

PRUEBA DE AGLUTINACION VS. RUBEOLA EN NIÑOS CON TRASTORNOS AUDITIVOS Y EN SUS MADRES

*Auramarina Villalobos de Roldán**
*Lía Angarita***
*Graciela Salas****
*Marvelis Olaves****
*Xiomara Molina****

RESUMEN

Se estudiaron 27 niños con trastornos auditivos y sus respectivas madres, así como un grupo de 15 niños sin ningún defecto auditivo y sus respectivas madres, con el fin de determinar en ellos la presencia de anticuerpos contra rubéola. La determinación se hizo mediante la técnica de aglutinación de partículas látex sensibilizadas con antígenos de rubéola (Rubascan Card Test). Con esta prueba pudimos detectar la presencia de estos anticuerpos en el 59,26% de los niños con trastornos auditivos, mientras que el 40,75% resultó ser seronegativo. En un alto porcentaje (62,50%) de los primeros fue posible recoger historia y antecedentes de contacto con rubéola, mientras que en el 71,43% de los seronegativos se pudo determinar que durante la etapa de recién nacidos todos ellos recibieron tratamiento con anti-

* Cátedra de Microbiología - Facultad de Medicina - Universidad del Zulia.

** Unidad de Genética - Facultad de Medicina - Universidad del Zulia.

*** Estudiante del VIII Semestre - Escuela de Bioanálisis - Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela, 1984.

microbianos oto-tóxicos. Por otro lado el 80% de los testigos resultó seronegativo y sólo el 20% de ellos resultó seropositivo, pero en estos fue posible recoger historia materna de rubéola previa al embarazo. Consideramos que la técnica utilizada es sencilla, rápida de utilizar y de mucha utilidad sobre todo si se usa para estudiar grandes poblaciones.

INTRODUCCION

La rubéola es una enfermedad exantemática benigna de niños y adultos jóvenes. Su primera mención como entidad clínica definida, fue poco después de 1800, luego se vio que constituía una de las enfermedades más frecuentes de la infancia (13). La enfermedad llamó poco la atención antes de 1941, época en la cual Gregg (15), oftalmólogo australiano reconoció que ciertos defectos congénitos, especialmente cataratas y anomalías cardíacas, estaban asociados con la infección rubeólica en los primeros meses del embarazo.

Se sabe ahora, que un ataque de rubéola durante el primer trimestre del embarazo puede ocasionar infección en el feto, apareciendo anomalías congénitas prácticamente en cualquier órgano del niño (2, 8, 9, 10, 15, 16, 17, 24, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 40, 42).

Por lo común, esta enfermedad se contrae a una edad más tardía que el sarampión, y este factor guarda relación directa con la importancia de la rubéola en la medicina preventiva. Puesto que la máxima incidencia de infección ocurre en la niñez, los escolares constituyen un eslabón importante en la transmisión de la enfermedad, con particularidad en familias cuyas madres pueden ser todavía susceptibles (Dudgeon, J. (1969), citado por Dudgeon (11)). Las infecciones primarias subclínicas sin erupción son extraordinariamente comunes; la reinfección es asintomática, no causa viremia y no se ha visto que afecta el producto del embarazo (11).

Las personas del sexo femenino corren riesgo especial por el grave peligro que la enfermedad representa para el producto de un embarazo. Al calcular este riesgo es preciso conocer la incidencia de la susceptibilidad a la rubéola; así las encuestas serológicas indican que la enfermedad es endémica en la mayor parte del mundo y que hay un gran número de mujeres gestantes susceptibles, por lo que plantean la necesidad de establecer un sistema de prevención (4, 5, 11, 12, 22, 23, 41).

En encuestas serológicas realizadas en nuestro medio por Valles y cols. (41) en mujeres de edad fértil, el 48% resultó inmune, y el 51,1% susceptibles, mientras que cuando otros investigadores (23) estudiaron mujeres embarazadas el 59% resultó inmune y el 41% no presentó anticuerpos detectables. Esto indica el alto núme-

ro de la población femenina de nuestro medio, con riesgo de sufrir la enfermedad durante el embarazo, y con ello la posibilidad de que el feto al nacer presente alguna malformación congénita.

Durante la epidemia de rubéola ocurrida en Maracaibo en los años 1979-1980, Machado (22) estudió un total de 1.020 prenatales y obtuvo los siguientes resultados: 264 (25,8%) casos confirmados; 334 (32,7%) casos presuntivos; 217 (21,3%) contactos inmunes; y 107 (10,5%) negativos para rubéola reciente. Para el momento de la enfermedad o del contacto más del 56,5% se encontraban en el primer trimestre de su embarazo. Estos resultados deben alertar a las autoridades sanitarias para emprender campañas de prevención de esta enfermedad.

Dos factores determinan el efecto del virus sobre el feto: el estado de inmunidad de la madre y la edad de gestación en que ocurre la infección. En las infecciones maternas primarias, la viremia va seguida de la propagación del virus al epitelio coriónico y de allí al torrente sanguíneo fetal (Töndury G., citado por Dudgeon, J. (11).

A la asociación de la sordera, catarata congénita y enfermedad cardíaca se le denominó "Síndrome de Rubéola Congénita". La epidemia que azotó a los Estados Unidos de Norteamérica durante los años 1964-1965 (37), y observaciones realizadas por otros autores en diversos países (2, 16, 24, 25, 28, 38) han permitido delinear el llamado (Síndrome de Rubéola Congénita Ampliado), al ser apreciadas otras anomalías causadas por el virus de rubéola, tales como: ictericia, hepatitis, hepatoesplenomegalia, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica, lesiones óseas, neumonía intersticial, etc. También han sido descritas anomalías de la inmunidad humoral y celular (10).

El riesgo del feto está relacionado de manera significativa con el período del embarazo en que ocurre la infección materna, según artículo publicado por el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos en 1981 (citado por Sever J. (36)), cuando la rubéola materna ocurre en el primer trimestre del embarazo existe un 25% de probabilidades de anomalías en el feto y el riesgo es menor del 10% en el tercer mes y desciende hasta el 6% en el cuarto y quinto mes.

La pérdida neurosensorial congénita de la audición es la más frecuente manifestación clínica de la infección intrauterina por rubéola y especialmente cuando la infección materna se produce después de la octava semana de gestación (8). Esto se debe al daño inducido por el virus al órgano de Corti, pudiendo ser ésta superficial y/o profunda, uni o bilateral, careciendo de una configuración audiométrica característica (2, 11, 34).

En la infección por rubéola contraída en el primer mes del embarazo, se observan múltiples anomalías asociadas con sorderas: deterioro de la audición, defectos cardíacos, anomalías visuales, o bien defectos auditivos, defectos cardíacos, defectos visuales e impedimentos neurosensoriales; con una baja incidencia de

solo defectos auditivos. Al contrario en la infección de rubéola contraída en el segundo, tercero y cuarto mes de embarazo hay una marcada incidencia de defectos auditivos solamente, y una baja incidencia de otras anormalidades (34).

Se ha sugerido que el gran número de niños con pérdida auditiva, se debe a que la rubéola intrauterina ha sido seriamente subestimada o probablemente a la alta incidencia de infecciones subclínicas durante el embarazo (17).

Debido a la gran importancia epidemiológica de la rubéola se han ideado diversas técnicas para su diagnóstico. Desde el punto de vista serológico diversos métodos han sido utilizados para la determinación de anticuerpos contra rubéola, entre los cuales tenemos: Neutralización, Inmunofluorescencia, Fijación de Complemento, Radio Inmunoensayo (R. I. A.), Inhibición de la Hemaglutinación (I. H. A.), Aglutinación de Partículas Latex, Inmunoabsorbentes ligados a Enzimas (E. L. I. S. A.), etc. (1, 3, 6, 7, 14, 18, 19, 20, 21, 26, 35, 36, 39, 41). La determinación de anticuerpos neutralizantes aunque es una prueba segura y útil, es muy costosa, complicada y consume mucho tiempo; por otra parte, los bajos títulos de anticuerpos neutralizantes, para rubéola dificultan la interpretación de los resultados (1, 7, 21, 26). Problemas similares presenta el método de anticuerpos fluorescentes, sin embargo, esta prueba ha demostrado ser útil para detectar la presencia de anticuerpos específicos tipo IgM, y por consiguiente es de valor para diferenciar infección primaria de una reinfección y sobre todo sirve para el diagnóstico de infección fetal (18).

El método de Radio Inmunoensayo en fase sólida indirecta ha sido aplicado para la determinación de anticuerpos contra rubéola, siendo éste un método muy sensible, pero no asequible a todos los laboratorios (14, 35, 36).

La prueba de E.L.I.S.A. es usada para la determinación de inmunoglobulinas IgG específica para rubéola. Es una prueba simple de ejecutar, requiere sólo pequeños volúmenes de suero, es sensible, reproducible y los reactivos son estables (19).

La prueba de I.H.A. para la rubéola es hoy el procedimiento serológico más ampliamente usado para el diagnóstico de infección y determinación del estado de inmunidad, ya que es un método altamente sensible para la determinación de anticuerpos y la prueba serológica más práctica desde el punto de vista económico, por la rapidez con la cual pueden ser obtenidos sus resultados (3, 6, 7, 21, 23, 26, 36, 39, 41).

Por su amplio uso la prueba de I.H.A. ha sido estandarizada por el Centro de Control de Enfermedades Infecciosas (6) y últimamente ha sido usada como método de referencia para evaluar otros métodos.

En 1981 Castellano y cols. (3), extendieron su evaluación de once equipos comerciales disponibles para el diagnóstico de infección por rubéola, para incluir un nuevo y rápido ensayo, que es la prueba de aglutinación de partículas látex sensibilizadas con antígeno de rubéola en tarjetas. Esta prueba aún no estaba disponible en

el mercado y fue facilitada por sus fabricantes (Hynson, Westcott y Dunning, Baltimore, Md), para compararlo con métodos standard de Inhibición de la Hemaglutinación en la determinación de la inmunidad y el diagnóstico serológico de rubéola. Estos investigadores consideraron que ésta es altamente confiable y rápida para la detección de anticuerpos contra rubéola.

La aglutinación de partículas látex sensibilizadas con antígeno de rubéola, ha sido recientemente autorizada para la investigación de anticuerpos específicos contra rubéola. Ante la presencia de anticuerpos en el suero, estas partículas se aglutinan en una larga y visible cadena. Esta prueba arroja resultados positivos o negativos, pero no indica la cantidad de anticuerpos presentes (36).

El propósito de esta investigación es el de utilizar la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígenos de rubéola con el fin de ver si con ella es posible detectar la presencia de anticuerpos contra rubéola en suero. Para tal fin se escogieron un grupo de niños con trastornos auditivos y sus madres, ya que éstos están siendo estudiados en la Unidad de Genética Médica de L.U.Z. y lo cual nos facilitó la obtención de las muestras.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 27 niños con problemas de audición con edades comprendidas entre 2 y 9 años y sus madres (Grupo I), los cuales son atendidos en el Instituto Zuliano de Audición y Lenguaje (I.Z.A.L.), y 15 niños sin anomalías congénitas asociadas a rubéola con edades similares a las anteriores y sus madres, provenientes de niños hospitalizados en el Departamento de Cirugía Pediátrica del H.U.M. para cirugía selectiva, los cuales sirvieron como grupo testigo (Grupo II) (Cuadro N° 1). A ambos grupos se les llenó una encuesta donde se indagan datos relacionados con: sexo y edad, existencia o no de otros miembros con problemas de audición en la familia, antecedentes de infección por rubéola o contactos con la misma de la madre durante el embarazo del propósito, antecedentes de rubéola post-natal en el niño, y si la madre o el niño fueron o no vacunados, etc., para el grupo testigo se eligieron sólo niños y madres que no habían sido vacunados.

Las muestras fueron tomadas por venipuntura, en tubos sin anticoagulantes, los sueros así obtenidos fueron almacenados en frascos viales estériles a temperatura de -20°C . hasta el momento de ser procesados.

En las muestras de suero sin diluir se determinó la presencia de anticuerpos vs. rubéola, utilizando la prueba de Aglutinación de Partículas de Látex "RUBASCAN CARD TEST", de los laboratorios Hynson, Westcott y Dunning, Baltimore, U.S.A., que se fundamenta en la reacción de los anticuerpos presentes en el suero con el reactivo de partículas de látex sensibilizadas con el antígeno de rubéola, so-

bre la superficie de una tarjeta. La prueba fue realizada siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Se incluyeron sueros testigos positivos y negativos.

CUADRO N° 1

GRUPOS ESTUDIADOS DE MADRES E HIJOS CON Y SIN TRASTORNOS AUDITIVOS. NUMERO Y PORCENTAJE. MARACAIBO, 1983-84.

GRUPOS	N°	%
I		
MADRES	27	32,15
HIJOS CON TRASTORNOS AUDITIVOS	27	32,15
II		
MADRES	15	17,85
HIJOS SIN TRASTORNOS AUDITIVOS	15	17,85
TOTAL	84	100,00

F.de I.: Instituto Zuliano de Audición y Lenguaje (IZAL). Departamento de Cirugía Pediátrica (HUM).

RESULTADOS

En el Cuadro N° 1, se muestra el total de casos estudiados, clasificados según el estado de audición del niño, en él se puede observar que los niños con trastornos auditivos y sus madres presentaron cada uno de ellos el 32,15% y que los niños sin trastornos auditivos y sus madres representaron el 17,85%.

Los resultados serológicos de los niños con trastornos auditivos y sus madres fueron: 23 (85,19%) de las madres resultaron positivas y 4 (14,81%) negativas. De los niños estudiados, 16 (59,26%) resultaron positivos y 11 (40,74%) negativos.

En relación con los resultados serológicos de los niños sin trastornos auditivos y sus madres: el 73,33% (11 casos) de las madres resultaron positivas y el 26,67% (4 casos) fueron negativas, mientras que los niños 3 (20%) fueron positivos y 12 (80%) negativos.

En el Cuadro N° 2, se presentan los resultados serológicos de los niños con trastornos auditivos, tomando en cuenta la historia de rubéola de la madre, previa

CUADRO N° 2

ANTICUERPOS ANTI-RUBEOLA EN NIÑOS CON TRASTORNOS AUDITIVOS SEGUN ANTECEDENTES, NUMERO Y PORCENTAJE. MARACAIBO, 1983-1984.

Historia Serología.	RUBEOLA MATERNA PREVIA AL EMBARAZO	RUBEOLA MATERNA DURANTE EL EMBA- RAZO	CONTACTO MA- TERNO CON RUBEOLA DU- RANTE EL EM- BARAZO	RUBEOLA MA- TERNA NE- GATIVA DU- RANTE EL EM- BARAZO	HISTORIA MA- TERNA DE RUBEOLA DESCONOCIDA	INMUNIZA- CION PARA RUBEOLA	RUBEOLA POST-NATAL	TOTAL
	*	*	*	*	*	*	*	
Niños Seropositivos	—	10 (62.50)	—	3 (18.75)	1 (6.25)	1 (6.25)	1 (6.25)	16 (100.00)
Niños Seronegativos	3 (27.27)	—	1 (9.09)	7 (63.64)	—	—	—	11 (100.00)

F. de I.: Instituto Zuliano de Audición y Lenguaje (I.Z.A.L.). Maracaibo - Venezuela 1983-1984.

* Del Propósito.

o durante el embarazo del propósito, así como antecedentes de rubéola post-natal e inmunización para rubéola en éste. En 10 (62,50%) de los niños seropositivos hubo historia de rubéola materna durante el embarazo de ellos, 3 (18,75%) tuvieron historia negativa y 1 (6,25%) tuvo historia de rubéola post-natal; en el 6,25% (1 caso) no se pudo determinar antecedentes maternos de rubéola y en 1 de ellos (6,25%) hay antecedentes de inmunización para rubéola. De los 11 casos seronegativos, 3 (27,27%) tuvieron historia de rubéola materna previa al embarazo, 2 (9,09%) de contacto materno con rubéola durante el embarazo y en 7 (63,64%) de ellos no hubo antecedentes de rubéola materna.

En el Cuadro N° 3, se presentan los resultados serológicos de los niños sin trastornos auditivos tomando en cuenta los mismos antecedentes del cuadro anterior. De los 15 casos estudiados, 3 (20%) fueron seropositivos y en todos ellos, hubo antecedentes maternos de rubéola. De los 12 seronegativos encontrados en este grupo, 3 (25%) tuvieron antecedentes maternos de rubéola previa al embarazo, en 6 (50%) de ellos, los antecedentes de rubéola fueron negativos y en los otros 3 (25%), no fue posible recoger dichos antecedentes.

CUADRO N° 3

ANTICUERPOS ANTI-RUBEOLA EN NIÑOS SIN TRASTORNOS AUDITIVOS SEGUN ANTECEDENTES, NUMERO Y PORCENTAJE. MARACAIBO, 1983-1984.

Historia	RUBEOLA MATERNA PREVIA AL EMBARAZO	RUBEOLA MATERNA DURANTE EL EMBARAZO	CONTACTO MATERNA CON RUBEOLA DURANTE EL EMBARAZO	RUBEOLA MATERNA NEGATIVA DURANTE EL EMBARAZO	HISTORIA MATERNA DE RUBEOLA DESCONOCIDA	INMUNIZACION PARA RUBEOLA	RUBEOLA POST-NATAL	TOTAL
Serología	*	*	*	*	*	*	*	
Niños Seropositivos	3 (100.00)	--	--	--	--	--	--	3 (100.00)
Niños Seronegativos	3 (25.00)	--	--	6 (50.00)	3 (25.00)	--	--	12 (100.00)

F. de I.: Departamento de Cirugía Pediátrica (H.U.M.). Maracaibo - Venezuela 1983 - 1984.

* Del Propósito.

DISCUSION

La utilización de pruebas serológicas para la determinación y cuantificación de anticuerpos, continúan siendo un procedimiento que asociado a los datos clínicos y/o los antecedentes, constituye un recurso valioso para el diagnóstico de algunos procesos infecciosos, donde se incluye la infección causada por el virus de la rubéola, sobre todo si tomamos en cuenta que esta enfermedad puede ser confundida con una gran variedad de cuadros, entre los cuales se encuentran algunos producidos por virus entéricos. Por otro lado, no siempre la infección rubeólica se manifiesta con sintomatología típica y puede pasar desapercibida, ésto último tiene gran importancia cuando la infección ocurre en mujeres durante el primer trimestre del embarazo, ya que por todos es conocido que ésta enfermedad produce efectos marcados en el feto, entre los cuales cabe mencionar: cataratas, malformaciones cardíacas, trastornos auditivos, etc. (8, 9, 10, 15, 16, 17, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 40, 42).

Dentro de las pruebas utilizadas para el diagnóstico serológico de rubéola existen unas muy sofisticadas y costosas como: R.I.A., Inmunofluorescencia, E.L.I.S.A., (14, 18, 19, 35, 36); sin embargo la prueba diagnóstica por excelencia para detectar anticuerpos anti rubéola, debido a su sencillez, economía y alta sensibilidad es la de inhibición de la hemaglutinación, pero hoy día se cuenta también con una prueba de aglutinación que utiliza partículas de látex sensibilizadas con antígenos

de rubéola, la cual sirve para detectar la presencia de estos anticuerpos, no así su cuantificación, pero ésta es de gran utilidad como prueba de descarte, sobre todo cuando se estudian grandes poblaciones.

En el presente estudio se utilizó la prueba de aglutinación de látex, con el fin de detectar anticuerpos anti rubéola en un grupo de 27 niños con trastornos auditivos y sus madres, al mismo tiempo se utilizó como grupo testigo 15 niños sin trastornos auditivos y sus madres.

De los 27 niños con trastornos auditivos, 16 (59,26%), resultaron seropositivos y de éstos 10 (62,50%) eran hijos de madres con antecedentes de rubéola en ese embarazo, en 3 de ellos (18,75%) la historia materna de rubéola fue negativa, mientras que con historia materna desconocida, antecedentes de inmunización para rubéola en ellos y con historia de rubéola post-natal encontramos 1 caso en cada uno de ellos, lo que representó el 6,25% respectivamente; éstos hallazgos difieren un poco de los reportados por Peckman (31), quien encontró estos anticuerpos en un 24% de los niños sordos y que sólo el 40% de las madres de éstos niños tenían antecedentes de rubéola, no encontrando ellos antecedentes de inmunización o rubéola post-natal, mientras que Ojala (27) encontró un 45% de seropositividad en los casos por ellos estudiados y un 67% de las madres de estos niños tuvieron antecedentes de rubéola durante el embarazo, y éstos al igual que Peckman (31) no encontraron antecedentes de inmunización, ni de rubéola post-natal. Nuestros hallazgos son similares a los reportados por Gumpel y cols. (17) quienes encontraron un 61% de seropositividad y que en el 75% de las madres de estos niños se recogió historia de infección, o contacto con rubéola durante el embarazo.

Por otro lado el 11% de los niños con trastornos auditivos resultó ser seronegativo, de éstos en el 27,27% se pudo constatar historia materna de rubéola previa al embarazo, en el 9,09% hubo historia de contacto con rubéola y en los restantes 63,64% la historia de rubéola fue negativa. Estos hallazgos difieren de los encontrados por Peckman (31) quien encontró que en el 4% de las madres de los seronegativos fue posible determinar antecedentes maternos de rubéola.

En 7 casos (63,64%) seronegativos no hubo antecedentes de rubéola, pero en 5 de ellos (71,43%) se pudo determinar antecedentes de haber padecido cuadros meníngeos durante la etapa de recién nacidos y todos sin excepción recibieron antimicrobianos ototóxicos.

Por otro lado, en los 15 niños utilizados como testigos se observó que el mayor porcentaje (80%) resultó ser seronegativo, mientras que el 20% restante presentó anticuerpos, pero en estos últimos se recogieron antecedentes de historia materna de rubéola previa a ese embarazo.

A pesar de que el propósito de este trabajo no fue el de dilucidar la probable etiología de los trastornos auditivos presentes en los niños estudiados, con los re-

sultados obtenidos podemos decir que en el 62,50% los trastornos obtenidos pudieron ser debido a rubéola intrauterina, que en el 71,43% de los seronegativos, estos trastornos se debieron a la administración de antimicrobianos ototóxicos, mientras que en el 28,57% de estos últimos quizás los trastornos auditivos fueron debido a otros factores etiológicos, aunque no se descarta la posibilidad de que fueran también debido a rubéola intrauterina, pero en ellos hubo pérdida de anticuerpos.

Con los hallazgos encontrados, podemos concluir al igual que Castellano y cols. (3) que la prueba utilizando partículas de latex sensibilizadas con antígenos de rubéola constituye un método rápido y sencillo para la determinación de anticuerpos para rubéola y que es de mucha utilidad como prueba de descarte, sobre todo cuando se estudian grandes poblaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 ALFORD, C.: Studies on Antibody in Congenital Rubella Infections. *Amer. J. Dis. Child.* 110:455-463, 1965.
- 2 ANZOLA, P.: Epidemiología de la rubéola en Maracaibo. Efectos Teratogénicos del Virus Rubéólico. Maracaibo, 1979.
- 3 CASTELLANO, G. A.; MADDEN, D. L.; HAZZARD, G. T.; CLEGHORN, C. S.; VAILS, D. V.; LEY, A. C.; TZAN, N. R. and SEVER, J. L.: Evaluation of Commercial Available Diagnostic Test Kits for Rubella. *J. Infect. Dis.* 143(4): 578-584, 1981.
- 4 Center for Disease Control: Current Status of Rubella in the United States 1969-1979. *J. Infect. Dis.* 142: 776-779, 1980.
- 5 Center for Disease Control: Recommendation of the Immunization. Practices Advisory Committee (A.C.I.P.). *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 30(4): 37-47, 1981.
- 6 Center for Disease Control: A Procedural Guide to the Performance on the Standardized Rubella Hemagglutination - Inhibition Test. Atlanta, Georgia, the Center, 1970, 47 + 9 p.
- 7 CHANG, T.; WINSTEIN, L.: Studies of Nonspecific Inhibition of Rubella Virus and Isolation and Identification of the Inhibitor. *Am. J. M. Sc.* 263(4): 233-239, 1972.
- 8 COOPER, L. Z.; ZIRING, R. P.; OCKERSE, A. B.; FENDUN, B. A.; KIELY, B. and KRUGMAN, S.: Rubella. Clinical Manifestations and Management. *Amer. J. Dis. Child.* 118: 18-28, 1969.
- 9 DESMOND, M. M.; MONTGOMERY, J. F.; MELNICK, J. L.; CONHRAN, G. G. and VENIAUD, W.: Congenital Rubella Encephalitis. *Amer. J. Dis. Child.* 118: 18-20, 1969.
- 10 DUDGEON, J. A.: Maternal Rubella and its Effect on the Foetus. *Arch. Dis. Childh.* 42: 110-125, 1967.
- 11 DUDGEON, J. A.: Vacunas antirrubélicas. *Bol. O.S.P.* 74: 411-424, 1973.
- 12 DUDGEON, J. A.: Congenital Rubella. Pathogenesis and Immunology. *Amer. J. Dis. Child.* 118: 35-44, 1969.
- 13 FORBES, J. A.: Rubella. Historical Aspects. *Amer. J. Dis. Child.* 118: 5-11, 1969.

- 14 FORGHANI, B. and SCHMIDT, N.: Antigen Requirements, Sensitivity and Specificity of Enzyme Immunoassays for Measles and Rubella Viral Antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 9(6): 657-663, 1969.
- 15 GREGG, N. M.: Congenital Cataract Following German Measles in the Mother. *Trans. Ophthal. Soc. Austr.* 3: 35-46, 1941.
- 16 GUMPEL, S. M.: Clinical and Social Status of Patients with Congenital Rubella. *Arch. Dis. Childh.* 47: 330-337, 1972.
- 17 GUMPEL, S. M.; HAYES, K. and DUDGEON, J. A.: Congenital Perceptive Deafness: Role of Intrauterine Rubella. *A. Brit. Med. J.* 2: 300-304, 1971.
- 18 IWAKATA, S.; RHODES, A. J.; LABZOFFSKY, N. A.: The Significance of Specific IgM Antibody in the Diagnosis of Rubella Employing the Immunofluorescence Technique. *C. M. A. Journal.* 106: 327-330, 1972.
- 19 LEMIKKI, P. O.; SHEKKARCHI, I.; DORSETT, P.; SEVER, J. L.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Determination of Specific Rubella Antibody Levels in Micrograms of Immunoglobulin G per Milliliter of Serum in Clinical Samples. *J. Clin. Microbiol.* 8 (4): 419-423, 1978.
- 20 LENNETTE, E. H.; SCHMIDT, N. J.: Neutralization Fluorescent Antibody and Complement Fixation Tests for Rubella. In: *Rubella; First Annual Symposium of the Eastern Pennsylvania Branch American Society for Microbiology.* Springfield, 111, C. C. Thomas, 1973, p. 18-31.
- 21 LENNETTE, E. H.; SCHMIDT, N. J.; MAGOFFIN, R. L.: The hemagglutination Inhibition Test for Rubella. A comparison of its Sensitivity to that of Neutralization, Complement Fixation and Fluorescent Antibody Test for Diagnosis in Infección and Determination of Immunity Status. *J. Immun.* 99: 785-793, 1967.
- 22 MACHADO, H.: Estudio Seroepidemiológico en Prenatales durante la epidemia de rubéola ocurrida en Maracaibo en los años 1979-1980. *Invest. Clín.* 23(2): 105-119, 1982.
- 23 MACHADO, H. y VALLES, A.: Anticuerpos Inhibidores de la Hemaglutinación para rubéola en mujeres embarazadas. *Invest. Clín.* 17(2): 79-86, 1976.
- 24 MARSHALL, W. C.; PECKHAM, C. S.; DUDGEON, J. A. et al: Parity of Women Contracting Rubella in Pregnancy. Implications with Respect to Rubella Vaccination. *Lancet.* 1(7971): 1231-1233, 1976.
- 25 MENSER, M.; DORMAN, K.; KENRICH, K.; PURVIS-SMITH, S. G.; SLINN, R. F.; DODS, L.; HARLEY, J. D.: Congenital Rubella. Long-Term Follow-up Study. *Amer. J. Dis. Child.* 118: 32-34, 1969.
- 26 MILLIAN, J. S. and WEMAN, D.: Rubella Serology Applications, Limitations and Interpretations. *Amer. J. Pub. Health.* 62: 170-176, 1972.
- 27 OJALA, P.; VESIKARI, T. and ELO, O.: Rubella During Pregnancy as a Cause of Congenital Hearing Loss. *Am. J. Epidemiol.* 98:395-401, 1973.
- 28 ORNOY, A.; SEGAL, A.; NISHMI, M.; SIMCHA, A.; POLISHUK, W. Z.: Fetal and Placental Pathology in Gestational Rubella. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116(7): 949-956, 1973.
- 29 PECK, J. E.: Hearing Deficit Following Maternal Rubella. *J. Pediat.* 81(2): 414-415, 1972.
- 30 PECKHAM, C.: Clinical and Laboratory Study of Children Exposed in Utero to Maternal Rubella. *Arch. Dis. Childh.* 47: 571-577, 1972.
- 31 PECKHAM, C.: Congenital Rubella Deafness: A Preventable Disease. *The Lancet.* 1(8110): 258-261, 1979.

32 PLOTKIN, S. A.; COCHRAN, W.; LINDQUIST, J. M.; CONCHRAN, G. G.; SCHAFFER, D. B.; SCHEIE, H. G. and FURUKAWA, T.: Congenital Rubella Syndrome in Late Infancy. *J.A.M.A.* 200 (6): 435-441, 1967.

33 RAUSEN, A. R.; RICHTER, R.; TALLAL, L. and COOPER, L. Z.: Hematologic Effects of Intrauterine Rubella. *J.A.M.A.* 199 (2): 75-78, 1967.

34 ROSSI, M.; FERLITO, A. AND POLIDORO, F.: Maternal Rubella and Hearing Impairment in Children. *Laryngology and Otology*. 94: 281-289, 1980.

35 SCHMIDT, N. J.; DENNIS, J. and LENNETTE, E.: Comparison of Immuno-Fluorescence and Immunoperoxidase Staining for Identification of Rubella Virus Isolates. *J. Clin. Microbiol.* 7(6): 576-583, 1978.

36 SEVER, J. L.: Laboratory Advances in Rubella Diagnosis. For this Generation, and The Next. *Abbott Laboratories, Division*, 1982.

37 SEVER, J. L.; NELSON, K. B.; GILKESON, M. R.: Rubella Epidemic, 1964: Effect on 6,000 Pregnancies. *Amer. J. Dis. Child.* 110: 395-407, 1965.

38 SIEGEL, M.; FUERST, H. T.; GUINEE, V.: Rubella Epidemicity and Embriopathy. *Amer. J. Dis. Child.* 121: 469-473, 1971.

39 STEWART, G. I.; PARKMAN, P. D.; HOPPS, H. E.; DOUGLAS, R. D.; HAMILTON, J. P. and MEYER, H. M.: Rubella - Virus Hemagglutination - Inhibition Test. *New Eng. J. Med.* 276: 554-557, 1967.

40 STREISSGUTH, A. P.; VANDERVEER, B. B.; SHEPARD, T. H.: Mental Development of Children with Congenital Rubella Syndrome. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 108 (3): 391-399, 1970.

41 VALLES, A.: Investigación de Anticuerpos Inhibidores de la Hemaglutinación para rubéola en mujeres en edad fértil. Maracaibo, Venezuela 1975.

42 WEINBERGER, M. M.; MASLAND, W. M.; ASBED, R. A.; SEVER, J. L.; BETHESDA and ROCKVILLE.: Congenital Rubella Presenting as Retarded Lenguaje Development. *Amer. J. Dis. Child.* 120: 125-128, 1970.