

## TRANSMISIÓN PERINATAL DEL VIRUS DENGUE EN EL BINOMIO MADRE-HIJO.

Lucía Cristina Romero Angarita (1), Silvana Vielma Angarita (2),  
Magdalena Correa (3), María Inés Odreman (4)

Recibido: 7/7/2013  
Aceptado: 15/9/2013

### Resumen

**Introducción:** El dengue es la enfermedad viral más importante transmitida por mosquitos. La Organización Mundial de la Salud en 1994 estimó que están expuestos a su contagio alrededor de 2.000 millones de personas en el mundo. El objetivo de este estudio fue caracterizar la infección por virus dengue (DV) en gestantes con o sin síndrome febril agudo y sus repercusiones en el Recién Nacido (RN). **Métodos:** Se recolectaron muestras de sangre del binomio Madre-RN para análisis hematológicos y de diagnóstico específico-DV mediante qPCR-NS5-DV, antígeno NS1 y de anticuerpos IgM/IgG antiDV. **Resultados:** Se incluyeron 30 gestantes (14-36 años de edad) que acudieron a la Emergencia Obstétrica del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes entre Junio 2010 y Julio 2011. El 26,6% de las gestantes fueron casos sospechosos de dengue y el 73,3% eran no sospechosos. El 23,3% resultaron reactivas a IgM-antiDV. Una de las 7 infectadas cursó con síntomas inespecíficos, 4 con fiebre, escalofríos, mialgias, artralgias, congestión nasal, ictericia y dolor retro-ocular; y 2 con signos de shock caracterizado por hemorragia genital severa y choque hipovolémico. La transmisión vertical ocurrió en 2 RN de madres con shock dengue, con sufrimiento fetal, en quienes la trombocitopenia y la ictericia leve fueron los hallazgos resalantes. En 9 gestantes y sus RN se detectaron anticuerpos IgG indicativos de infección secundaria. **Conclusiones:** En áreas endemo-epidémicas la infección por VD ocurre vía transplacentaria durante el período peri-parto. Los efectos de la infección en la gestante y sus RN fueron caracterizados en este estudio.

**Palabras Clave:** Dengue, Embarazo, Recién Nacido, Transmisión vertical.

### PERINATAL TRANSMISION OF DENGUE VIRUS FROM MOTHER TO INFANT DURING PREGNANCY

#### Summary

**Introduction.** Dengue is the most important mosquito-borne viral disease. The World Health Organization in 1994 estimated that 2.000 million people worldwide are exposed to contagion. This study aimed to characterize dengue virus (DV) infection in pregnant women with or without acute febrile syndrome and the impact on their newborns (NB). **Methods:** Blood samples were collected from the binomial mother -NB for hematological analysis and specific diagnosis by qPCR -DV -DV - NS5, NS1 antigen and IgM / IgG antiDV. **Results:** 30 pregnant women (14-36 years old) attending the Obstetric Emergency of Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes between June 2010 and July 2011 were included. Twenty six percent of mothers were suspected dengue cases and 73.3 % were not. Twenty three percent of pregnant women were reactive to IgM - antiDV, 6 of 8 suspected dengue patients and 1 of 22 non suspected. One of 7 infected mothers presented with nonspecific symptoms, 4 with fever, chills, myalgia, arthralgia, nasal congestion, jaundice and retro-ocular pain, and 2 with signs of shock characterized by severe genital bleeding and hypovolemic shock. Vertical transmission occurred in 2/7 NB of mothers with dengue shock. These NB presented with fetal distress, with thrombocytopenia and mild jaundice as the predominant findings. IgG antibodies were detected in 9/30 pregnant mothers and their NB, suggesting secondary infection. **Conclusions:** In endemic and epidemic areas DV infection occurs transplacentally during the peri-partum period. The effects of infection in pregnant women and newborns were characterized in this study.

**Keywords:** Dengue, Pregnancy, Newborn, Vertical Transmission

- 1) Pediatra-Puericultor. Profesora Asistente (Interino) adscrita al Departamento de Fisiología Humana, Universidad de Los Andes – Mérida, Venezuela
- 2) Inmunólogo y Microbiólogo. Jefe de Laboratorio de Salud Pública del Estado Mérida. Profesor Titular adscrita al Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica de la Universidad de los Andes- Mérida, Venezuela
- 3) Pediatra-Infectólogo. Adjunto del Servicio de Hospitalización T8 IAHULA. Profesora Agregado adscrita al Departamento de Puericultura y Pediatría de la Universidad de Los Andes- Mérida, Venezuela
- 4) Licenciada de Bioanálisis. Profesor Instructor adscrita al Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica de la Universidad de Los Andes- Mérida, Venezuela

#### Tercer premio LIX Congreso Nacional de Pediatría 2013

Autor correspondiente:  
Lucía Cristina Romero Angarita.  
Telf 02742403110/ 02742403111  
correo electrónico lucristi76@hotmail.com / lucristiped@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

La infección por el virus del dengue es producida por cualquiera de los cuatro serotipos (DV1-2-3-4) conocidos, todos pertenecientes a la familia Flaviviridae (1). Es responsable de más de 50 millones de casos por año en toda la franja tropical del planeta (2).

En Venezuela, la infección tiene un comportamiento endemo-epidémico desde 1982 y ocupa el tercer lugar en la estadística de América Latina (3). Más de 48.000 casos sospechosos fueron reportados para el 2008 (4) y durante los primeros seis meses del 2010 (5). El Estado Mérida reportó el mismo comportamiento endemo-epidémico que se observó en el resto del país, con cifras de 4.120 y 2.954 casos para los años 2007 y 2008 respectivamente (6), así como, más de 5.000 casos en las primeras 23 semanas epidemiológicas del año 2010 (5), con los cuatro serotipos circulando si-

multáneamente (5). Adicionalmente, en un estudio sobre seroprevalencia de anticuerpos del tipo IgM-anti-dengue en la población embarazada del Estado Mérida, durante el año 2009 en una muestra al azar de 500 sueros provenientes de gestantes aparentemente sanas, se encontró una frecuencia del 11,13% (54/485) de seropositividad (7). Estos resultados indicaron que el porcentaje de infección por el virus del dengue podría ser alto en los neonatos y que debería investigarse la probable transmisión perinatal del dengue virus (DV) desde la madre a su recién nacido, así como, las repercusiones correspondientes en el producto del embarazo (7), con el objetivo de disminuir la morbi-mortalidad materno-infantil por esta causa.

Un resumen de los estudios destinados a la evaluación de la transmisión vertical del virus del dengue entre el binomio madre-hijo, la evolución de la infección durante el embarazo y en el binomio resalta: 1) Las complicaciones durante el embarazo varían desde amenaza de aborto, abortos, amenaza de parto pretérmino y partos pretérmino, hasta hemorragias severas durante el parto, derrames pleurales, entre otros (8,9). La frecuencia de infección demostrada durante el embarazo utilizando la determinación de anticuerpos IgM o la demostración viral fue de 2,5% con una tasa de transferencia de 1,06 (10-15). En cuanto a los efectos de la transmisión viral peri-parto, los múltiples estudios han demostrado que mientras más cerca del parto ocurre la infección por el virus del dengue, la posibilidad de transmisión y la ocurrencia de infección sintomática en el RN es mayor, especialmente entre el día 1 y 11 después del nacimiento (16-20). 4) Durante el embarazo puede ocurrir la transmisión viral al producto o la transferencia de anticuerpo del tipo IgG anti-dengue vía transplacentaria (21, 22). Estos anticuerpos, van disminuyendo a partir de los 3-8 meses hasta llegar a niveles subneutralizantes (23,24). Si el infante se re-infecta con un serotipo diferente al que generó el anticuerpo IgG anti DV en primera instancia entre los 8-10 meses de edad tiene mayor riesgo de DHF y/o SSD (22, 25,26). Ello se debe a que los anticuerpos heterófilos a niveles subneutralizantes se fijan en los receptores de membrana de los macrófagos a través del receptor Fc de las inmunoglobulinas, facilitando así la entrada del virus y la liberación de citocinas por los linfocitos citotóxicos, lo que lleva a fenómenos hemorrágicos e incluso a shock por daño vascular, auto-anticuerpos y activación del complemento (13,23,24).

Desde el punto de vista clínico, se considera un caso probable de infección por el virus del dengue al paciente que vive en áreas endémicas de dengue o ha viajado a alguna de ellas, que presente fiebre y dos o más de las manifestaciones clínicas siguientes: náuseas y vómitos, erupción cutánea, mialgias y/o artralgias, prueba del torniquete positiva, leucopenia y algunos de los signos de alarma. Entre los signos de alarma se citan: dolor abdominal intenso o mantenido, vómitos persistentes, formación de terceros espacios (edema, derrame pleural, ascitis), sangrado de mucosas, letargia o inquietud, he-

patomegalia de más de 2 cm., aumento del hematocrito asociado a disminución rápida del conteo de los trombocitos. La Enfermedad Dengue deberá ser confirmada por diagnóstico serológico y/o virológico para que sea aceptada como tal.

La OMS en 2009 clasificó la enfermedad en tres grandes grupos. El primero de ellos, como Dengue sin Signos de Alarma (DSSA) o grupo A que cumple con la definición de caso probable, se confirma por el laboratorio y no se acompaña de signos de alarma o alguna condición co-existente. Este grupo puede manejarse en el hogar, siempre y cuando los enfermos tengan tolerancia oral y hayan orinado en las últimas seis horas. El grupo B corresponde a los casos de Dengue con Signos de Alarma (DCSA), los cuales cumplen con la definición de caso probable del grupo A, sin embargo cursan con signos de alarma o condición co-existente o riesgo social. Este grupo requiere cuidados hospitalarios. El grupo C o Dengue Severo (DS), adicionalmente a los criterios anteriores presenta importante fuga de plasma y shock, distress respiratorio, sangrado severo y daño importante de órganos (hígado, encéfalo, miocardio, entre otros) (27). Además, la OMS estableció que el curso evolutivo de la enfermedad dengue tiene tres fases; en primer lugar la fase febril con temperatura corporal hasta 40°C (1er-3er día), caracterizada por viremia alta e inicio de la respuesta inmune celular. En segundo lugar, la fase crítica (3er-7mo día), no febril, caracterizada por el daño vascular, la fuga vascular, hemoconcentración, la posible ocurrencia de shock, falla multiorgánica, trombocitopenia y hemorragia. En esta fase se inicia la respuesta humoral caracterizada por la aparición de anticuerpos del tipo IgM (+) anti-dengue y posteriormente la secreción de IgG (+) anti-dengue, aproximadamente al décimo día. Finalmente, en tercer lugar, la fase de recuperación (6to-9vo día), no febril, donde ocurre la reabsorción de líquidos, el hematocrito y el conteo de trombocitos es normal, aumentan los títulos de anticuerpos tipo IgM e IgG anti-dengue (23). Los anticuerpos del tipo IgM son detectables entre los 4 a 5 días del inicio de la fiebre, alcanzan su valor máximo a las 2 semanas post-infección y disminuyen a niveles no detectables en los 2 a 3 meses siguientes. Los anticuerpos tipo IgG aparecen después del pico de los anticuerpos tipo IgM y se mantienen el resto de la vida contra el serotipo viral que los generó (27). El diagnóstico puede realizarse bien sea detectando el virus, los antígenos virales, sus secuencias genómicas o anticuerpos específicos (28-32). Durante la fase febril de la enfermedad se utilizan métodos virales para demostrar bien sea antígenos virales (NS1), el material genético (RNA) o el cultivo viral en líneas celulares, a partir de muestras sanguíneas (28-30). Desde la fase crítica, (5to día), se utilizan las pruebas serológicas IgM e IgG anti-DV que son útiles para el diagnóstico de fase aguda o convaleciente de la infección primaria o secundaria (28-32).

El objetivo de este estudio fue caracterizar la transmisión perinatal del virus dengue desde la embarazada infectada durante el tercer trimestre hasta su RN en la población atendida en la Emergencia Obstétrica del IAHULA desde Junio 2010

a Julio 2011. Los objetivos específicos fueron investigar en el binomio Madre-RN: 1) El número de gestantes/RN con dengue definidas por la reactividad positiva de la IgM (+) anti-DV. 2) La presencia de viremia activa determinada por la reactividad al antígeno NS1 y/o amplificación del segmento NS5 del material genético viral en la madre y el RN. 3) La presencia de IgG (+) anti-DV en la madre y su transferencia al RN. 4) Las manifestaciones clínicas de la Enfermedad Dengue, su evolución y complicaciones, en cada uno de los grupos (Madre/RN).

## MÉTODOS

**Población Estudiada:** Se realizó una investigación clínico-epidemiológica observacional analítica, transversal (33) en el binomio madre-recién nacido, que fue atendido en el área de Emergencia Obstétrica/Perinatología del IAHULA, en el período de tiempo entre Junio 2010 a Julio 2011. En el estudio se incluyeron treinta gestantes y sus neonatos, de las cuales el 26,6% (8/30) tenían síndrome febril e ingresaron Con Sospecha Clínica de Dengue (CSCD) y quienes constituyeron el grupo de estudio o casos; el 73,3% (22/30) fueron gestantes afebriles Sin Sospecha Clínica de Dengue (SSCD), quienes constituyeron el grupo de comparación o no casos. Los criterios de inclusión para el grupo de estudio o casos fueron los siguientes: Gestantes con o sin trabajo de parto en evolución, embarazo al final del tercer trimestre y diagnóstico presuntivo de Dengue. Los criterios de inclusión para el grupo de comparación o no casos fueron los siguientes: Gestantes con o sin trabajo de parto en evolución, embarazo al final del tercer trimestre, sin síndrome febril ni otra patología existente. Ambos grupos de madres, (casos y no casos), previo consentimiento por escrito, expresaron su deseo de participar en el estudio e incluir a su RN.

**Variablas estudiadas en las embarazadas:** Demográficas, (edad en años, grupo étnico y procedencia); manifestaciones clínicas: fiebre, cefalea, dolor retro-orbital, artralgias, mialgias, erupción, escalofrío, tos, congestión nasal, dolor de garganta, epistaxis, metrorragias, gingivorragias, petequias, náuseas, vómitos, prueba de torniquete positiva, trombocitopenia. Los tipos de Dengue se clasificaron según la OMS 2010. Los estudios de laboratorio realizados fueron los siguientes: hematocrito, leucocitos, relación Hto/Hb, IgM ADV, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (proteína viral-Non-Structural-1). Se registraron como condiciones o complicaciones del parto el sangrado materno, parto pretérmino, pre-eclampsia, ruptura prematura de membranas, parto natural, parto por cesárea, hemorragia del parto, shock.

**Variablas estudiadas en el RN:** Peso, talla, Apgar, edad gestacional, temperatura, reflejo de succión, sangrado y signos de infección, hemoglobina, hematocrito, relación Hto/Hb, leucocitos, plaquetas, tiempo de coagulación. IgM ADV, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (proteína viral-Non-Structural-1).

Previo consentimiento informado se seleccionaron las embarazadas parturientas que reunieron las características clínicas de caso probable o no. Se aplicó el interrogatorio y el examen físico para llenar el formulario de recolección de los datos, los cuales fueron recogidos simultáneamente durante la atención de la embarazada y del RN. Se extrajo una muestra de sangre venosa de la madre (10 mL) y del cordón umbilical del RN (3 mL). El suero fue separado por centrifugación (3000 rpm por 5min) y almacenado a -20°C hasta su traslado al Laboratorio de Salud Pública del Estado Mérida, ubicado en la Unidad de Larga Estancia del IAHULA. En ambas muestras se determinó el dengue virus circulante a través de la detección de la proteína NS1-DV, la amplificación de genoma viral por qPCR-NS5 en tiempo real y los anticuerpos del tipo IgM e IgG antiDV. Cada una de las muestras fue analizada con la finalidad de detectar aquellas madres o RN que se encontraban en la fase aguda o secundaria de la enfermedad.

1. Determinación del virus del dengue a través de pruebas virales: 1. Antígeno de NS1: Mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA) comercial (PLATELIA™ Dengue NS1 AG, BIO-RAD) en formato tipo microplaca-sandwich, se realizó la determinación cuantitativa de la proteína NS1 del VD. Esta proteína es un indicador temprano de la multiplicación viral. Este ensayo se ejecutó en los sueros de todas las madres y de sus RN, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (30).
2. Amplificación de los ácidos nucleicos virales: Un ensayo de amplificación de la región NS5 del virus del dengue desarrollado en el Laboratorio de Salud Pública, fue utilizado para la transcripción reversa y amplificación por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR-RT) en formato SyBGreen. A todas las muestras de los recién nacidos se les extrajo el ARN viral y las reacciones de transcripción reversa y amplificación se realizaron en un solo paso empleando un estuche comercial de la compañía QIAGEN® (2X QuantiFast SYBRGreen RT-PCR Master Mix, Hamburg, Germany), con un volumen final de 25µL/pozo, en microplacas de 96 pozos, conteniendo 12.5 UL de SYBR Green Master Mix 2X, 0.6 UL de cada oligonucleótido a una concentración óptima de 20 pmol/uL, 0.25 UL de QuantiFast Reverse Transcriptase Mix, 6.05 UL de agua y 5 UL de ARN ajustado a un rango de concentración ≤ 100ng/reacción (34). Las curvas de amplificación fueron recolectadas por el software 9500 Just y analizadas con un CT 15 veces superior al promedio basal de los primeros 15 ciclos (Applied Biosystems).
3. Determinación de anticuerpos IgM e IgG anti-dengue: Los anticuerpos tipo IgM se determinaron mediante un ensayo de Ultramicro ELISA de captura (UMELISA Dengue IgM plusTecnosuma), siguiendo

las instrucciones del fabricante. Este método posee una sensibilidad de 97,3% y una especificidad de 97,5%. Los anticuerpos tipo IgG se midieron mediante un ensayo Ultramicro ELISA de captura. La serología se realizó en todas las muestras tanto en la mujer embarazada como en el RN (35). Los datos se presentaron en distribuciones de frecuencia bivariable. Se calcularon las proporciones para determinar si existían diferencias entre ellas y se estimó la significación estadística de las diferencias empleando el estadístico Test Exacto de Fisher, empleando el programa estadístico-epidemiológico EPI-INFO V.6.0/2010 (CDC ATLANTA). Se consideró como significación estadística una  $p \leq 0,005$ .

## RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 30 mujeres (14-36 años de edad) con embarazos que evolucionaban en el último trimestre, quienes se encontraban en trabajo de parto y se presentaron a la Emergencia Obstétrica del IAHULA, entre Junio 2010 y Julio 2011.

El 26,6% (8/30) se presentó con síndrome febril y Con Sospecha Clínica de Dengue (CSCD), mientras que el 73,3%(22/30) se presentó sin síndrome febril y Sin Sospecha Clínica de Dengue (SSCD). De las 8 gestantes que acudieron con síndrome febril y CSCD, 6 de ellas fueron confirmadas por serología positivas para IgM antiDV y 2 resultaron negativas. De las 22 gestantes que acudieron sin síndrome febril y SSCD, 1 de ellas resultó positiva para anticuerpos IgM-antiDV y 21 fueron negativas para anticuerpos IgM-anti DV y para las demás pruebas virológicas realizadas (qPCR y NS1). En total, 23,3% (7/30) de madres resultaron positivas para IgM antiDV.

La distribución de frecuencia de los grupos etarios de las gestantes según su resultado serológico (IgM ANTI-DV) mostró que de las 7 gestantes infectadas 4 se encontraban en el grupo etario de 16 a 20 años y 2 en el grupo de 26 a 30 años. Entre las 23 pacientes no infectadas, 8 de ellas también se encontraban en el grupo etario de 16 a 20 años.

En las gestantes infectadas las manifestaciones clínicas estadísticamente significativas fueron: Fiebre ( $p=0.003$ ), escalofríos ( $p=0.004$ ) y mialgias ( $p=0.004$ ) en 6 de los casos, así como también la erupción cutánea en 4 de las 7 pacientes ( $p=0.001$ ). Sin embargo, no fue significativo para artralgias, congestión nasal e ictericia, tampoco para dolor retro-ocular en (cuyos Test de Fisher resultaron con un valor de  $p$  mayor de 0,005). Una de las gestantes presentó síntomas hemorrágicos severos de mucosas, incluyendo hemorragia genital y epistaxis. Ninguna de ellas refirió diarrea, disfgia y/o dolor abdominal. Las grávidas no infectadas presentaron: Fiebre en 2 de los casos, escalofríos y cefalea en 11 de las pacientes, mialgias en 5 de ellas; artralgias en 6 pacientes, congestión nasal en 19 y dolor retro-ocular en 3 de las ges-

tantes. Ninguna de ellas refirió erupción cutánea, disfgia y/o dolor abdominal.

El comportamiento de los síntomas hemorrágicos de las embarazadas según resultado serológico (IgM ANTI-DV), informó que las gestantes infectadas presentaron: 4 petequias, 1 epistaxis, 1 gingivorragia, 1 hematuria y 1 prueba de torniquete positiva. Ninguna de ellas refirió equimosis o melena. Las grávidas no infectadas presentaron: Epistaxis en 1 de los casos y no refirieron ninguna otra sintomatología hemorrágica.

En cuanto a los estudios paraclínicos, las hematologías realizadas a las embarazadas según los resultados serológico (IgM ANTI-DV) indicaron: 1) Al realizar la relación Hb/Hto se evidenció que 2 de las pacientes con serología positiva para dengue tenían hemoconcentración, al igual que 12 de las pacientes que no cursaban con la infección viral. 2) Tres de las pacientes positivas presentaban leucocitosis y 10 de las pacientes con serología negativa tenían conteo leucocitario normal. 3) 4 de las pacientes IgM positivas tenían trombocitopenia al igual que 4 pacientes de las que no portaban la enfermedad ( Test de Fisher  $p = 0.0205$ ). 6) El tiempo parcial de protrombina estuvo prolongado en más de 14 segundos en 2 de las mujeres infectadas, así como el tiempo parcial de tromboplastina también estuvo prolongado en 3 de las mujeres con serología positiva

La distribución de frecuencia de las gestantes infectadas y no infectadas de acuerdo a las complicaciones ocurridas en el período preparto señaló que: 1) La condición de parto de pre-termino se observó en 3 de las mujeres infectadas en contraste con ninguna de las no infectadas, la diferencia entre los grupos fue significativa (Test de Fisher  $p=0.001$ ). 2) En 4 de las infectadas, se practicó cesárea segmentaria ( $p=0.05$ ), a diferencia de 2 en las no infectadas. 3) Las restantes complicaciones, tales como sangrado materno, hemorragia del parto y shock se observaron en 2 casos positivos con diagnóstico de dengue severo, que requirieron hospitalización en cuidados intensivos. (Tabla 1)

De las siete gestantes infectadas según la clasificación revisada de OMS/TDR 2010, 1 tenía DSSA, sin fiebre ni manifestaciones hemorrágicas; ella ingresó al proyecto como gestante no sospechosa de infección a virus dengue. Cuatro (4) cursaron con Dengue con signos de alarma y 2 con Dengue severo caracterizado por hemorragias severas (genital), derrame pleural y abdominal, edema perivesicular y choque hipovolémico.

En un recién nacido producto de madre con dengue severo y choque hipovolémico (hemorragia genital), se amplificó el DV y la detección de la proteína NS1 fue positiva. En el otro RN producto de madre sintomática, se detectó la presencia de IgM antiDV. En el 30% (9/30) de las gestantes y sus recién nacidos hubo reactividad a los anticuerpos IgG antiDV, 5 de las cuales resultaron simultáneamente reactivos a IgM antiDV. (Tabla 2)

La distribución de los valores de los estudios hematológicos realizados a siete (7/7) RN productos de madres IgM

Tabla 1: Distribución de las complicaciones durante la fase de parto de las Gestantes según su serología IgM antiDV.

Madres IgM anti-DV			
Complicaciones Pre-parto	Positivas (N° = 7)	Negativas (N° = 23)	Total (N° = 30)
<b>Sangrado materno</b>			
Presente	2	0	1
Ausente	5	23	29
<b>Parto Pre-término</b>			
Presente	3*	0	3
Ausente	4	23	27
<b>Pre-eclampsia</b>			
Presente	0	5	5
Ausente	7	18	25
<b>Ruptura Prematura de Membranas</b>			
Presente	1	2	3
Ausente	6	21	27

\*p=0.001

FUENTE: Formato de recolección de datos Mérida. Venezuela, 2011.

Tabla 2: Diagnóstico específico de la infección por el virus del dengue en Gestantes y Recién Nacidos distribuido de acuerdo a la presencia de anticuerpos tipo IgM en las gestantes.

	Gestantes IgM antiDV		RN productos de Madres con IgM antiDV	
	N° Positivo N°=7	(%) Negativo N°=23	N° Positivo N°=7	(%) Negativo N°=23
<b>qPCR-DV-NS5</b>				
Positivo	0	0	1	0
Negativo	7	23	6	2
<b>Proteína NS1 del DV</b>				
Positivo	0	0	1	0
Negativo	7	23	6	23
<b>Anticuerpos tipo IgG antiDV</b>				
Positivo	5*	4	7	2
Negativo	2	19	0	21
<b>Anticuerpos IgM antiDV</b>				
Positivo			1	0
Negativo			6	23

\*p=0.001

FUENTE: Formato de recolección de datos Mérida. Venezuela, 2011.

ANTI-DV positivo y a doce (12/23) RN productos de madres IgM ANTI-DV negativo fueron los siguientes: 1) La comparación de los valores hematológicos muestra que la hemoglobina estuvo dentro de los valores esperados (14-20 g/dL) tanto en los RN productos de madres infectadas como en los RN no-infectadas, con un promedio de 14.9 y 14.8 g/dL respectivamente. 2) El promedio de hematocrito en ambos gru-

pos fue de 42.1% (DS 3.9 - 5.8) y en ninguno de los casos se observó hemoconcentración. 3) La relación Hto/Hb fue >3.1 en 1 de los 7 RN de madres infectadas y en 3 de los 12 RN de las no infectadas. 4) La leucopenia, signo incluido en los criterios de caso sospechoso de dengue, se observó en 1 de los 7 RN de madres infectadas y en 3 de los 12 RN de las no-infectadas, igual que la trombocitopenia. 5) No hubo diferencia entre los RN de madres infectadas y no-infectadas en los valores obtenidos de los tiempos de coagulación.

La evaluación clínica del recién nacido, en fase post-parto inmediato, de acuerdo a la serología IgM ANTI-DV materna mostró que: 1) El recién nacido producto de la madre con dengue severo que amerito UCI, fue de pre-término y con dificultad en el reflejo de succión. 2) Todos los RN presentaron una evaluación clínica normal en cuanto al peso, talla, Apgar, temperatura corporal y ausencia de sangrado activo, excepto uno (1/7) de ellos que fue de pretérmino (producto de madre infectada).

## DISCUSIÓN

Es de resaltar que de las ocho pacientes con síndrome febril, seis fueron confirmadas como dengue por serología IgM positiva, lo que refleja la importancia de esta patología en zonas endémicas como la nuestra y en especial durante el período de brote epidemiológico. Por ello, el grupo de gestantes no debe ser excluido de la posibilidad diagnóstica, especialmente por la susceptibilidad y el compromiso del binomio madre-hijo (a), que resultaría en un factor de riesgo para la ocurrencia de dengue con signos de alarma.

En la cohorte estudiada, la tercera parte de las gestantes tenían seroconversión tipo IgG, las cuales fueron transferidas vía trans-placentaria a sus respectivos recién nacidos; en consecuencia, el binomio se comportó como una infección secundaria que adicionaría otro factor de riesgo de dengue severo. La transmisión vertical del virus del dengue es un fenómeno descrito en publicaciones previas, en las cuales se ha demostrado la presencia de serotipos virales, bien sea por RT-PCR o cultivo viral, en neonatos de madres seropositivas. En esta cohorte, en dos neonatos se les confirmó la infección activa, uno por amplificación de DV1 y otro IgM-reactivo, lo que ratifica la importancia de la vigilancia de los síndromes febriles en el embarazo, ya que la existencia de anticuerpos IgG no asegura la protección del RN cuando los mismos son heterotípicos. Otros autores han encontrado en zonas endémicas como la nuestra, que la infección secundaria en el embarazo puede llegar hasta un 44%, proporción similar a la encontrada en la población general.

En el grupo de las gestantes infectadas (IgM-reactivas), la mayor proporción de casos cursó con cuadro de DCSA y las manifestaciones clínicas más resaltantes fueron: fiebre, escalofríos, mialgias, artralgias, seguidos de congestión nasal y erupción cutánea; todos ellos establecidos como características clínicas del dengue en la población general,

según la clasificación revisada de la OMS, 2010. Las gestantes que cursaron con DS tuvieron como complicación principal las hemorragias activas en mucosas y en especial la metrorragia como manifestación común, que las llevó a grandes pérdidas sanguíneas y choque hipovolémico.

En un caso del grupo asintomático de comparación, el dengue cursó sin manifestaciones aparentes y el hallazgo de laboratorio fue la confirmación del dengue. Esta presentación está relacionada con lo reportado en la literatura y en la clasificación de la OMS, según la cual parte de los infectados pueden tener un curso asintomático o inespecífico (27,36-38).

Los criterios de laboratorio para el diagnóstico de dengue incluyen la leucopenia como elemento para definir casos como sospechosos; las variaciones de hematocrito y plaquetas para definir los signos de alarma que se corresponden a la hemoconcentración con un caída rápida de la cuenta plaquetaria, sin establecimiento de punto de corte para esta última (27). En este estudio, entre las gestantes infectadas hubo leucopenia en un solo caso, el hematocrito osciló dentro de la normalidad en la mayoría de los pacientes (VN en el embarazo  $37.2 \pm 3.3$ ) (39-42) y en solo dos casos el valor de relación Hto/Hb fue mayor de 3.1. El promedio normal de conteo leucocitario en gestantes del tercer trimestre es de 8.95 (VN  $8.95 \pm 2.38$ ), por lo que hacer diagnóstico de leucopenia sin valor de referencia previo, no es viable (43-46). En consecuencia la leucopenia no puede ser utilizada como un valor para clínico a considerar cuando se está en presencia de síndrome febril durante el embarazo, y por lo tanto como dato para hacer diagnóstico de caso sospechoso de dengue.

Las condiciones de hemodilución fisiológica del embarazo son capaces de enmascarar la hemoconcentración, siendo esta el signo clínico orientador de extravasación plasmática en los endotelios. No es fácil documentar en los pacientes con dengue la diferencia de hematocritos mayores del 20% y menos aún la presencia de derrames serosos, para poder completar los criterios de definición de los casos de dengue de los grupos B o C establecidos por la OMS 2010 (27) en aquellas gestantes consideradas casos sospechosos de dengue. Por estas razones, estaría justificada la realización de estudios ultrasonográficos de cavidades (especialmente abdominal, vesícula biliar) en búsqueda de signos de extravasación.

En contraste, en más de la mitad de las pacientes infectadas se observó trombocitopenia con conteos inferiores a  $149 \times 10^3$  /ul (VN embarazo  $241,8 \pm 49.9$ ). No se pudo determinar la ocurrencia de caída rápida de las plaquetas por no contar con hematologías previas. La trombocitopenia ha sido un elemento resaltante en las principales publicaciones del estudio del dengue en las embarazadas. La manifestación hemorrágica más frecuente fue el sangrado vaginal que se asoció a choque hipovolémico ameritando el ingreso a la Unidad de Cuidados Intensivos. Restrepo y col. reportaron sangrado vaginal en 7 de 24 embarazadas y aunque en la re-

visión de la literatura la presencia de hipermenorrea o metrorragia es una manifestación hemorrágica del dengue poco frecuente, explican estos hallazgos por la condición inherente al sexo y estado gestacional, más no como una manifestación clínica preponderante de la enfermedad (8).

En el presente estudio, la interrupción del embarazo por cesárea segmentaria ocurrió en 4 pacientes debido, bien sea a la ocurrencia de sufrimiento fetal o por las complicaciones hemorrágicas de la madre. La interrupción quirúrgica del embarazo asociada a la alta frecuencia de complicaciones hemorrágicas por trombocitopenia, debe evaluarse con cuidado ya que el procedimiento quirúrgico pudiera eventualmente añadir complicaciones hemorrágicas tanto en el acto quirúrgico como en el post-parto inmediato. Otras complicaciones observadas en las gestantes infectadas fueron partos de pre-término y ruptura prematura de membrana. Otros autores han reportado la ocurrencia de partos pre-término en una frecuencia entre 0 y 56% (37, 39, 40).

Restrepo y col son los únicos que reportan en la literatura un 16.6% (4/24) de casos con ruptura prematura de membrana asociada a la infección por dengue (8).

Basurko y col (36) reportaron una tasa de transmisión vertical de 5.6% y dos estudios de Cuba y Guyana Francesa mostraron tasas de hasta 6.8% (4/59 y 2/19, respectivamente) donde los recién nacidos fueron verticalmente infectados por el virus del dengue en casos con dengue hemorrágico febril (39,47). Otros autores no encontraron transmisión madre-RN en sus estudios con gestantes infectadas (44-46).

En consecuencia, es posible que la tasa de transmisión vertical dependa de la severidad de los casos de dengue y pudiera estar relacionada con el grado de lesión vascular. Varios autores (39-41) han publicado los efectos clínicos de la transmisión vertical del dengue en los recién nacidos; entre los más resaltantes se encuentran tinte icterico leve, hepatomegalia, leucopenia, trombocitopenia severa, hematomas y petequias, prematuridad, malformaciones congénitas, bajo peso al nacer, muerte fetal intrauterina, abortos, sufrimiento fetal en parto, muerte neonatal, sepsis neonatal, derrame pleural, elevación de enzimas hepáticas, eritema cutáneo y sangramiento digestivo.

De los recién nacidos de esta cohorte, solo dos resultaron infectados y los signos encontrados fueron trombocitopenia y leve tinte icterico; ambos evolucionaron hacia la mejoría, sin consecuencias o secuelas. Sin embargo, ambos casos resultaron IgG positivos al DV, y uno de ellos se infectó posteriormente (2 meses después) comportándose como un dengue secundario con hiporexia y petequias, leucocitosis (signo de mal pronóstico) y sin trombocitopenia. Kariyawan y col. no encontraron secuelas o complicaciones en los recién nacidos de una serie de casos estudiados. Ninguno de los RN requirió transfusiones sanguíneas a pesar de la trombocitopenia, excepto uno con prematuridad y bajo peso al nacer (37,38). Fernández y col. en un estudio de

seguimiento por 5 años de cuatro RN cubanos, quienes habían tenido transmisión vertical del dengue, no encontraron secuelas a largo plazo detectables en ninguno de ellos (47). Otro estudio de un año de seguimiento de 3 infantes infectados verticalmente obtuvo resultados similares (37).

Finalmente, este estudio no incluyó la evaluación de otros factores responsables del cuadro clínico y tiene la limitación de un número de infectados muy bajo, por lo que es aconsejable en el futuro la realización de estudios donde se incluyan mayor número de RN infectados para poder determinar el comportamiento clínico local de nuestros casos.

A pesar de las limitaciones inherentes al número reducido de gestantes incluidas en este estudio, lo que atribuimos a razones de costo/tiempo, se puede asumir que la infección por el virus del dengue ocurre por vía transplacentaria durante el peri-parto en áreas endemo-epidémicas como Venezuela, en particular el Estado Mérida. Los efectos de la infección en la gestante se expresan principalmente en la ocurrencia de partos de pre-término y complicaciones hemorrágicas en el pre y postparto que pueden agravar el curso de la evolución clínica del dengue, especialmente en la fase crítica de la enfermedad. Dichas complicaciones inducen en algunos de los RN edad gestacional de pretérmino, alteración del reflejo de succión, hemoglobina y hematocrito bajos, leucopenia, trombocitopenia, tiempo de protrombina prolongado e ictericia leve, manifestaciones que requieren hospitalización y control en la fase neonatal temprana.

La transferencia frecuente de anticuerpos del tipo IgG condiciona en el RN el secundarismo en dengue con la consecuente amplificación de la respuesta inmune mediada por anticuerpos heterotípicos que inducen auto-daño, incrementan la carga viral, la inmunorespuesta mediada por células asesinas naturales y citotóxicas (apoptosis), el depósito del complemento en el lecho vascular y finalmente daño vascular con extravasación (25, 48, 49).

Por lo tanto, en todo cuadro febril, en embarazadas procedentes de áreas endemo-epidémicas de dengue, deben indicarse los estudios serológicos (IgM e IgG antiDV) o virales (qPCR, aislamiento) para el diagnóstico, clasificación y manejo de la gestante y del RN infectados.

## REFERENCIAS

- Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Review*. 1998;11:480-496.
- Guzman MG, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *Journal of Clinical Virology*. 2003;27:1-13.
- Solomon T, Mallewa M. Dengue and other emerging flaviviruses. *Journal of Infection*. 2001;42:104-115.
- Dirección General de Epidemiología M. *Semana Epidemiológica N° 23*. Caracas: Ministerio de Poder Popular para la Salud; 2008. Reporte No.: 23
- Coordinación Regional de Epidemiología CM. *Formato de Vigilancia Especializada Dengue*. Mérida: Corporación de Salud del Estado Mérida; 2010
- Coordinación Regional de Epidemiología CM. *Formato de Vigilancia Especializada Dengue*. Mérida: Corporación de Salud del Estado Mérida; 2009.
- Pinto Z, Odreman M, Téllez L, Mosqueda N, Mendoza J, Vielma S. Seroprevalencia del virus del dengue en mujeres embarazadas del Estado Mérida, Venezuela 2009. XXXII Jornadas Venezolanas de Microbiología, Farmacia y Bioanálisis. Noviembre 2009. Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela.
- Restrepo-Jaramillo BN, Isaza-Guzmán DM, Salazar-González CL, Upegui-Londoño G, Duque CL, Ospina-Ospina M, et al. Efectos del virus del dengue durante el embarazo. *Medellín, Colombia. Infectio*. 2002;6(4):197-203.
- Chitra TV, Panicker S. Maternal and fetal outcome of dengue fever in pregnancy. *J Vector Borne Dis*. 2011; 48(4):210-213.
- Wanatreepya P, Sutee Y, Nirun V, Kulkanya C. Dengue Virus infection in late pregnancy and transmission to the infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(6):500-504.
- Sirinavin S, Pracha N, Sarayuth S, Supawat B, Chonnamet T, Sutee Y. Vertical dengue infection. Case reports and review. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(11):1042-1047.
- Libro de registro de Partos atendidos por Estados y Municipios del Estado Mérida. Mérida: Instituto Autónomo "Hospital Universitario de Los Andes". Ministerio del Poder Popular para la Salud; 2009.
- Pouliot SH, Xiong X, Harville E, Paz-Soldan V, Tomashek KM, Breart G, Buekens P. Maternal dengue and pregnancy outcomes: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv*. 2010;65(2):107-118
- Perret C, Chanthavanich P, Pengsaa K, Limkittikul K, Hutajaroen P, Bunn J. Dengue infection during pregnancy and transplacental antibody transfer in Thai mothers. *J Infect*. 2005;51:287-293.
- González G, Guerra A, Malavé L, Pérez P. Dengue neonatal. A propósito de un caso. *Arch Venez de Pueric y Pediatr*. 2001;64(4):219-222.
- Waduge R, Malavige GN, Pradeepan M, Chandrika N, Wijeyaratne SF, Seneviratne SL. Dengue infections during pregnancy. A case series from Sri Lanka and review of the literature. *J of Clin Virology*. 2006;37:27-33.
- Malhotra N, Chanana C, Kumar S. Dengue infection in pregnancy. *Int J of Gynecology and Obstetrics*. 2006;94:131-132.
- Rosado León R, Muñoz-Rodríguez MR, Soler-Huerta E, Parissi-Crivelli A, Méndez-Machado G. Dengue durante el embarazo. Comunicación de casos. *Ginecología y Obstetricia de México*. 2007;75:687-690.
- Singh N, Sharma KA, Dadhwal V, Mittal S, Selvi AS. A Successful management of dengue fever in pregnancy: Report of two cases. *Indian J of Medical Microbiology*. 2008;26(4):377-380.
- Phongsamart W, Yoksan S, Vanapra N, Chokephaibulkit K. Dengue virus infection in late pregnancy and transmission to the infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(6):500-504.
- Choudhry SP, Gupta RK, Kishan J. Dengue shock syndrome in newborn: a case series. *Indian Pediatr*. 2004;41(4):397-399.
- Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, de Filippis AM, Failloux AB. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2004;98(1):43-54.
- Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Salas R, Villalobos I, Ramos C et al. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *Virology*. 1999;73:4738-4747.
- Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC. Immunopathogenesis of Dengue virus infection. *J of*

- Biomedical Science. 2001;8:377-388.
25. Rothman AL. Immunology and Immunopathogenesis of Dengue disease. *Advance in virus research*. 2003;60:397-419.
  26. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S. et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and Virus serotype correlate with disease severity. *J of Infect Dis*. 2000;181:2-9.
  27. World Health Organization. Special programme for research and training in tropical diseases. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. World Health Organization (WHO) and the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). 2009. ISBN 978 92 4 154787 1:1-160.
  28. Guzman MG, Kouri G. Advances in dengue diagnosis. *Clinical Diagn Lab Immunology*. 1996;3:621-627.
  29. Shu PY, Huang JH. Current Advances in dengue diagnosis. *Clinical and Diagnostic laboratory immunology*. 2004;11:642-650.
  30. Ramirez A, Morosa Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009;65(3):247-253.
  31. Prado I, Rosario D, Bernardo L, Alvarez M, Rodriguez R, Vazquez S. et al. PCR detection of dengue virus using dried whole blood spotted on filter paper. *Journal of Virological Methods*. 2005;125:75-81.
  32. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, et al. An enzyme linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am J Trop Med Hyg*. 1989;40:418-427.
  33. Novoa-Montero D. Los modelos clínico-epidemiológicos aplicados a la investigación microbiológica/parasitológica. Propuesta para usar pragmáticamente la epidemiología empírica en Latinoamérica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 2002;22(1):74-87.
  34. Chien LJ, Liao TL, Shu PY, Huang JH, Gubler DJ, Chang GJ. Development of real-time reverse transcriptase PCR assays to detect and serotype dengue viruses. *J Clin Microbiol*. 2006;44:1295-1304.
  35. Guzmán MG, Pelegrino JL, Pumariaga T, Vázquez S, González L, Kouri G, et al. Quality control of the serological diagnosis of dengue in laboratories throughout the Americas, 1996-2001. *Rev Panam Salud Publica*. 2003;14(6):371-376.
  36. Basurko C, Carles G, Youssef M, Guindi WE. Maternal and fetal consequences of dengue fever during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009 Nov;147(1):29-32.
  37. Phongsamart W, Yoksan S, Vanaprapa N, Chokephaibulkit K. Dengue virus infection in late pregnancy and transmission to the infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(6):500-504.
  38. Kariyawasam S, Senanayake H. Dengue infections during pregnancy: case series from a tertiary care hospital in Sri Lanka. *J Infect Dev Ctries*. 2011;4(11):767-775.
  39. Carles G, Talarmin A, Peneau C, Bertsch M. Dengue fever and pregnancy. A study of 38 cases in french Guiana. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2000;29(8):758-762.
  40. Figueiredo LT, Carlucci RH, Duarte G. Prospective study with infants whose mothers had dengue during pregnancy. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1994;36(5):417-421.
  41. Tan PC, Rajasingam G, Devi S, Omar SZ. Dengue infection in pregnancy: prevalence, vertical transmission, and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 2008;111(5):1111-1117.
  42. Kerdpanich A, Watanaveeradej V, Samakoses R, Chumnanvanakij S, Chulyamitporn T, Sumeksri P, et al. Perinatal dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2001;32(3):488-493.
  43. Sharma SN, Raina VK, Kumar A. Dengue/DHF: an emerging disease in India. *J Commun Dis*. 2000;32(3):175-179.
  44. Adam I, Jumaa AM, Elbashir HM, Karsany MS. Maternal and perinatal outcomes of dengue in PortSudan, Eastern Sudan. *Virology*. 2010;7:153.
  45. Bunyavejchevin S, Tanawattanacharoen S, Taechakraichana N, Thisyakorn U, Tannirandorn Y, Limpaphayom K. Dengue hemorrhagic fever during pregnancy: antepartum, intrapartum and postpartum management. *J Obstet Gynaecol Res*. 1997;23(5):445-448.
  46. Carles G, Peiffer H, Talarmin A. Effects of dengue fever during pregnancy in French Guiana. *Clin Infect Dis*. 1999;28(3):637-640.
  47. Fernandez R, Rodriguez T, Borbonet F, Vazquez S, Guzman MG, Kouri G. Study of the relationship dengue-pregnancy in a group of cuban-mothers. *Rev Cubana Med Trop*. 1994;46(2):76-78.
  48. Kouri G, Mas P, Guzman MG, Soler M, Goyenechea A, Morier L. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: rapid diagnosis of the etiologic agent. *Bulletin Pan American Health Organism*. 1983;17:126-132.
  49. Rothman AL. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *The Journal of Clinical Investigation*. 2004;113:946-951.

Este estudio fue financiado por FONACIT N° G-2005000821 y el CDCHT ULA M- 841-05-07 -A, CDCHT ULA M- 842-05-07- C de la Universidad de Los Andes