrent que la stimulation antigénique, *in utero*, sans qu'il s'agisse nécessairement d'une infection, est peut-être plus fréquente parmi les populations pauvres que parmi les autres.

### NOMENCLATURA DE CEPAS DE POLIOVIRUS

En 1951 la Comisión de Tipificación de la *National Foundation for Infantile Paralysis* informó que los virus de la poliomiелitis debían clasificarse dentro de cualesquiera de los tres serotipos. Investigaciones recientes han llevado a utilizar sueros altamente específicos para una cepa, preparados por absorción, así como el trazado de mapas de oligonucleótidos (*finger printing*). Un grupo de expertos de la OMS reunidos en el *National Institute for Biological Standards and Control* de Hampstead, Londres, del 6 al 8 de octubre de 1980, discutió la aplicación de estos métodos e informó que esas pruebas permitían demostrar que los recientes casos de poliomiелitis del tipo 1 ocurridos en los Países Bajos, Canadá y Estados Unidos de América, podían atribuirse a una cepa común. Todos los aislamientos recientes de poliovirus del tipo 3 que se han probado en el Reino Unido, estaban relacionados con la cepa de la vacuna. El mismo grupo ha propuesto que, en el futuro, los aislamientos de poliovirus se identifiquen según el tipo, país (o ciudad), número de cepa y año de aislamiento. Así, P1/England/119/65 indica la cepa 119 de poliovirus del tipo 1 aislada en Inglaterra en 1965. La OMS ha recomendado que a partir de julio de 1981 toda referencia a una cepa de poliovirus se identifique mediante este sistema de nomenclatura. (Tomado de: OMS, *Weekly Epidemiological Record*, Vol. 56, No. 29, julio 1981.)