

HOSPITAL GENERAL "DR. JUAN BRUNO ZAYAS ALFONSO", SANTIAGO DE CUBA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ" (IPK)

Secuencia de infección viral asociada al embarazo durante brote de dengue en Santiago de Cuba, 2006

Reinaldo López Barroso,¹ Meidys María Macías Navarro,² María G. Guzmán Tirado,³ Mayling Álvarez Vera⁴

RESUMEN

Introducción: en la provincia Santiago de Cuba se han producido diferentes epidemias de dengue en los últimos años, donde han estado incluidas mujeres en estado de gravidez. **Objetivo:** conocer la inmunidad y describir el papel de la infección con dengue, así como su secuencia. **Métodos:** se realizó un estudio observacional y descriptivo para caracterizar la inmunidad a dengue en las madres e hijos después de 10 y 12 meses de nacidos y conocer la influencia de determinadas secuencias de infección virales en las mujeres embarazadas que sufrieron la enfermedad, durante la epidemia de dengue 3, en Santiago de Cuba. Para ello se estudiaron las muestras de suero de 25 mujeres confirmadas de dengue 3 y de los niños nacidos de estas, al cabo de los 10 y 12 meses de nacidos. Se determinaron los títulos de IgG y las secuencias virales de infección; se analizaron según la clasificación del dengue de acuerdo con el criterio de la Organización Mundial de la Salud. **Resultados:** los niños no presentaron anticuerpos y las secuencias virales de infección asociadas a las madres en orden de frecuencia resultaron con igual porcentaje el DEN2/DEN3, DEN1/DEN2/DEN3 (21,74 %) y en menor porcentaje por último el DEN1/DEN3 (17,39 %). **Conclusiones:** los niños no desarrollaron inmunidad humoral (IgG), a pesar de que algunos presentaron manifestaciones propias de la enfermedad. Las infecciones secundarias favorecieron las formas graves de la entidad.

Palabras clave: embarazo, dengue, secuencia de infección, Den 3, Santiago de Cuba.

INTRODUCCIÓN

El dengue, aunque es una enfermedad considerada tropical, fue descrita como entidad clínica en Filadelfia y ha afectado durante muchos años a países tropicales y subtropicales donde las condiciones son más desfavorables y con índices mayores de pobreza. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se reportan anualmente millones de casos, con decenas de miles clasificados como dengue hemorrágico y centenares o miles de fallecidos. En el mundo a cada minuto aparece un

nuevo enfermo de dengue y cada 15 min uno hemorrágico. La enfermedad amenaza hoy a más de 2 500 millones de personas y más de 100 países.¹⁻³ Esta enfermedad está presente en diversos países de América² y hoy día se ha extendido a casi toda la región.³

En Cuba se han producido epidemias en los últimos años con un período entre una y otra que ha fluctuado de 4 a 15 años, situación que ha propiciado que se establezcan métodos de trabajo en el sistema de salud pública capaces de dar solución a estas en cooperación con la población en general.

¹ Especialista de II Grado en Obstetricia y Ginecología. Máster en Atención Integral a la Mujer. Profesor Auxiliar. Investigador Agregado. Hospital General "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso". Santiago de Cuba, Cuba.

² Especialista de II Grado en Bioestadística. Profesora Auxiliar. Hospital General "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso". Santiago de Cuba, Cuba.

³ Especialista de II Grado en Microbiología. Doctora en Ciencias. Profesora Titular. Investigadora Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). La Habana, Cuba.

⁴ Licenciada en Microbiología. Doctora en Ciencias de la Salud. Investigadora Titular. Instructora. IPK. La Habana, Cuba.

La epidemia del Den-1 en Cuba durante 1977, con más de medio millón de casos notificados, se expresó como dengue clásico y no provocó fallecimientos. Posteriormente un estudio sero-epidemiológico nacional reveló que 46 % de los cubanos (más de 4 millones y medios) había sido infectado por este serotipo. Luego, en 1981 se presentó la primera epidemia de dengue hemorrágico⁴ que fue por Den-2 y hubo un total de 158 fallecidos. La cepa de virus dengue 2 aislada se correspondió genéticamente con una cepa del sudeste de Asia que no había circulado en la región.⁵

A finales de 1996 ocurrió la reintroducción del Den-2 (genotipo Jamaica) en la ciudad de Santiago de Cuba y en el verano de 1997 ocurrió un brote epidémico.⁶ Se confirmaron 3 012 casos, de los cuales 205 reunieron los criterios de FHD/SCD y 12 defunciones.⁷

Hasta este momento, a pesar de afectar de manera especial a la población femenina en su período gestacional, no se contaba con suficientes estudios que abordaran su repercusión sobre la salud materna y perinatal. Se comienza el estudio de diferentes hipótesis y las primeras estadísticas muestran un comportamiento similar a la población general.⁸

En La Habana, durante 2001-2002 se produjo otro brote epidémico causado por el serotipo 3. De esta población afectada se investigó el cuadro clínico en el embarazo y se evidenció un comportamiento a formas más leves que la población femenina en edad fértil.⁹ Con este mismo serotipo se produjo un nuevo brote en la ciudad de Santiago de Cuba, situación que motivó la realización de la presente investigación, con el fin de conocer la inmunidad de la madre y el recién nacido, así como determinar las secuencias de infección viral asociadas a la enfermedad en estas gestantes.

MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional y descriptivo con el fin de caracterizar la inmunidad a dengue en las madres e hijos después de 10 a 12 meses de nacidos, así como conocer la influencia de determinadas secuencias de infección virales en las embarazadas que sufrieron la enfermedad durante

la epidemia de dengue 3, en Santiago de Cuba, de abril a noviembre de 2006.

Se estudiaron las muestras de suero de 25 madres que sufrieron infección confirmada por dengue 3, durante la gestación y la de sus hijos, al cabo de 10 a 12 meses de nacidos. Las muestras tomadas se enviaron al Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK) cumpliendo todos los requisitos de conservación y transporte para su análisis posterior. Se determinaron los títulos de IgG, las secuencias virales de infección y se analizaron según la clasificación del dengue de acuerdo con el criterio de la OMS.

Se descartaron otras infecciones durante el embarazo como toxoplasmosis, hepatitis, infecciones vaginales en especial candidiasis; que pueden producir hepatomegalia en el producto de la concepción (feto y recién nacido).

ESTUDIOS SEROLÓGICOS

Determinación de anticuerpos IgM e IgG a dengue: la determinación de anticuerpos IgM e IgG se realizó según el *Libro de Técnicas de Laboratorio de Arbovirus* y siguiendo el protocolo de Vázquez y otros.^{10,11}

Determinación de anticuerpos neutralizantes a dengue de los cuatro serotipos del virus: se prepararon diluciones de los sueros en base 10 (1/10, 1/100 y 1/1 000). Estas diluciones se mezclaron con igual volumen de la dilución de trabajo del virus que consistió en 40 UFP/0,5 mL. Las mezclas de virus más suero o virus más medio se incubaron durante 1 h a 37 °C al 5 % de CO₂. Posteriormente se inocularon 50 µL de esta mezcla y se incubó al 5 % de CO₂ y 37 °C. Al cabo de este tiempo se le añadieron 0,5 mL del medio de recubrimiento u *overlay* y se incubaron por 5 a 9 d y se tiñeron con azul negro de naftol, según los protocolos de Morens y otros,¹² y de Álvarez y otros.¹³

RESULTADOS

De las 30 gestantes que llegaron al final del embarazo y sufrieron el dengue serotipo 3 se

Tabla 1. Títulos de IgG de las madres según la clasificación del dengue

Clasificación del dengue	Títulos de IgG de las madres									
	20		80		160		320		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Fiebre dengue	1	4,76	7	33,33	4	19,05	9	42,86	21	100,00
Fiebre dengue con hemorragia	0	0,00	0	0,00	1	50,00	1	50,00	2	100,00
Fiebre dengue hemorrágico	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	1	100,00
Fiebre dengue hemorrágico con <i>shock</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	1	100,00
Total	1	4,00	7	28,00	5	20,00	12	48,00	25	100,00

Fuente: Planilla de datos.

estudiaron 25 para 83,3 %, todas con IgM e IgG positiva durante la infección. Al cabo de los 10 a 12 meses de producido el parto se determinan los títulos de IgG de la madre y el niño, los cuales muestran los siguientes resultados que se ilustran en la tabla 1. Predominaron los títulos mayores de 1:320 para todas las madres con formas clínicas severas; solo para las que sufrieron la fiebre dengue se encontraron títulos más bajos, aunque casi la mitad de los títulos resultaron altos.

El dengue tuvo aparente repercusión sobre el producto de la concepción, en dependencia del

momento del embarazo en que se produjo la infección. Un neonato con hepatomegalia y ascitis, producto de un parto a los 7 d del inicio de la infección en la madre, quien había presentado “fiebre hemorrágica del dengue con choque”. Otros 3 neonatos mostraron crecimiento intrauterino restringido en madres con fiebre del dengue (tabla 2).

De las 25 madres estudiadas (tabla 3), se determinó la posible secuencia de infección a 23 para 92 %. Existió un predominio de la infección secundaria (60,87 %) en relación con la infección primaria (3,13 %). Las secuencias encontradas en orden de frecuencia fueron con igual porcentaje el DEN2/DEN3 y DEN1/DEN2/DEN3 con 21,74 % y por último el DEN1/DEN3 con 17,39 %.

DISCUSIÓN

En el caso de los niños, contrario al resultado materno y a lo esperado según los reportes in-

Tabla 2. Complicación de los niños al nacer según la clasificación del dengue de la madre

Clasificación del dengue	RCIU		Hepatomegalia		Ascitis	
	No.	%	No.	%	No.	%
Fiebre dengue	3	12	0	0	0	0
Fiebre dengue hemorrágico con <i>shock</i>	0	0	1	4	1	4
Total	3	12	1	4	1	4

RCIU: crecimiento intrauterino restringido.

Tabla 3. Secuencia de dengue de las madres según su clasificación

Clasificación del dengue	Secuencias de infección en los casos secundarios de dengue									
	DEN 3 primario		DEN 1/DEN 3		DEN 2/DEN 3		DEN 1/DEN 2/DEN 3		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Fiebre dengue	9	47,37	3	15,79	5	26,32	2	10,52	19	100
Fiebre dengue con hemorragia	0	0	1	50	0	0	1	50	2	100
Fiebre dengue hemorrágico	0	0	0	0	0	0	1	100	1	100
Fiebre dengue hemorrágico con <i>shock</i>	0	0	0	0	0	0	1	100	1	100
Total	9	31,13	4	17,39	5	21,74	5	21,74	23	100

ternacionales¹⁴ ninguno levantó títulos de IgG posterior a los 10 meses de edad.

En estudios realizados en Cuba por *Cantelar de Francisco* y *Molina*¹⁵ reportan la presencia de títulos IgG en 34 % de los recién nacidos de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IHA) y anticuerpos fijadores del complemento (FC), lo que evidencia la presencia de la infección por el virus del dengue, considerándolos dependientes de la IgG por transferencia placentaria. Mientras, en otra publicación, *Molina*¹⁶ notifica que los recién nacidos de embarazos en los cuales la madre padeció dengue muestran niveles de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación y fijadores del complemento por virus del dengue; sin que existan indicios para pensar que han sido formados activamente por el feto, porque las cifras de IgM no se elevan por encima del nivel normal, ni muestran diferencias significativas con el grupo control de recién nacidos de embarazos sin dengue. *Fernández* y otros¹⁷ (epidemia de 1981) al estudiar 11 niños recién nacidos encontraron en 4 anticuerpos IgM a los virus del dengue, utilizando para ello la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI); aunque cuando se intentó el aislamiento del virus los resultados fueron negativos por IFI.

Hay autores que refieren la determinación en el recién nacido de IgM como expresión de transmisión vertical de la infección,¹⁴ reportándose hasta 1,6 % de los recién nacidos de madres que sufrieron dengue en el embarazo. Cuando esto ocurre, está demostrado el paso transplacentario de la IgM^{18,19} y, además, el virus por su pequeño tamaño es capaz de atravesar la placenta^{11,12} y desarrollar en el feto y en el recién nacido los elementos del cuadro clínico de la enfermedad. No obstante en otros estudios reportan no haber detectado anticuerpos en los recién nacidos.^{20,21}

Los resultados perinatales en este estudio están en relación con los de *López* y otros.²² Los cuales encontraron que la infección por dengue serotipo 3 tiene una relación causal con la restricción del crecimiento fetal. El neonato que presentó hepatomegalia y ascitis se comportó como un organismo de la unidad materna fetal, porque sus manifestaciones se iniciaron desde su vida intrauterina de conjunto con la madre, la cual presentó un cuadro de dengue hemorrágico con choque.

Las formas graves que se presentaron se corresponden con los casos que tuvieron una infección terciaria y sus secuencias DEN1/DEN2/DEN3; esto está en correspondencia con lo reportado por *Álvarez* y otros²³ en 2006, quienes encontraron asociación de este tipo de infección con el cuadro clínico severo de la enfermedad. En un estudio seroepidemiológico prospectivo realizado en niños en Yogyakarta, Indonesia, las secuencias virales de dengue observadas fueron DEN-2/DEN-1 y DEN-1/DEN-2; esta última mencionada como altamente patogénica en estudios previos.²⁴

La infección secundaria también se observó en un alto porcentaje en una encuesta seroepidemiológica realizada en niños en edad escolar en Río de Janeiro, Brasil,²⁵ muy diferente esto a lo obtenido en este estudio, donde en los niños solo se observó la asociación con la infección primaria y en estudios previos realizados en la epidemia cubana de DEN-2 de 1997.²⁶

En un estudio prospectivo, de una población infantil, realizado en Rayong, Tailandia, las secuencias virales de infección observadas en la infección secundaria, en relación con el síndrome de choque por dengue, en orden decreciente de magnitud fueron DEN-1/DEN-2, DEN-3/DEN-2 y DEN-4/DEN-2.²⁷

En el estudio realizado en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"²⁸ sobre secuencias de infección viral asociadas a la fiebre del dengue durante la epidemia de dengue 3 en La Habana, 2001-2002, los resultados confirman que la secuencia de infección DEN-2/DEN-3 estuvo asociada a los casos de fiebre del dengue y no a los de fiebre hemorrágica del dengue, y que un porcentaje elevado de los casos estudiados se correspondió con una infección secundaria.

En Nicaragua, en 2005, es interesante señalar que la infección secundaria no fue significativamente correlacionada con la FHD/SCD, en contraste con estudios previos realizados en el Sudeste asiático.^{29,30} En la literatura revisada disponible no se encontró estudio en gestantes referidas a la secuencia de infección viral.

La principal observación que arroja esta investigación es que los niños no desarrollaron inmunidad humoral ante la infección por dengue durante el embarazo, aun en los que la sufrieron

en la etapa final del embarazo y presentaron manifestaciones propias de la enfermedad. Por otro lado, las infecciones secundarias favorecieron las formas graves de esta.

Sequence of viral infection associated to pregnancy in a dengue outbreak in Santiago de Cuba in 2006

ABSTRACT

Introduction: several dengue outbreaks have taken place in Santiago de Cuba province in the last few years, in which pregnant women have been involved. **Objectives:** to determine the immunity and to describe the role of dengue infection and its sequence. **Methods:** an observational and descriptive study was conducted to characterize dengue immunity in mothers and children after 10 and 12 months of birth and to determine the influence of certain viral infection sequences in pregnant women who suffered this disease during the dengue 3 epidemics in Santiago de Cuba. To this end, serum samples from 25 females tested dengue 3-positive and from children born to them after 10 and 12 months of childbirth were studied. IgG titers and viral infection sequences were determined and analyzed according to the World Health Organization dengue classification criteria. **Results:** the children did not present with the antibodies and the viral infection sequences associated to mothers; in order of frequency, the same percentage was observed in DEN2/DEN3, DEN1/DEN2/DEN3 (21,74 %); but lower percentage in DEN1/DEN3 (17,39 %). **Conclusions:** the children did not develop humoral immunity (IgG) despite some manifestations inherent to the disease. The secondary infections prompted the most serious forms of the disease.

Key words: pregnancy, dengue, infection sequence, Den 3, Santiago de Cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WHO. Dengue/dengue hemorrhagic fever. Fact sheet No. 117; 2002 [Cited 2008 Jun 8]. Available in: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>
- Gubler DJ. Dengue/ dengue haemorrhagic fever: history and current status. Novartis Found Symp. 2006;277:3-16; discussion 16-22, 71-3, 251-3.
- Rico-Hesse R. Dengue virus evolution and virulence models. Clin. Infect. Dis. 2007;44(11):1462-6.
- Guzmán MG, García G, Kourí G. Dengue y fiebre hemorrágica del dengue: un problema de salud mundial. Rev Cubana Med Trop [serie en Internet]. 2008 Abr [citado 7 Abr 2010]; 60(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000100001&lng=es
- Guzmán MG, Deubel V, Pelegrino J, Rosario D, Sariol C, Kourí G. 1995. Partial nucleotide and amino-acid sequences of the envelope and the envelope/nonstructural protein-1 gene junction of four Dengue 2 virus strains isolated during the 1981 Cuban Epidemic. Am J Trop Med Hyg. 52:241-6.
- Valdés L, Guzmán MG, Kourí G, Delgado J, Carbonell I, Cabrera MV, et al. Epidemiología del dengue y dengue hemorrágico en Santiago de Cuba 1997. Rev Panam Salud Pública. 1999;6(1):16-25.
- Guzmán MG, Kourí G, Valdés L, Bravo J, Álvarez M, Vázquez S, et al. Epidemiological studies on dengue in Santiago de Cuba, 1997. Am J Epidemiol. 2000;152(9):793-9.
- López Barroso R, Deulofeu Betancourt I, Domínguez Eljaiek CF. Repercusión del dengue sobre el embarazo. MEDISAN. 2002;6(4):18-24.
- López Barroso R, González Rubio D, Guzmán Tirado MG, Martínez Torres E. Fiebre dengue en mujeres gestantes y no gestantes por serotipo 3. Habana. 2001-2002. La Habana, Cuba: VIII Congreso Centroamericano y del Caribe de Parasitología y Medicina Tropical 2007. Diciembre, 4-7; 2007.
- Vazquez S, Saenz E, Huelva G, Gonzalaz A, Kourí G, Guzmán MG. Detection of IgM against the dengue virus in whale blood absorbed on filter paper. Rev Panam Salud Pública. 1998;3(3):178-8.
- Vazquez S, Bravo JR, Perez AB, Guzman MG. Inhibition ELISA. Its utility for classifying a case of dengue. Rev Cubana Med Trop. 1997;49(2):108-12.
- Morens DM, Halstead SB, Repik PM, Patuatana R, Raybourne N. Simplified plaque reduction neutralization assay for dengue viruses by semimicro methods in BAK-21 cells: comparison of the BHK suspension test with standard plaque reduction neutralization. J Clin Microbiol. 1985;22(2):250-4.
- Álvarez M, Rodríguez-Roche R, Bernardo L, Morier L, Guzmán MG. Improved dengue virus plaque formation in BHK-21 and LLCMK₂ cells: evaluation of some factors. Dengue Bulletin. 29:1-9.
- Tan PCh, Rajasingam G, Devi Sh, Zawiah Omar S. Dengue infection in pregnancy prevalence, vertical transmission, and pregnancy outcome. Obstetrics Gynaecology. 2008;111(5):1111-7.
- Cantelar de Francisco NL, Molina A. Dengue: Estudio clínico serológico en madres y recién nacidos (Trabajo preliminar) Rev Cubana Med Trop. 1981;33:2.
- Molina A. Dengue. Respuesta serológica e inmunológica en recién nacidos. Rev Cubana Hig Epid. 1981;19:4.
- Fernández R, Rodríguez T, Borbonet F, Vázquez S, Guzmán MG, Kourí G. Estudio de la relación dengue-embarazo en un grupo de madres cubanas. Rev Cubana Med Trop. 1994;46(2):76-8.
- Pérez Sánchez. Placenta y anexos embrionarios. Tratado de Obstetricia, cap. 6. Chile; 2005. p. 123-36.
- Cunningham G, Leveno KL, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap LC III, Wenstrom KD. Fetal growth and development. In: Williams Obstetrics, Section II. Anatomy and Physiology. Chapter 4. EUA: McGraw-Hill Medical; 2006. Disponible en: <http://www.accessmedicine.com/popup.aspx?aid=733556&print=yes>
- Phongsamart WY, Vanaprapa S, Chokephaibulkit NK. Dengue virus infection in late pregnancy and transmission to the infants. Pediatr Infect Dis J. 2008;27:500-4.
- Leon R, Muñoz MR, Soler E, Parissi A, Méndez GF. Dengue fever during pregnancy. Cases report. Ginecol Obstet Mex. 2007;75(11):687-90.
- López Barroso R, Deulofeu Betancourt I, Fayad Saeta Y, Macías Navarro MM, Delgado Guerra G. Repercusión del dengue serotipo 3 sobre el embarazo y producto de la concepción. Rev Cubana Obstet Ginecol. 2010;36(2).
- Álvarez M, Rodríguez-Roche R, Bernardo L, Vázquez S, Morier L, González D, et al. Dengue hemorrhagic fever caused by sequential dengue 1-3 virus infections over a long time interval: Havana epidemic, 2001-2002. Am J Trop Med Hyg. 2006;75:1113-7.
- Graham RR, Juffrie M, Tan R, Hayes CG, Laksono I, Ma'roef C, et al. A prospective seroepidemiologic study on dengue in

- children four to nine years of age in Yogyakarta, Indonesia I. studies in 1995-1996. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;61(3):412-9.
25. Da Cunha RV, Dias M, Nogueira RM, Chagas N, Miagostovich MP, Schatzmayr HG. Secondary dengue infection in schoolchildren in a dengue endemic area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1995;37(6):517-21.
 26. Guzmán MG, Kourí G. Dengue: an update. *Lancet Infect Dis.* 2002;2(1):33-42.
 27. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S, Viriyapongse S, Jatanasen S, Salitul V, et al. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. I. The 1980 outbreak. *Am J Epidemiol.* 1984; 120(5):653-69.
 28. Alvarez M, Pavón-Oro A, Vázquez S, Morier L, Álvarez AM, Guzmán MG. Secuencias de infección viral asociadas a la fiebre del dengue durante la epidemia de dengue 3 en la ciudad de La Habana, 2001-2002 *Rev Cubana Med Trop.* 2008;60(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000100003&lng=es&nrm=iso
 29. Balmaseda A, Hammond SN, Tellez Y, Imhoff L, Rodríguez Y, Saborio SI, et al. High seroprevalence of antibodies against dengue virus in a prospective study of schoolchildren in Managua, Nicaragua. *Trop Med Int Health.* 2006;11(6):935-42.
 30. Balmaseda A, Hammond SN, Pérez L, Tellez Y, Saborio SI, Mercado JC, et al. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74(3):449-56.

Recibido: 15 de septiembre de 2009. Aprobado: 2 de noviembre de 2010.

Reinaldo López Barroso. Hospital General "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso". Carretera del Caney esquina 21, Reparto Pastorita, Santiago de Cuba, Cuba. Correo electrónico: barroso@medired.scu.sld.cu