

## Circulación del Virus Dengue 3 en Costa Rica, 1994-1997

Elizabeth Sáenz\*, Luis González\*, Marta Víquez\*, Jenny Lara\*, María de los Angeles Valverde\*

**Justificación y objetivo:** El fin del presente trabajo fue analizar la circulación del serotipo dengue 3 en Costa Rica entre octubre de 1993 y diciembre de 1997. Los resultados se basan en los análisis de laboratorio de las muestras recibidas en el Centro Nacional de Referencia de dengue y en la correlación de estos con las manifestaciones clínicas severas y los datos epidemiológicos de los casos estudiados en ese período.

**Métodos:** Todos los sueros fueron analizados con un ensayo inmunoenzimático para evaluar la presencia de anticuerpos IgM anti-dengue. La identificación de infecciones primarias o secundarias se llevó a cabo usando la técnica de inhibición de la hemaglutinación. El aislamiento del virus dengue se llevó a cabo usando células de mosquito C6/36. Los cultivos positivos y los serotipos fueron confirmados por inmunofluorescencia. Algunos de los sueros fueron analizados mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa para confirmar la presencia de genomas virales.

**Resultados:** La primera epidemia de dengue en Costa Rica empezó en octubre de 1993 con la descripción de los primeros casos causados por los serotipos 1, 2 y 4 (79%, 10.5% y 10.5% de los aislamientos, respectivamente) documentados en Puntarenas y Guanacaste. Aunque el serotipo dengue 3 fue inicialmente detectado en 1994 en un único caso, en 1995 se confirmó una mayor circulación del virus en otras cuatro regiones de salud. Los análisis genéticos llevados a cabo en el CDC de Puerto Rico revelaron una estrecha relación de estas cepas con las aisladas en India y Sri Lanka (grupo III). Los dos primeros casos confirmados de fiebre hemorrágica del dengue fueron también reportados en ese año. En mayo de 1996, después de una leve disminución de la enfermedad, se reportaron nuevos aislamientos de dengue 3. En esa oportunidad, la mayoría de los casos, incluyendo un caso fatal de dengue hemorrágico, se concentró en la provincia de Limón (Región Huetar Norte) y la mayor parte (72%) correspondieron al serotipo dengue 1. El resto (28%) se identificaron como serotipo dengue 3. Durante 1997 se reportó un importante incremento de la presencia del serotipo dengue 3, básicamente en la Región Pacífico Central (98% de los aislamientos positivos versus 2% del serotipo 1). El mismo se asoció a un significativo incremento en el reporte de manifestaciones hemorrágicas y muertes relacionadas con el dengue.

**Conclusión:** Los datos muestran que las complicaciones clínicas descritas en otras áreas geográficas como consecuencia de la circulación del serotipo dengue 3 no habían sido reportadas en Costa Rica hasta 1997, probablemente como consecuencia de una combinación de varios factores (un número relativamente bajo de infecciones secundarias, baja viremia relacionada con la infección, el tiempo transcurrido entre el primero y el segundo contacto con diferentes serotipos, entre otros). Sin embargo, los resultados de este reporte sugieren la necesidad de mantener un programa activo de vigilancia para detectar los casos de fiebre hemorrágica del dengue o síndrome del shock por dengue que se dan como consecuencia de la diseminación del serotipo dengue 3 posterior a la circulación de otro serotipo.

**Descriptores:** Dengue 3, Fiebre hemorrágica del dengue, Vigilancia epidemiológica.

Abreviaturas: CNRD: Centro Nacional Referencia Dengue, Inciensa. DVEMS: Departamento de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud. ELISA: Ensayo inmunoenzimático. FDH/SCD: Fiebre hemorrágica por dengue/Síndrome de shock por dengue. IgM: Inmunoglobulina M. IH: Inhibición de la hemaglutinación. PCR: Reacción en cadena de la polimerasa. CDC: Centro de Control de Enfermedades. MAC: Captura de Anticuerpos IgM. S1: Suero tomado en la fase aguda. S2: Suero tomado en la fase convaleciente.

\* Centro Nacional de Referencia para Dengue.

Correspondencia: E. Sáenz. Centro Nacional de Referencia para Dengue. Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (Inciensa), Ministerio de Salud. Apartado 4-2250 Tres Ríos, Costa Rica. Tel. (506) 279-9911. Fax: (506) 279-0486.

Desde hace más de 30 años se ha reportado la circulación del virus dengue como causante de grandes epidemias en la mayoría de los países de América.<sup>1</sup> Sin embargo, la primera epidemia de dengue clásico documentada por el laboratorio en la región ocurrió en 1963-1964 en la Cuenca del Caribe y en Venezuela y fue causada por el serotipo dengue 3.<sup>2</sup> Posteriormente, hasta 1977, varios brotes de dengue asociados con el virus dengue 2 y 3 se confirmaron en el Caribe (1968-69) y en Colombia (1971-72).<sup>3</sup>

En el período 1977-1980, el dengue 1 fue el serotipo de mayor circulación en las Américas y durante la década de 1980, la magnitud del problema en la región aumentó considerablemente con la co-circulación de los virus dengue 1, 2 y 4 que afectó la mayoría de los países del área.<sup>4</sup> En Centroamérica, Honduras, El Salvador, Guatemala y Belice se registraron epidemias explosivas de dengue clásico desde 1977-78<sup>2</sup> y Nicaragua reportó la primera epidemia en 1985.<sup>5</sup> Sin embargo, no es sino hasta octubre de 1993 que la transmisión del dengue se documentó en Costa Rica con la confirmación del serotipo dengue 1 como responsable de la epidemia descrita simultáneamente en las provincias de Puntarenas y Guanacaste.<sup>6,7</sup>

A partir de ese momento, la transmisión de la enfermedad se extendió a otras áreas del país con un comportamiento caracterizado por los aumentos en la incidencia durante los meses con mayor temperatura y humedad. A pesar de que el virus dengue 3 no se había documentado relacionado a epidemias en la región desde 1977,<sup>8,9</sup> debido a un aumento de la actividad epidémica de este virus en el Sudeste Asiático y Pacífico Occidental, a principios de 1994 la OPS/OMS suministró un documento de alerta sobre el riesgo de la reintroducción de este serotipo en las Américas.<sup>9</sup> Y es así como posterior al reporte del dengue 3 en noviembre de 1994 en Nicaragua y Panamá,<sup>10</sup> en diciembre de ese mismo año, se identificó en nuestro país el primer aislamiento de dengue 3.<sup>11</sup> Sin embargo, no se reportó una fuerte transmisión de este serotipo hasta en el mes de mayo de 1997 cuando se documentó en la provincia de Puntarenas una importante actividad causada por la circulación del virus dengue 3.

En este reporte se describen las particularidades de la circulación del dengue 3 en Costa Rica entre diciembre de 1994 y diciembre de 1997, obtenidas a partir de los hallazgos de laboratorio y se discute la posible relación de estos hallazgos con los patrones clínicos descritos en ese período.

## Materiales y Métodos

Como parte de la vigilancia del dengue, a partir del mes de noviembre de 1993, en Costa Rica se propuso un sistema basado en la notificación obligatoria de los casos sospechosos.<sup>12</sup> Debido a lo inespecífico del cuadro clínico, esta vigilancia se apoya en los análisis de laboratorio con el fin de confirmar la transmisión del virus del dengue e identificar el serotipo circulante. Para esto, el Centro Nacional de Referencia para Dengue (CNRD) en Inciensa, recibe muestras de suero y reportes clínico-epidemiológicos de los pacientes ambulatorios y hospitalizados sospechosos de padecer dengue de todos los establecimientos públicos y privados del país. Así, una vez confirmado el brote en una localidad, la notificación de los casos se basa en criterios clínicos y epidemiológicos, mientras en las áreas donde no se ha documentado la transmisión viral se continúa tomando muestras a los pacientes sospechosos para su confirmación serológica y/o virológica.

Para efectos de este reporte se estudiaron las muestras de los pacientes con dengue que ingresaron al sistema de vigilancia nacional de la enfermedad desde octubre de 1993 a diciembre de 1997.

Todos los sueros fueron analizados para determinar anticuerpos IgM contra el virus del dengue mediante la técnica de ELISA de captura de anticuerpos IgM (MAC-ELISA), utilizando como antígeno una mezcla de los cuatro serotipos del virus y siguiendo el método de Kuno *et al.*<sup>13</sup> con algunas modificaciones. Para determinar si se trataba de infecciones primarias o secundarias<sup>14</sup> los sueros de 371 pacientes de Puntarenas, que presentaron sintomatología compatible con dengue y confirmados en el laboratorio por determinación de anticuerpos IgM y/o aislamiento viral entre mayo y setiembre de 1997 fueron además evaluados por la técnica de inhibición de la hemaglutinación (IH) descrita por Clarke y Casals<sup>15</sup> adaptada para uso en platos de microtítulo.

Para el aislamiento viral, los sueros agudos (tomados en pacientes con menos de 5 días de evolución de la enfermedad), se inocularon en cultivo de células de mosquito C6/36. Después de 10 días de incubación a 28°C, las monocapas se desprendieron para luego preparar frotis siguiendo procedimientos estándar.<sup>16</sup>

Los cultivos positivos fueron identificados por inmunofluorescencia directa con un conjugado preparado con sueros hiperinmunes contra los virus dengue (donado por la División de Dengue, Laboratorios San Juan, Puerto Rico). En las muestras positivas, el serotipo se tipificó por inmunofluorescencia indirecta utilizando anticuerpos monoclonales procedentes de la División de enfermedades infecciosas transmitidas por artrópodos del Centro de Control de Enfermedades en Fort Collins, Colorado.

Además, para propósitos de confirmación, algunos sueros agudos se analizaron también por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para identificar el genoma viral siguiendo el método descrito por Lanciotti *et al.*<sup>17</sup> Para todos los procedimientos de laboratorio serológicos y virológicos y en cada ensayo, se analizaron siempre en conjunto con las muestras, los controles positivos y negativos correspondientes para garantizar la calidad de los análisis.

Con el fin de confirmar los hallazgos de laboratorio, algunos sueros se enviaron al Laboratorio San Juan en Puerto Rico, en donde además de corroborar los resultados locales se realizaron estudios de secuenciación de las cepas aisladas. También, para completar los estudios de los casos fatales, las muestras de tejidos se enviaron al laboratorio de patología del CDC en Atlanta para el análisis inmunohistoquímico.<sup>18</sup>

## Resultados

La primera epidemia de dengue documentada en Costa Rica, se reportó en octubre de 1993 en las provincias de Puntarenas y Guanacaste. Un total de 4612 casos de dengue se notificaron al Departamento de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud (DVEMS). De estos, en el laboratorio se analizaron 613 sueros, de los cuales 86 (14%) resultaron positivos para la determinación de anticuerpos IgM a dengue y/o identificación viral. En 19 sueros agudos se realizó el aislamiento del virus dengue que en 15 de ellos (79%) resultó ser dengue 1, en 2 (10.5%) dengue 2 y en los otros dos (10.5%) dengue 4.

En 1994 la epidemia se extendió a la Región Central Norte, afectando principalmente la provincia de Alajuela. Como se muestra en la Figura 1, durante este año se notificaron al DVEMS 13.929 casos de dengue, reportando el CNRD en Inciensa 1601 (27%) sueros positivos de los 5836 analizados por serología y/o identificación viral. La vigilancia virológica realizada durante este año permitió establecer que de 87 muestras positivas por identificación viral, en el 99% de los casos el serotipo responsable fue el dengue 1. Sin embargo, en diciembre se confirmó por cultivo celular y por PCR el virus dengue 3 en un paciente masculino de 69 años, vecino de Heredia, quien refirió haber viajado a Nicaragua el 30 de noviembre e inició los síntomas el 11 de diciembre.

En 1995 el CNRD intensificó la vigilancia virológica en sueros agudos de pacientes febriles en zonas de riesgo con alto índice de infestación del vector y circulación del virus. Así, el laboratorio confirmó el aislamiento del virus dengue en 94 sueros de los cuales el 80% correspondieron al serotipo 1, mientras que el dengue 3 se identificó en 19 sueros (20%) de pacientes provenientes de cuatro regiones del país. Cuatro de ellos reportaron antecedentes de salida del país antes de enfermar; dos refirieron haber visitado Nicaragua y los otros dos, Honduras. El Laboratorio San Juan, del CDC en Puerto Rico, realizó los análisis genéticos de dos de las cepas de dengue 3 aisladas en Costa Rica. Los resultados revelaron una estrecha relación con los virus aislados en India y Sri Lanka o grupo III. En junio de 1995 se notificó un caso de un niño de 3 años con complicaciones neurológicas y cuyo diagnóstico de laboratorio identificó por PCR en el suero post-mortem, el virus dengue serotipo 3 y niveles de anticuerpo IH de 1/20 para los serotipos dengue 1 y 3, de 1/80 para dengue 2 y de 1/320 para el serotipo 4 (en prensa). Es en setiembre de este mismo año que se reporta el primer caso de dengue hemorrágico en una mujer de 54 años, vecina de Guanacaste a quien se le aisló por cultivo celular el virus dengue 3 confirmado además por PCR. A ella se le determinaron anticuerpos IgM contra dengue y anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación en niveles < 1/160 en la muestra S1 y superiores a 1/5120 para los cuatro serotipos del dengue en la muestra S2. El tratamiento oportuno y adecuado de la paciente permitió su recuperación.<sup>11</sup>

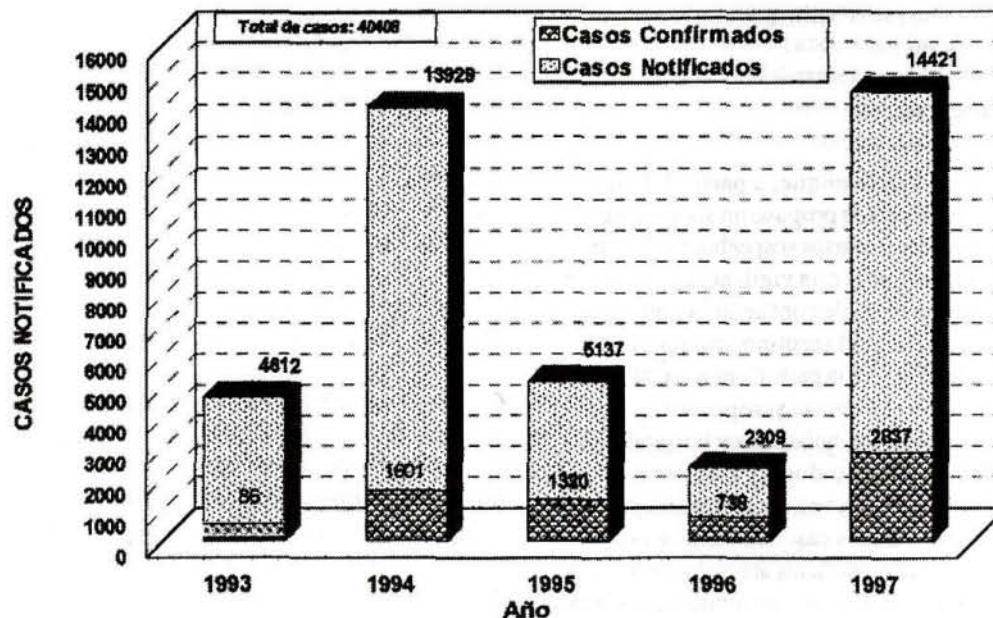


Figura 1. Actividad de dengue en Costa Rica. Octubre 1993-diciembre 1997. fuente: Depto Vigilancia Epidemiológica, Ministerio de Salud.

**Cuadro 1**

Casos de dengue confirmados por laboratorio, según Región Costa Rica, enero-diciembre, 1997

Región	Muestras Procesadas*	Positivas	
		N	(%)
Pacífico Central	2328	1174	(50)
Chorotega	1665	955	(57)
Central Norte	991	253	(26)
Central Sur	805	160	(20)
Central Este	176	26	(15)
Occidental	26	4	(15)
Huetar Atlántica	695	194	(28)
Brunca	797	65	(8)
Huetar Norte	59	6	(10)
<b>Total</b>	<b>7542</b>	<b>2837</b>	<b>(38)</b>

(\*): muestras procesadas por serología e identificación viral.  
Fuente: CNRD-INCIENSA

Luego de una disminución en la actividad de la enfermedad (Figura 2), en mayo de 1996 se inician de nuevo los aislamientos de dengue 3, pero en esta oportunidad básicamente concentrados en la provincia de Limón (Región Huetar Atlántica), en donde de acuerdo a los resultados de laboratorio, hasta el mes de octubre circularon simultáneamente los serotipos dengue 1 (72%) y dengue 3 (28%). Durante este año, al DVEMS se notificaron un total de 2309 casos y el laboratorio reportó un

total de 738 (21%) positivos de un total de 3512 sueros procesados. Además, en junio se documentó un caso fatal cuya evolución fue compatible con FDH/SCD. En el suero de este paciente se detectaron anticuerpos IgM, los niveles de anticuerpos IH fueron superiores a 1/5120 para los cuatro serotipos, pero no se logró el aislamiento viral.

En el primer trimestre de 1997, a pesar del sistema activo de vigilancia mediante los servicios de emergencia de los hospitales que por semana envían muestras de pacientes febriles y al análisis de muestras de pacientes sospechosos de dengue que acuden a consulta a los establecimientos de salud en general, el laboratorio procesó un total de 444 muestras y reportó solo 49 casos positivos por anticuerpos IgM, en su mayoría provenientes de la Región Chorotega (45%) y la Huetar Atlántica (35%). Sin embargo, durante este período, de 93 sueros inoculados en cultivo celular, no se logró ningún aislamiento positivo por el virus dengue, esto probablemente como consecuencia de una baja transmisión viral o, eventualmente debido a limitaciones en la calidad de las muestras. No obstante, no fue sino hasta mayo de este año en que se identificó en la provincia de Puntarenas 15 aislamientos de dengue 3, situación que se incrementó y se extendió a la Región Chorotega.

Durante 1997, al Departamento de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud se notificaron 14421 casos de dengue. Como parte del sistema de vigilancia basado en los análisis de laboratorio, en el CNRD se procesaron 7542 sueros de pacientes con posible dengue. En 2837 (37%) se confirmó el diagnóstico por serología y/o identificación viral (Cuadro 1). De enero a setiembre de este año, de los 1261 sueros agudos analizados, se

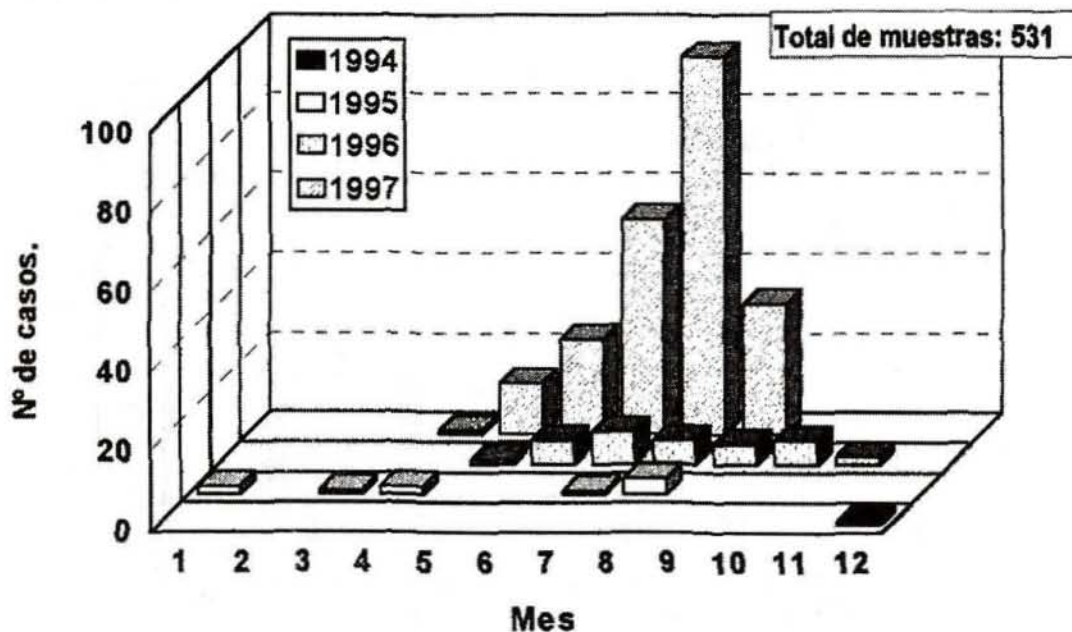


Figura 2. Distribución de los virus dengue 3 por mes. Costa Rica, diciembre 1994-setiembre 1997. Fuente: CNRD-Inciensa.

identificaron por cultivo celular y/o PCR, dos serotipos de dengue. El dengue 3 (n=220; 97%) fue el serotipo dominante y afectó principalmente la Región Pacífico Central. El dengue 1 (n=7; 3%) se detectó con menos frecuencia y básicamente en la Región Huetar Atlántica (Cuadro 2). En comparación a los hallazgos obtenidos en los años anteriores, podemos notar un claro incremento en la circulación del virus dengue 3 en nuestro país (Figura 3).

En Puntarenas, entre mayo y setiembre de 1997, de 371 sueros en los que se determinaron anticuerpos IgM por MAC-ELISA (densidad óptica mayor o igual a 0.2) en 327 (88%) se consideró una infección primaria con niveles de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación menor o igual a 1/1280; mientras que 44 (12%) casos se clasificaron como infección secundaria por presentar títulos de anticuerpos IH mayores a 1/2560 para los cuatro serotipos del virus dengue.<sup>19-24</sup>. Además, se procesaron 14 sueros agudos en los que se identificó por inmunofluorescencia y/o PCR el serotipo dengue 3 y en los cuales no se detectaron anticuerpos IgM por MAC-ELISA, de los cuales, en 8 no se detectaron anticuerpos IH (títulos < 1/10), mientras que en 5 de ellos, a pesar de ser sueros agudos en los que se espera no detectar anticuerpos IH se determinaron niveles que oscilaron entre 1/80 y 1/320 lo que podría ser sugestivo de una respuesta secundaria.

En el Hospital Monseñor Sanabria de Puntarenas, de julio a setiembre de 1997, se internaron 88 pacientes. De ellos, el 56% presentó manifestaciones hemorrágicas de moderadas a severas (Alfaro A. Comunicación personal). Además, asociadas con esta epidemia de dengue, se reportó en el mes de agosto la muerte por FDH de un hombre de 78 años, residente en San José pero

**Cuadro 2**  
Distribución de los serotipos de dengue identificados según Región, Costa Rica, enero-setiembre, 1997

Región	Muestras Procesadas*	Den 1	Den 3
Pacífico Central	478	0	148
Chorotega	197	0	44
Central Norte	262	0	14
Central Sur	66	1	8
Central Este	30	1	2
Occidental	16	0	3
Huetar Atlántica	75	5	0
Brunca	131	0	0
Huetar Norte	6	0	1
TOTAL	1261	7(0.6%)	220 (17%)

(\*): muestras procesadas por cultivo celular y/o PCR.  
Fuente: CNRD-Inciensa

que estando de visita en Costa de Pájaros, Puntarenas, enfermó y falleció en el tercer día de la enfermedad. De su suero se aisló por cultivo celular el virus dengue 3, no se detectó anticuerpo IgM, el título de anticuerpos IH fue < a 1/160 y los análisis por inmunohistoquímica en tejidos, realizado en el CDC, Atlanta dieron positivos. Otro caso fatal corresponde a una mujer de 26 años, vecina de Guanacaste que falleció al quinto día de iniciados los síntomas, ella evolucionó con cefalea, fiebre, mialgias, escalofríos, lipotimia, edema, hepatomegalia y ascitis. En el suero no se detectaron anticuerpos IgM. Los títulos para anticuerpos IH se determinaron en niveles de 1/640 con el

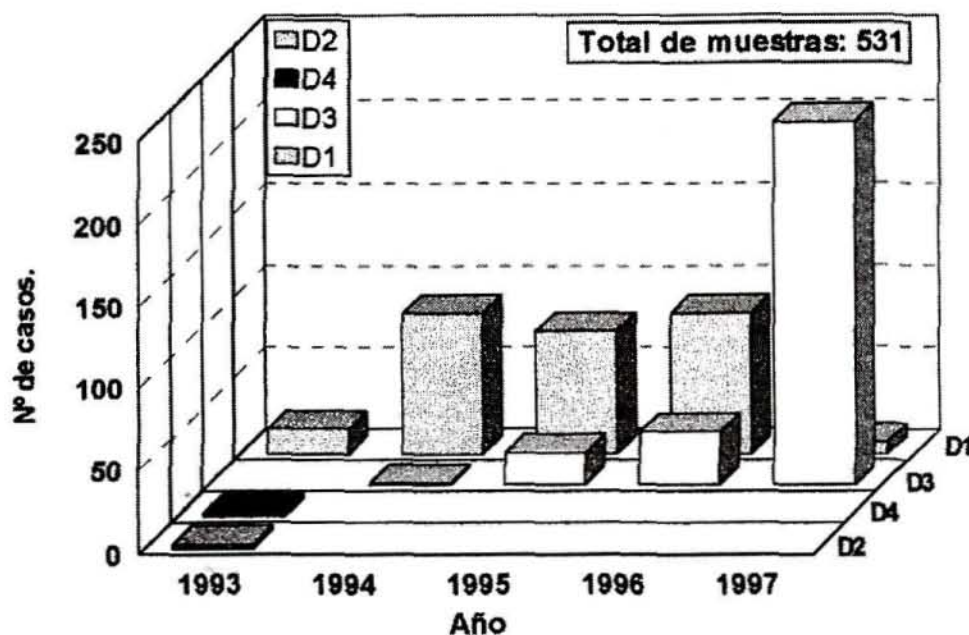


Figura 3. Distribución de los serotipos de dengue por año. Costa Rica, octubre 1993-setiembre 1997. Fuente: CNRD-Inciensa.

dengue 1, 1/160 para el dengue 2, 1/320 con el dengue 3 y 1/1280 para el dengue 4. A pesar de que el suero se inoculó en cultivo de células C6/36, no se logró el aislamiento viral y el CDC reportó negativos los análisis inmunohistoquímicos realizados en los tejidos. Además, un joven de 22 años vecino de Chomes, provincia de Puntarenas, que evolucionó con fiebre, escalofríos, dolores osteomusculares, disnea, hizo hipotensión severa y falleció. En el suero se detectaron anticuerpos IgM anti dengue, niveles de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación mayores de 1/5120 para los cuatro antígenos y en el suero inoculado en cultivo celular no se logró aislar el virus. En estos dos últimos casos, aunque los resultados no son concluyentes de FDH/SCD, las evidencias clínicas, de laboratorio y epidemiológicas sugieren que los pacientes tuvieron infección por dengue.

## Discusión

Antes de 1977, las epidemias de dengue en América fueron esporádicas, pero actualmente la enfermedad es endémica en el Caribe, México, Centroamérica y en la mayoría de los países de Suramérica. Desde 1981, tres de los cuatro serotipos virales (dengue 1, 2 y 4), han circulado en el continente americano. Sin embargo, el virus dengue 3 no ha causado epidemias en la Región desde 1977.<sup>8,9</sup>

Luego de un aumento de la actividad de este serotipo en el continente asiático, el dengue 3 se reintroduce en América en noviembre de 1994 en Managua, donde el Ministerio de Salud respectivo reportó, el aislamiento de este virus en dos niños hospitalizados que presentaron manifestaciones hemorrágicas menores y posteriormente en Panamá se notificó el aislamiento del serotipo 3 en dos personas con fiebre de dengue. La identificación de esta transmisión autóctona de dengue 3 en Centroamérica es importante debido a que una gran proporción de la población americana que vive en zonas infestadas con *Aedes aegypti* es susceptible a este serotipo, en particular las personas menores de 20 años. Igualmente relevante es el aumento del riesgo de FHD/SCD como resultado de infecciones heterotípicas o la introducción de una cepa genotípicamente virulenta. Hasta ahora, los estudios genéticos realizados en el CDC del dengue 3 aislado en Nicaragua, Panamá, Costa Rica, Honduras y El Salvador, indican que el virus corresponde al genotipo de Sri Lanka/India, el cual causó grandes epidemias de dengue hemorrágico en estos lugares durante 1989-1992.<sup>10</sup> Este mismo mecanismo de transmisión explicó también la primera introducción del dengue 3 en África durante 1984-1985.<sup>25</sup>

El diagnóstico virológico del primer caso de dengue 3 en Costa Rica se realizó en el Inciensa en diciembre de 1994. Según los resultados del laboratorio, presentados en este análisis, es evidente que el dengue 1 (95%) circuló en forma predominante en los años 1993-1994 y causó una gran epidemia de fiebre de dengue en Puntarenas y Guanacaste principalmente. Sin embargo, en 1995 la transmisión del dengue 3 fue muy baja,

hasta el punto que a pesar de la vigilancia activa del CNRD, durante ese año solo se documentaron casos esporádicos. Aunque la circulación del dengue 3 fue relativamente silenciosa, para 1996 se reportó un incremento paulatino, hasta que en 1997 abruptamente reemplazó al dengue 1. Algunos investigadores explican este comportamiento como consecuencia de una disminución en el número de individuos susceptibles al dengue 1, una mayor viremia en los pacientes con dengue 3 y una mayor susceptibilidad de las cepas de *A. aegypti* al virus dengue 3.<sup>26</sup>

Algunos factores relacionados con el desarrollo de casos o epidemias de dengue hemorrágico involucran aspectos relacionados con la cepa del virus circulante, con el tiempo transcurrido entre la primera y segunda infección y el hecho de contar con un significativo número de casos con infección secundaria. Así, estudios filogenéticos y observaciones epidemiológicas revelan que virus de ciertos genotipos se asocian con epidemias de dengue moderadas o severas, por ejemplo, el virus dengue 3 se divide en cuatro genotipos y el genotipo 4 (menos infectivo) fue el que se aisló durante la epidemia de fiebre de dengue leve en Puerto Rico y Tahiti.<sup>27</sup> Además, el fenómeno de inmunoamplificación es máximo a los 5 años de la primoinfección y disminuye hasta un 33% a los 7 años.<sup>26</sup> Entre 2 y 9 meses, una infección por un serotipo diferente causa una forma moderada de la enfermedad, situación frecuente en los lugares donde los diferentes tipos de dengue son endémicos.<sup>14</sup>

Los hallazgos de este estudio muestran que en Costa Rica hasta 1996, aún cuando el número de infecciones por dengue 3 confirmadas por el laboratorio fue pequeña (47 casos de 304 aislamientos positivos), sí se documentaron casos de fiebre de dengue con manifestaciones hemorrágicas,<sup>7,27</sup> un caso de FDH y dos muertes relacionadas al dengue.<sup>11,28</sup> Por su parte, en Limón, provincia situada de 0 a 500 metros de altura, con un clima cálido lluvioso, temperaturas de 25 a 30°C y precipitaciones de 2500 a 4500 mm,<sup>29</sup> en donde se concentró el 47% de los casos confirmados, la introducción del dengue 3 no causó una epidemia explosiva a pesar de contar con elementos básicos que favorecen la transmisión de la enfermedad como son la densidad poblacional y niveles altos de infestación del vector. Así, el comportamiento silencioso y la naturaleza abortiva de esta epidemia puede relacionarse con una baja viremia asociada a la infección lo que disminuyó la transmisión del virus dengue 3.<sup>19</sup> Esto se relaciona con el hecho que a pesar de la co-circulación del virus dengue 1 y 3, pocas de estas infecciones fueron secundarias (22%) debido a la baja transmisibilidad del dengue 3 y probablemente estas esporádicas infecciones secundarias ocurrieron poco tiempo después de la primoinfección, favoreciendo una presentación clínica no tan severa.

Los análisis muestran que para 1997, la epidemia de dengue 3 se produjo en el Pacífico Central, zona caracterizada por un clima cálido seco, ubicada entre 0 y 500 metros de altura, con una temperatura de 25 a 30°C y una precipitación de 1500 a 2500mm,<sup>29</sup> en donde en 1993-1994 circuló ampliamente el

dengue 1. Considerando como factor de riesgo el grado de inmunidad o infección secundaria para el desarrollo de la forma severa de la enfermedad,<sup>30-33</sup> en Puntarenas, a pesar de que el tiempo transcurrido entre las dos epidemias es de aproximadamente 4 años, probablemente las complicaciones frecuentes en Asia, Oceanía y Nicaragua<sup>22</sup> asociadas a epidemias de FDH/SCD por el serotipo 3, no se han presentado debido a que en la mayoría de los pacientes (88%) se ha documentado por laboratorio una infección primaria. Es importante mencionar que solo en el 12% (44/371) de las muestras estudiadas por IH, los niveles de anticuerpo sugieren una infección secundaria a flavivirus. Sin embargo, debe resaltarse el riesgo de sufrir FDH/SCD a medida que el dengue 3 se disemine y aumenten los pacientes con infección secundaria.

## Agradecimientos

Los autores agradecen sinceramente a Luis Vargas, Eduardo Espinoza, Francisco Gamboa y Dora Vargas, su colaboración en el procesamiento de las muestras analizadas en este estudio y a Jeannette Collado su ayuda en la preparación del manuscrito.

Este trabajo se llevó a cabo gracias al apoyo económico del Inciensa y el Fondo de Asignaciones Familiares de Costa Rica (FODESAF).

## Abstract

The circulation of the dengue 3 serotype in Costa Rica from October 1993 through December 1997 are presented in this report. The results are based on the laboratory analysis of the samples received and processed in the National Reference Center for Dengue and its correlation with the severe clinical manifestations and epidemiological data with relation to the cases studied within this period. All sera were analyzed to evaluate the presence of IgM specific for dengue by ELISA. The presence of primary or secondary infections was determined by using an inhibition of hemmagglutination assay. Viral isolation was carried out using mosquito C6/36 cells. Positive cultures and serotypes were confirmed by immunofluorescence procedures. Some of the sera were also analyzed by PCR to confirm the presence of viral genomes.

The first epidemic of dengue started in Costa Rica in October 1993 when cases of dengue caused by serotypes 1, 2 and 4 (79%, 10.5% and 10.5% of the isolates, respectively) were documented in Puntarenas and Guanacaste (Central Pacific Region). Data showed that although dengue 3 serotype was initially identified in 1994 in a single case, an increased circulation of this serotype was confirmed in 1995 in cases coming from four of the Health Regions of the country. Genetic analysis carried out at the CDC in Puerto Rico revealed a close relationship of these strains with those isolated in India and Sri Lanka (group III). The first two confirmed cases of dengue hemorrhagic fever (DHF) were also reported in this year. Later, in May 1996, after a relative decline in the activity of the disease, new dengue 3 isolates were

reported. In this opportunity, most of the cases, including a fatal case of DHF, concentrated in the province of Limón (Huetar Atlantic Region) and the majority (72%) corresponding to the serotype dengue 1. The rest (28%) were identified as dengue 3. During 1997, an important increase of the dengue 3 serotype was reported basically in the Central Pacific Region (98% of the positive isolated versus 2 % of the serotype 1) together with a significant increase in the report of hemorrhagic manifestations and dengue-related death. Nonetheless, the expected clinical complications described in other areas have not been described in Costa Rica probably as a consequence of the combination of several factors (a relatively low number of secondary infections, low viremia related to the infection, the time between the first and the second contact with different dengue serotypes, among others). However, the results from this report suggest that an active surveillance program should be kept to detect cases of DHF or dengue shock syndrome that can occur as a consequence of the spreading of the dengue serotype 3 after the circulation of other types.

## Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud. Dengue in the Caribbean 1977. Washington, 1977 (Publicación Científica N° 375).
2. Anónimo. El dengue en las Américas. 1980-1987. Bol Epidemiológico (OPS),1989; 10(1):1-8.
3. Anónimo. Importancia de las virosis transmitidas por artrópodos y roedores para la salud pública en las Américas. Bol Epidemiológico (OPS),1983;(3):1-4.
4. Organización Panamericana de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Washington, DC: OPS, 1995 (Publicación Científica N° 548).
5. Kourí G, Valdéz M, Arguello L et al. Epidemia de dengue en Nicaragua, 1985. Rev Inst Med trop Sao Paulo, 1991;33:365-371.
6. Anónimo. Brote de dengue clásico en Costa Rica. Bol Ofic Sanit Panam,1995;118(1): 56.
7. Organización Mundial de la Salud. Dengue fever: Outbreak of classic dengue. Wkly Epidemiol Rec,1994;69:85-86.
8. Morens DM, Woodall JP and López RH. Dengue in american children of the Caribbean. J Pediatr, 1978; 93(6): 1049-1051.
9. Center for Disease Control and Prevention. Dengue-3 in Central America. Dengue Surveillance Summary,1995; (70): 1-4.
10. Center for Disease Control and Prevention. Dengue type 3 infection- Nicaragua and Panama, October-November 1994. MMWR,1995; 44(2): 21-24.
11. Sáenz E, Víquez M, Lara J et al. Vigilancia virológica del dengue en Costa Rica: octubre de 1993-setiembre 1996. Semana Epidemiológica, 1996; (41) :6-12.
12. Ministerio de Salud, Caja Costarricense de Seguro Social, OPS/OMS. Dengue: Guías para diagnóstico y tratamiento del dengue y dengue hemorrágico. San José:CCSS; 1993.

13. Kuno G, Gómez I and Gubler DJ. An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infections. *J Virol Methods*, 1991; 33:101-113.
14. Martínez E. Dengue hemorrágico en niños. Bogotá. Imprenta del Instituto Nacional de Salud, 1990.
15. Clarke DH, Casals J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination with arthropod borne viruses. *Am J Trop Med Hyg*, 1958;7:561-573.
16. Gubler DJ, Kuno G, Sather GE et al. Mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg*, 1984;33(1):158-16.
17. Lanciotti R, Calisher C, Gubler DJ et al. Rapid detection and typing of dengue, viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, 1992;30:545-551.
18. Zaki SR, Shieh WJ et al. Leptospirosis associated with outbreak of acute febrile illness and pulmonary haemorrhage, Nicaragua, 1995. *The Lancet*, 1996;347:535-536.
19. Gubler DJ, Suharyono W, Lubis Y et al. Epidemic dengue 3 in Central Java, associated with low viremia in man. *Am J Trop Med Hyg*, 1981;30(5):1094-109.
20. Kuberski T, Rosen L, Reed D et al. Clinical and laboratory observations on patients with primary and secondary dengue type 1 infections with hemorrhagic manifestations in Fiji. *Am J Trop Med Hyg*, 1977;26(4):775-783.
21. Guzmán MG, Vázquez S, Martínez E et al. Dengue en Nicaragua, 1994: reintroducción del serotipo 3 en las Américas. *Bol Ofic Sanit Panam*, 1996;121(2):102-110.
22. Churdboonchart V, Bhamarapravati N, Peampraprecha S et al. Antibodies against dengue viral proteins in primary and secondary dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg*, 1991;44(5): 481-493.
23. Rigau JG and the Puerto Rico Association of Epidemiologists. Clinical manifestations of dengue hemorrhagic fever in Puerto Rico, 1990-1991. *Pan Am J Publ Health*, 1997; 1(5): 381-388.
24. Gubler DJ, Sather GE, Kuno G et al. Dengue 3 virus transmission in Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 1986;35(6):1280-1284.
25. Guzmán MG, Huelva G, Sáenz E et al. A dos años de la reintroducción del dengue 3 en las Américas. Qué ha ocurrido?. Enviado para ser publicado a la Revista Panamericana de Salud Pública.
26. Lanciotti S, Chang GJ, Lewis J et al. Molecular evolution and phylogeny of the four serotypes of dengue viruses. In: *Summaries International Seminar on Dengue*, Rio de Janeiro, Brazil, 1996; P-15.
27. Alfaro A. Experiencias del servicio de emergencias del hospital de Alajuela en el diagnóstico de 44 casos de dengue. *Semana Epidemiológica*, 1997; (16): 13-19.
28. Sáenz E, Víquez M, Lara J et al, The National Reference Center for dengue in Costa Rica: a fruitful experience. In: *Summaries International Seminar on Dengue*, Rio de Janeiro, Brazil, 1996; P-77.
29. Atlas Didáctico de Costa Rica JITAN. San José, C.R.:JITAN, 1993.
30. Littau R, Kurane I and Ennis F. Human IgG Fc receptor II mediates antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. *J Immunol*, 1990;144(8): 3183-3186.
31. Morens DM. Antibody-dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease. *CID*, 1994; 19:500-512.
32. Kliks S. Antibody-enhanced infection of monocytes as the pathogenic mechanism for severe dengue illness. *AIDS Res Hum Retrov*, 1990; 6(8):993-998.
33. Guzmán MG, Kourí G, Bravo J et al. Sequential infection as risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) during the 1981 dengue hemorrhagic Cuban epidemic. *Mem Inst Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)*, 1991;86(3):367.