

ESTUDO PROSPECTIVO COM LACTENTES CUJAS MÃES TIVERAM DENGUE DURANTE A GRAVIDEZ

Luiz Tadeu Moraes FIGUEIREDO (1), Rita Helena CARLUCCI (1) & Geraldo DUARTE (2)

RESUMO

Num estudo sobre doença congênita, com 10 lactentes de mães que tiveram dengue na gravidez, não se detectou infecção intra-uterina. Os soros fetais apresentaram anticorpos IgG contra dengue tipo 1, por teste imuno-enzimático, provavelmente transferidos passivamente. Estes anticorpos, analisados de forma prospectiva em 8 casos, foram declinando progressivamente, até desaparecerem, aos 8 meses de idade. Anticorpos do tipo IgM contra dengue não foram detectados. O tempo gestacional normal, os índices de Apgar, o peso e as placentas normais dos neonatos, bem como a ausência de malformações, foram evidências contrárias à infecção intra-uterina.

UNITERMOS: Dengue; Infecção na gestação; Doença na gestação.

INTRODUÇÃO

O dengue é, atualmente, considerado a mais importante arbovirose que afeta o homem em termos de morbidade e mortalidade ⁸. Os 4 sorotipos de vírus do dengue, denominados pelos números 1, 2, 3 e 4, são vírus RNA pertencentes à família *Flaviviridae* ^{4, 18}, gênero *Flavivirus* e dentro de um critério eminentemente epidemiológico, são classificados como arbovírus (vírus transmitidos por artrópodos) ¹. Os principais vetores do dengue são mosquitos *Aedes* das espécie *aegypti* e *albopictus* ⁸.

Nos últimos 8 anos, epidemias de dengue vêm ocorrendo em todo o Brasil, com exceção dos Estados da Região Sul, causando milhões de infecções. Nestes surtos, já foram isolados os sorotipos 1 e 2 ^{3, 7, 16}.

O dengue na infância costuma se manifestar como

febre indiferenciada, comumente acompanhada de exantema maculopapular ²⁰. No Sudeste Asiático, as crianças são as mais acometidas pelo dengue hemorrágico (DHF/DSS) que pode se manifestar por apenas fenômenos hemorrágicos ou quadros com síndrome de choque ^{17, 20}. A fisiopatologia do DHF/DSS é explicada pelo mecanismo de facilitação da infecção macrófaga por vírus do dengue, com infecção maciça destas células, conseqüente agressão por linfócitos citotóxicos e liberação de citocinas com produção de choque e fenômenos hemorrágicos ^{10, 13}. Na infância, estes quadros graves têm 2 causas. A primeira a ser considerada é a infecção sequencial, por mais de um sorotipo viral, com produção de anticorpos sub-neutralizantes contra o último sorotipo infectante ¹⁵. Estes anticorpos, ao se ligarem ao vírus facilitam a sua entrada no macrófago, por se ligarem a receptores de

1) Unidade de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

2) Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo. Unidade de Pesquisa em Virologia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. 14100-000 Ribeirão Preto/SP, Brasil.

membrana para a porção Fc de IgG ⁹. A segunda causa observa-se em crianças com menos de 1 ano, cujas mães tiveram dengue na gravidez ¹¹. Os IgG maternos transferidos passivamente à criança, vão decaindo a níveis sub-neutralizantes e, eventualmente, ao ocorrer infecção pelo mesmo tipo de vírus do dengue, na vigência desta situação imunológica, ocorreria o DHF/DSS.

Desconhecemos relatos na literatura de infecções congênicas por dengue, porém, o conhecimento de alterações prévias na patogenia e comportamento clínico desta virose, leva-nos a pensar que tal fato poderia vir a ocorrer, causado, entre outros fatores, por possíveis mutações do agente ². Este trabalho teve por objetivo detectar a presença de infecção e doença por dengue em recém nascidos e, também, observar nos lactentes, o decaimento, ao longo do tempo, dos anticorpos específicos maternos, transferidos passivamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Um grupo de 50 parturientes e seus recém-nascidos foram avaliados quanto à presença de anticorpos IgG ou IgM contra dengue tipo 1. O estudo foi iniciado no Centro Obstétrico do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, nos meses de maio e junho de 1991. Juntamente com informações clínico-obstétricas das parturientes, colhiam-se dados sobre antecedentes de dengue, vacinação anti-amarílica ou outras flaviviruses. Sabendo-se antecipadamente que na Região de Ribeirão Preto, o único surto de dengue de que se tem notícia, causado pelo sorotipo 1, ocorreu entre novembro de 1990 e abril de 1991, supôs-se que pacientes com sorologia positiva teriam se infectado nesta epidemia, durante a gravidez, entre a 10^a e a 28^a semana gestacional.

Após o consentimento das mães participantes, colhia-se seu sangue por veno-punção e, o fetal, diretamente do cordão umbilical. Os soros eram separados e armazenados a -20°C, até o teste.

Inicialmente, os soros das mães foram testados, visando à detecção de anticorpos IgM e IgG específicos, utilizando-se um teste imunoenzimático indireto (EIA-ICC) ^{5,6,7}, no qual culturas de células do mosquito *Aedes Albopictus*, C6/36, infectadas com o dengue tipo 1 sturpe RibH830 (isolado em Ribeirão Preto) eram utilizadas como antígeno, fixadas em micropalacas de 96 orifícios (CORNING-USA), com solução de formalina tampou-

nada. Resumidamente, o teste era efetuado acrescentando-se às placas os soros em teste, em diferentes diluições. Após lavagem dos orifícios, acrescentava-se, dependendo do interesse, um conjugado de peroxidase com anticorpo de cabra anti-IgG ou IgM humano (SIGMA-USA) e, finalmente, o substrato 0-phenylenediamine dihydrochloride (SIGMA-USA). A leitura do teste, visual, era feita após 10 minutos de incubação a 37°C, comparando-se a cor amarela, em orifícios-teste, com ausência de cor nos controles (contendo células C6/36 não infectadas). Para auxiliar a leitura dos resultados, sempre se acrescentavam às placas, soros controles positivos e negativos ^{5,6}.

Os soros de recém-nascidos cujas mães apresentaram IgM e/ou IgG contra dengue tipo 1 no EIA-ICC; foram testados posteriormente e, com a autorização materna, estas crianças passaram a fazer parte de um programa visando investigar infecção congênita por dengue. Desenvolveu-se um protocolo do qual constavam identificação materna e do recém-nascido (RN), condições de nascimento (idade gestacional, data e tipo de parto, peso, condições fetais e do RN, condições da placenta), exame de seguimento das crianças 3 meses e 8 meses após o nascimento, avaliando o peso, altura, ganho ponderal e pesquisando hepatoesplenomegalia, icterícia, anemia, adenopatias e defeitos físicos. As consultas de seguimento das crianças eram efetuadas no Ambulatório do Hospital das Clínicas da FMRP. Nesta ocasião, também se colhiam amostras do sangue por punção venosa, as quais eram processadas de forma já descrita e testadas para dengue tipo 1, visando detectar anticorpos IgG e IgM específicos.

RESULTADOS

De 50 soros maternos testados para dengue tipo 1, por EIA-ICC, 10 foram reagentes (positividade de 20%), com títulos séricos de IgG variando entre 500 e 1600, e IgM detectável em 2 casos, conforme mostra a Tabela 1. Seis destas mães, referiam ter tido dengue durante a gravidez. Os resultados dos EIA-ICC de dengue tipo 1, nos recém nascidos, foram todos negativos para IgM e reagentes para IgG, com títulos entre 1000 e 16000. Observaram-se, em 3 casos, títulos séricos mais elevados no sangue fetal que no materno, porém, sem significado estatístico. Em 8 casos foi possível observar o decréscimo dos títulos séricos de IgG para dengue tipo 1, após 3 meses e, em 6 casos, estes anticorpos não foram mais detectados após 8 meses, como mostrado na Tabela 1 e na Figura 1.

TABELA 1

Resultados dos EIA-ICC para dengue tipo 1, de 10 mães, no momento do parto e os dos filhos, em soros colhidos ao nascer, com 3 meses e 8 meses de idade.

Nº	Mãe		Filho		3 meses		8 meses
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
1	1000*	N**	1000	N	100	N	N
2	1000	N	1000	N	400	N	N
3	500	500	2000	N	200	N	N
4	2000	1000	1000	N	200	N	N
5	2000	N	2000	N	100	NR***	N
6	2000	N	2000	N	N	NR	NR
7	8000	N	16000	N	400	NR	N
8	16000	N	2000	N	200	NR	NR
9	1000	N	2000	N	NR	NR	NR
10	16000	N	16000	N	NR	NR	NR

* - Título = recíproca da diluição; **N - teste negativo (<100); ***NR - teste não realizado.

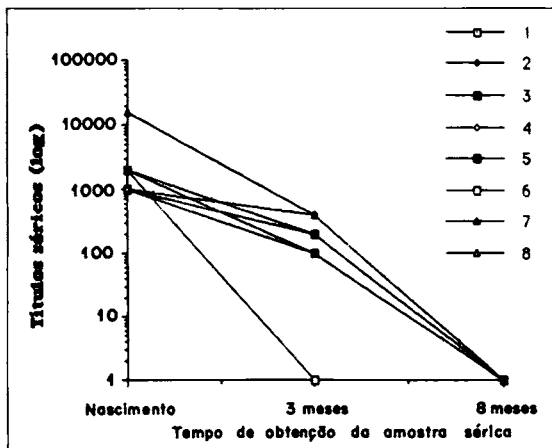


Fig. 1 - Decréscimo dos anticorpos tipo IgG para dengue 1, em 8 crianças cujas mães tiveram dengue durante a gestação.

Verificando-se a Tabela 2, observa-se que todas as 10 mães, com exceção de uma, sobre a qual havia dúvidas sobre o tempo gestacional, tiveram este maior ou igual a 38 semanas: 8 tiveram parto normal; ocorreu um parto fórceps e uma cesareana. Não se observaram malformações fetais ou anormalidades placentárias ao exame macroscópico e os recém-nascidos apresentaram índices Apgar satisfatórios, após 5 minutos ¹⁴, bem como peso dentro da normalidade ¹².

Ao exame físico, 3 meses após o nascimento, observou-se esplenomegalia discreta em 3 casos (não havia referência a esta anormalidade ao nascimento). Micropoliadenopatias e anemia foram outras observações durante o seguimento. A criança 4, com o menor desen-

volvimento ponderal aos 3 meses, não foi avaliada 8 meses após o nascimento.

DISCUSSÃO

O dengue é causador de infecções graves no primeiro ano de vida. Estes casos são do tipo DHF/DSS e estão relacionados com a transferência passiva de anticorpos maternos. Contudo, apesar de suas características estruturais parecidas e de produzir doença clinicamente semelhante à causada pelo vírus da rubéola (*Togaviridae*), não são encontrados relatos de doença congênita por dengue ².

Visando investigar doença congênita em filhos de mães que tiveram dengue durante a gravidez, foram selecionados 10 casos em que presumiu-se a infecção materna, pelo tipo 1, entre a 10ª e a 28ª semana gestacional. As mães negavam vacinação anti-amarela progressiva e nenhuma delas apresentava evidências clínicas ou sorológicas de sífilis, toxoplasmose ou rubéola, durante a gravidez, período no qual 6 delas afirmavam ter tido dengue. Duas mães apresentavam anticorpos IgM e, em 6 casos, os títulos de IgG para dengue tipo 1 eram elevados (≥ 2000), sugerindo infecção recente. Na mesma ocasião observou-se que os soros fetais apresentavam anticorpos do tipo IgG específicos para dengue tipo 1, com títulos similares aos maternos. Os anticorpos IgG, por seu menor tamanho, atravessam a barreira placentária e, provavelmente, foram transferidos passivamente ao feto ¹⁹. A ausência de anticorpos do tipo IgM específicos para dengue tipo 1 foi importante evidência de que os fetos não se infectaram durante a enfermidade

TABELA 2

Dados relativos aos lactentes cujas mães tiveram dengue durante a gravidez, ao nascimento e durante o seguimento.

Nº*	EG**	Parto					S3m*****		S8m*****	
		TG***	Tipo	Peso	Apgar	P1****	Peso	Obs.	Peso	Obs.
1	?	38s	Forc.	3020g	9/10 #	MN	7060g	SA	8620g	SA
2	16s	38s	N	3350g	9/10	MN	6950g	SA	8550g	SA
3	12s	41s	N	3380g	8/10	MN	6580g	SA	7980g	anem.
4	10s	41s	Cesar.	3420g	9/10	MN	5320g	esplen.	NR	NR
5	?	39s	N	3120g	?	MN	5620g	adenop.	7720g	SA
6	14s	38s	N	3280g	?	?	6480g	esplen.	NR	NR
7	?	39s	N	3680g	9/10	MN	6980g	SA	8880g	SA
8	?	40s	N	3120g	9/10	MN	6320g	esplen.	NR	NR
9	?	?	N	2900g	9/10	MN	NR	NR	NR	NR
10	?	40s	N	2790g	5/8	MN	NR	NR	NR	NR

*Nº - Número da criança; **EG - Época da gravidez em que a mãe teve dengue; ***TG - Idade gestacional na ocasião do parto; ****P1 - Características da placenta; *****S3m - Seguimento das crianças com 3 meses; *****S8m - Seguimento das crianças com 8 meses; # Scores do Apgar efetuado 1 minuto/5 minutos após o nascimento; s- Semanas; Obs. - Observações sobre o exame clínico; Forc. - Parto forceps; MN-Placenta madura normal; SA- Sem alterações ? - Sem informação; Cesar.- Parto tipo cesareana; adenop. - Micropoliadenopatia; esplen.- Esplenomegalia; NR - Não realizado.

materna (Tabela 1). O tempo gestacional sem anormalidades, a ausência de malformações fetais, os índices de Apgar, os pesos e as placentas normais dos neonatos foram, também, evidências contrárias à infecção intra-uterina ^{12, 14}.

A comprovação de que anticorpos maternos para dengue tipo 1 teriam sido transferidos das mães aos fetos foi efetuada pela observação do declínio dos IgG específicos, 3 meses e 8 meses após o nascimento. O declínio foi observado nas 8 crianças estudadas e os achados (Fig. 1) foram compatíveis com o relato de outros autores, em estudo efetuado na Tailândia ¹¹. Os referidos autores deixaram de observar anticorpos neutralizantes passivos para dengue tipo 2 a partir do 8º mês de idade. Este mesmo trabalho mostra que na fase final em que os anticorpos são detectáveis, estes, por se tornarem sub-neutralizantes, produzem, nas crianças que casualmente se infectam com o mesmo sorotipo viral, entre o 6º e o 10º mês de idade, casos de DHF/DSS. Portanto, haveria risco de DHF/DSS infantil em Ribeirão Preto, caso a epidemia de dengue tipo 1 tivesse se prolongado, ocorrendo a infecção destas crianças cuja gestação cursou com infecção materna, coincidindo com aquele período etário.

Os exames clínicos das crianças, 3 e 8 meses após o nascimento, mostraram esplenomegalia, micropoliadenopatia e anemia (Tabela 2). Contudo estes são achados possíveis nesta faixa etária e, comumente, atribuíveis à infecção por outros agentes ou a problemas nutricionais, não devendo, portanto, ser relacionados à doença congênita por dengue.

SUMMARY

A prospective study with children whose mothers had dengue during pregnancy

Dengue congenital disease was not confirmed in 10 children whose mothers had the infection during pregnancy. The fetal sera presented anti-dengue IgG antibodies which progressively declined, and disappeared after 8 months. IgM antibodies to dengue were not observed in the sera. Other normal data suggesting the healthy state of the children included: absence of malformations, pregnancy time, Apgar index, weight, and placenta aspect.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos médicos Aparecida Yullie Yamamoto e Marco Túlio Silvestre pelo auxílio no exame das crianças cujas mães tiveram dengue na gravidez. Agradeço aos Serviços de Enfermagem do Setor de Saúde Pública e do Centro Obstétrico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pela colaboração na colheita de dados e das amostras provenientes de mães que tiveram dengue na gravidez e suas crianças. Agradeço à Prof. Marisa Pinhata, do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto pela revisão do trabalho e pelas sugestões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN COMMITTEE ON ARTHROPOD-BORNE VIRUSES - *International catalogue of arboviruses including certain other*

- viruses of vertebrates*. KARABATSOS, N., ed. 3. ed. American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1985.
2. ARVIN, A.M. & YEAGER, A.S. - Other viral infections of the fetus and newborn. In: REMINGTON, J. S. & KLEIN, J. O. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 3. ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1990. p. 516-523.
 3. BRASIL. Ministério da Saúde - Dengue no Brasil - 1990. Comparativo - RJ/CE/MS, 1990.
 4. BROWN, F. - The classification and nomenclature of viruses: summary of meetings of the International Committee on Taxonomy of Viruses in Sendai, September 1984. *Intervirology*, 25: 141-143, 1986.
 5. FIGUEIREDO, L.T.M. & SHOPE, R.E. - An enzyme immunoassay for dengue antibody using infected cultured cells an antigen. *J. virol. Meth.*, 17: 191-198, 1987.
 6. FIGUEIREDO, L.T.M.; SIMÕES, M.C. & CAVALCANTE, S.M.B. - Study on an enzyme immunoassay for dengue IgG and IgM antibodies detection using infected mosquito cells as antigen. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 83: 702-707, 1989.
 7. FIGUEIREDO, L.T.M.; OWA, M.A.; CARLUCCI, R.H. et al. - Estudo sobre diagnóstico laboratorial e sintomas do dengue, durante epidemia ocorrida em Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 34: 121-130, 1992.
 8. GUBLER, D.J. - Current research on Dengue. In: *Current topics in vector research*. New York, Springer - Verlag, 1987. v.3, p. 37-56.
 9. HALSTEAD, S.B.; O'ROURKE, E.J. & ALLISON, A.C. - Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J. exp. Med.*, 46: 201-217, 1977.
 10. HOBBER, D.; POLI, L.; ROBLIN, B. et al. - Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 β (IL-1 β) in dengue infected patients. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 48: 24-31, 1993.
 11. KLIKIS, S.C.; NIMMANITYA, S.; NISALAK, A. et al. - Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 38: 411-419, 1988.
 12. MARCONDES, E. - Crescimento e desenvolvimento. In: MARCONDES, E., ed. *Pediatria básica*. 7. ed. São Paulo, Sarvier, 1986. p. 40-68.
 13. MONATH, T.P. - Pathology of the flaviviruses. In: SCHLESINGER, S. & SCHLESINGER, M. - *The Togaviridae and Flaviviridae*. New York, Plenum, 1986. p. 375-424.
 14. RIBEIRO, R. & FERREIRA FILHO, A. - Patologia do feto e do recém-nascido. C. Reanimação. In: REZENDE, J. *Obstetrícia*. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1969. p. 1113-1121.
 15. SANGKAWIBHA, N.; ROJANASUPHOT, S.; AHANDRIK, S. et al. - Risk factors in Dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. *Amer. J. Epidem.*, 120: 653-669, 1984.
 16. SCHATZMAYR, H.G.; NOGUEIRA, R.M.R. & TRAVASSOS DA ROSA, A. P. - An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 8: 245-246, 1986.
 17. SCHLESINGER, R.H. - *Dengue viruses*. New York, Springer-Verlag, 1977.
 18. WENGLER, G. - Family flaviviridae. In: FRANCKI, R.I.B. et al., ed. Classification and nomenclature of viruses. Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol.*, (Suppl. 2): 230-231, 1991.
 19. WILSON, C.B. - Development immunology and role of host defenses in neonatal susceptibility. In: REMINGTON, J.S. & KLEIN, J.O. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 3. ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1990. p. 17-67.
 20. WORLD HEALTH ORGANIZATION - *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control*. Geneva, WHO, 1986.
- Recebido para publicação em 30/11/1993.
Aceito para publicação em 12/04/1994.