



Boletín CIME

Actualización en el desarrollo de una vacuna contra el Dengue

Real JP, Uema SAN

Av. Medina Allende y Haya de la Torre - 2do piso, Edificio Ciencias 2 - Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba - Ciudad Universitaria - CP 5000 - Córdoba (Argentina)

Correo electrónico: cimecord@fcq.unc.edu.ar

Teléfono: (0351) 5353865 – int. 53359

El Dengue es un problema de salud pública importante a nivel mundial, con una incidencia en crecimiento y sin un tratamiento específico disponible. Son más de 20 los años que se lleva buscando una vacuna segura y efectiva, lo cual significaría un gran avance en el control y la disminución de la mortalidad asociada a la enfermedad. En este boletín se describe el grado de avance en el desarrollo de una vacuna contra el Dengue, conjuntamente con un análisis y una discusión de los resultados arrojados por recientes ensayos clínicos.

Introducción

El Dengue es una enfermedad causada por un virus, que se transmite a través de la picadura de un mosquito perteneciente al género *Aedes*, principalmente el *Aedes aegypti*, vector de la enfermedad.

Desde el punto de vista clínico, es una enfermedad infecciosa que, en ocasiones, produce síntomas graves que requieren hospitalización y hasta pueden ser mortales. El Dengue cursa con una etapa febril que dura 2 a 7 días y que se acompaña de al menos 2 signos clínicos característicos de los que se describen en la Figura 1.

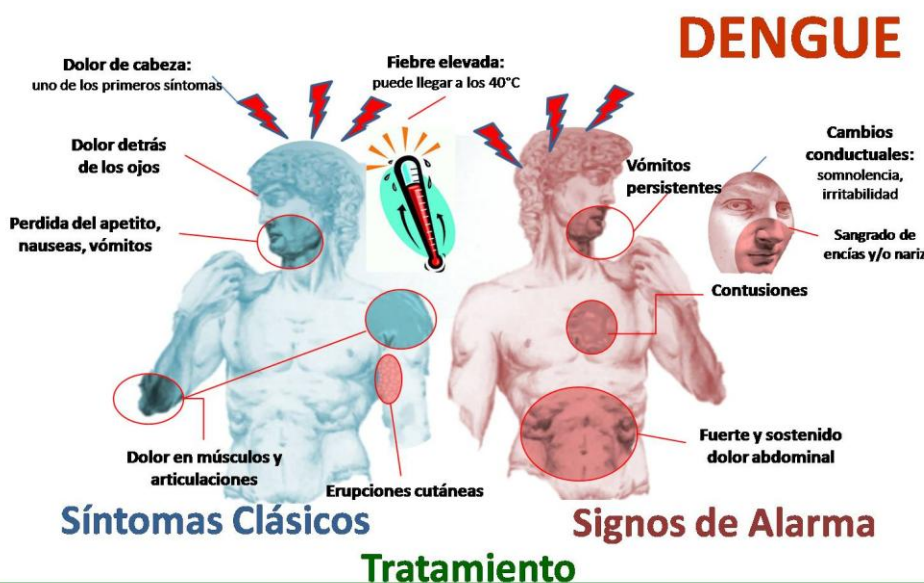


Figura 1: Síntomas y signos de alerta del Dengue.

El Dengue es una enfermedad sistémica y muy dinámica, en la que en pocas horas un paciente puede pasar de un cuadro leve a un cuadro grave.

Por lo tanto, debe realizarse un seguimiento estricto del paciente, estando atentos a los signos de alarma hasta 48 hs de finalizada la etapa febril



Consulta al Médico



Beber abundante agua



Reposo



(Adaptada de: www.dengue.org.br)

En la etapa febril, no es posible predecir si el paciente tendrá síntomas y signos leves todo el tiempo, o si evolucionará a una forma más grave de la enfermedad. Por tal razón, resulta muy importante realizar un estricto monitoreo del paciente, estando atentos a los signos de alarma hasta 48 hs de finalizada esta etapa.¹⁻³

Desde el punto de vista epidemiológico, esta enfermedad constituye un problema creciente para la salud pública mundial. El incremento de la urbanización, la mala provisión de agua potable, la inadecuada disposición y recolección de residuos (fundamentalmente objetos a la intemperie, que ofician de recipientes donde se deposita el agua), favorece el desarrollo del vector y diseminación de la enfermedad. La incidencia del Dengue no solo se ha incrementado 30 veces en los últimos 50 años, sino que también se ha extendido más allá de las regiones tropicales y subtropicales.^{4,5} Resulta complicado dar cifras concretas de incidencia y prevalencia porque, en general, existe una insuficiente e ineficiente notificación, con los casos reportados, muchas veces mal clasificados. Estimaciones recientes indicarían que por año se producen 390 millones de infecciones por Dengue en el mundo (intervalo de confianza del 95%: 284 a 528 millones), de los cuales 96 millones (67 a 136 millones) se manifiestan clínicamente. Serían entre 500.000 y 20.000 el número de casos de hospitalización y muertes, respectivamente.^{2,6}

La gestión médica dirigida al control, atención y reducción de la morbi-mortalidad asociada al Dengue, requiere de una considerable utilización de recursos y supone un costo económico elevado para los sistemas de salud de los países endémicos. Por ejemplo, la epidemia que enfrentó la Argentina en el año 2009, con 27.000 casos de Dengue reportados (la más importante registrada en el país), significó un costo estimado de 9 millones de dólares.⁷ Fue a partir de la espera de este brote que se diseñó el *Plan Nacional de Prevención y Control de Dengue y Fiebre Amarilla*, basándose en la *Estrategia de Gestión y Control Integrado del Dengue* formulada con la participación de la OPS/OMS.⁸ El comportamiento del Dengue en Argentina es epidémico y la ocurrencia de casos se restringe a los meses de mayor temperatura (noviembre a mayo), en estrecha relación con la ocurrencia de brotes en los países limítrofes. Si bien Argentina no ha evidenciado, hasta el momento, una endemia en su territorio, se verifica la presencia del vector en la mayoría de las provincias del país. Por lo tanto, la introducción del virus Dengue se produce a partir de viajeros infectados provenientes de países con circulación viral. Dicha situación epidemiológica requiere un sistema de vigilancia altamente sensible para captar cada caso sospechoso. En esta etapa, denominada pre-brote, se requiere contar con información oportuna y pormenorizada de cada caso, que permita la investigación y acciones de bloqueo tendientes a minimizar el riesgo de transmisión autóctona.³

En febrero de 2015, el *Plan Nacional de Prevención y Control de Dengue y Fiebre Amarilla*, dependiente de la Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores del Ministerio de Salud de la Nación, publicó y difundió las *Recomendaciones Generales para Prevención y Control de Dengue y Chikungunya*. Estas recomendaciones se enmarcaron en la situación epidemiológica que transcurría en los países limítrofes, con una elevada cantidad de notificaciones de Dengue.⁹ En la primera semana de marzo, el Área de Epidemiología de Córdoba confirmó la circulación autóctona de Dengue en la ciudad de Córdoba, limitado inicialmente a barrio Observatorio.¹⁰ El pico del brote se dio dos semanas después y el *Comité de Vigilancia de Dengue y Fiebre Chikungunya* del Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba reportó 139 casos acumulados de Dengue, al 14 de abril de 2015.¹¹ A fines de mayo de 2015, se notificaron oficialmente al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud 156 casos confirmados y 79 casos probables de Dengue, resultando la provincia con el mayor número de casos notificados.¹²

En el informe de OPS/OMS al 5 de junio de 2015, Argentina presentaba un total de 2.263 casos probables de Dengue, todos producidos por el mismo serotipo DEN4 y sin reportes oficiales de Dengue grave ni muertes.¹³ Pero, de acuerdo al Boletín Integrado de Vigilancia del Ministerio

de Salud de la Nación, se han confirmado casos de Dengue de otro serotipo (DEN1), en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y en la provincia de Buenos Aires.¹²

En este contexto, una vacuna segura, efectiva y asequible contra el Dengue representaría un gran avance en el control de la enfermedad y podría ser un instrumento importante para alcanzar los objetivos de la OMS de reducir su morbilidad y mortalidad en, al menos, un 25% y un 50%, respectivamente, para el año 2020.^{14,15}

El propósito de este boletín es describir el grado de avance que existe en el desarrollo de una vacuna contra el Dengue analizando los resultados arrojados por recientes ensayos clínicos.

Desarrollo de una vacuna contra el Dengue

Se conocen cuatro serotipos distintos del virus del Dengue, a saber DEN1, DEN2, DEN3 y DEN4. Cuando una persona se infecta en forma natural con uno de los 4, desarrolla inmunidad serotipo-específica. Es decir, la persona adquiere inmunidad de por vida contra el serotipo en particular (inmunidad homóloga) y una inmunidad parcial, por unos meses, para el resto de los serotipos (inmunidad heteróloga). Teniendo en cuenta esto, para desarrollar una vacuna contra el Dengue es necesario presentar, en forma simultánea, estructuras específicas de cada uno de los serotipos del virus del Dengue, induciendo anticuerpos neutralizantes homotípicos contra cada uno, es decir, una respuesta inmune tetravalente.^{3,16}

La condición de que sea tetravalente es un requisito de seguridad. Existe la teoría de que los perfiles inmunológicos que se desarrollan tras una infección por un serotipo en particular no solo no controlarían una segunda infección con un serotipo diferente, sino que podrían incrementar la probabilidad de sufrir Dengue grave o hemorrágico. Esto se fundamenta en la observación de una mayor cantidad de casos de Dengue grave o hemorrágico en segundas infecciones.¹⁷ Según esta teoría, denominada amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (ADE, *Antibody Dependent Enhancement*), una vacuna candidata, que no lograra respuesta equilibrada entre los serotipos, podría predisponer a los receptores de la vacuna a una enfermedad más grave, o resultar reactogénica en individuos con una respuesta inmune existente para el Dengue.¹⁸

Esta exigencia, de lograr una respuesta balanceada de inmunogenicidad para los 4 serotipos, junto a la ausencia de un modelo animal que desarrolle la enfermedad como el humano y la comprensión incompleta de su inmunopatología, son algunas de las principales dificultades que han enfrentado los investigadores en la búsqueda de una vacuna efectiva contra el Dengue. Tras más de 20 años de intentos, son seis las vacunas candidatas que se encuentran actualmente en desarrollo clínico, siendo la patrocinada por Sanofi Pasteur la que está más próxima a salir al mercado (Figura 2).

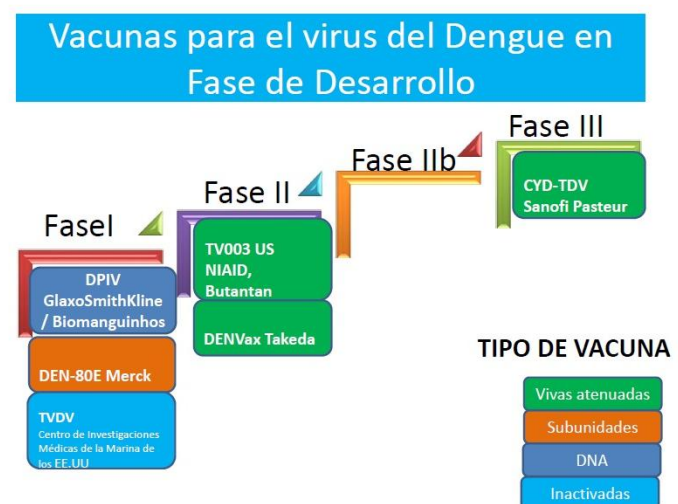


Figura 2: Vacunas candidatas contra el Dengue en fase de desarrollo clínico

Vacuna Tetravalente CYD-TDV (Sanofi Pasteur)

La vacuna tetravalente CYD-TDV de Sanofi Pasteur es una vacuna quimérica a virus vivos atenuados, que se elabora tomando el esqueleto de otro Flavivirus (el de la fiebre amarilla) al que se le reemplazan ciertas proteínas por las respectivas de los cuatro serotipos del virus del Dengue.

Esta vacuna no solo ha demostrado seguridad mediante estudios de tipo I y II, sino que ya son 3 los estudios que han evaluado su eficacia comparativa frente a placebo (ver Tabla 1): un ensayo clínico de Fase IIb¹⁹ y dos multicéntricos de fase III, uno realizado en Asia²⁰ y otro en América Latina.²¹

Tabla 1: Estudios de eficacia comparativa de la vacuna CYD-TDV

Estudio	Estudio Fase IIb	Estudio Fase III	Estudio Fase III
Países participantes	Tailandia	Filipinas, Indonesia, Malasia, Tailandia y Vietnam	Brasil, Colombia, Honduras, México y Puerto Rico (EE.UU)
Nº de pacientes:	4002	10275	20869
Tipo de Participantes	Niños Sanos de 4 a 11 años de edad	Niños Sanos de 2 a 14 años de edad	Niños Sanos de 9 a 16 años de edad
Nº de Centros	1 solo centro	Multicentrico	Multicentrico
Diseño	Ensayo de fase IIb, enmascarado por observador, aleatorizado 2:1, controlado con vacuna antirrábica o placebo	Ensayo de fase III, enmascarado por observador, aleatorizado 2:1, controlado con placebo (solución 0.9% de NaCl)	Ensayo de fase III, enmascarado por observador, aleatorizado 2:1, controlado con placebo (solución 0.9% de NaCl)
Fecha de Inicio	Febrero de 2009	Junio 2011	Junio 2011
Fecha de finalización (estimada)	Febrero 2014 (Completo)	Noviembre 2017	Abril de 2018

Los estudios arriba mencionados evaluaron la eficacia de un esquema de 3 dosis de la vacuna a intervalos de 6 meses (al inicio, a los 6 meses y al año). Los casos clínicos de Dengue (confirmados virológicamente) que aparecieran 28 días después de finalizada la pauta de administración, fueron contabilizados y comparados respecto a la cohorte que recibió placebo. En todos los casos, la vacuna se consideró efectiva si lograba una reducción del riesgo superior al 25% (criterio de valoración principal).

Como criterios de valoración secundarios se evaluó la eficacia de la vacuna frente a cada serotipo específico y, solo en los ensayos de fase III, su capacidad en reducir el riesgo de padecer Dengue grave/hemorrágico y hospitalizaciones por Dengue.

Discusión de los Resultados de los Ensayos Clínicos

Eficacia de la Vacuna

Los resultados obtenidos en los diferentes estudios se resumieron en la Tabla 2, donde puede apreciarse que la vacuna cumple con el criterio de valoración establecido en ambos ensayos de fase III y muestra una eficacia aproximada al 60%. Si bien en el estudio de Fase IIb, no fue superior al 25% (el IC incluye el 25%), debe tenerse en cuenta que el número de personas

expuestas fue reducido. Además, este tipo de estudios no tiene como objetivo arribar a resultados concluyentes de eficacia, sino que se elaboran a modo de preparación de los estudios de fase III.

Tabla 2: Eficacia de la vacuna CYD-TDV

Tipo de estudio Lugar	Serotipo DEN	Vacuna CYD	Placebo	Eficacia (IC 95%)
		Casos/Personas en Riesgo	Casos/Personas en Riesgo	
Fase IIb Tailandia	1	9 / 2.536	10 / 1.251	55,6% (-21,6–84,0)
	2	31 / 2.510	17 / 1.250	9,2% (-75,0–51,3)
	3	1 / 2.541	2 / 1.257	75,3% (-375,0–99,6)
	4	0 / 2.542	4 / 1.263	100,0% (24,8–100,0)
	Total	45 / 2.522	32 / 1.251	30,2 (-13,4–56,6)
Fase III Asia	1	51 / 6.548	50 / 3.210	50,0% (24,6–66,8)
	2	38 / 6.561	29 / 3.253	35,0% (-9,2–61,0)
	3	10 / 6.613	23 / 3.281	78,4% (52,9–90,8)
	4	17 / 6.605	34 / 3.265	75,3% (54,5–87,0)
	Total	117 / 6.526	133 / 3.227	56,5% (43,8–66,4)
Fase III América Latina	1	66 / 12.478	66 / 6.196	50,3 % (29,1–65,2)
	2	58 / 12.495	50 / 6.219	42,3 % (14,0–61,1)
	3	43 / 12.514	82 / 6.213	74,0 % (61,9–82,4)
	4	18 / 12.522	40 / 6.206	77,7 % (60,2–88,0)
	Total	176 / 11.793	221 / 5.809	60,8 % (52,0–68,0)

Casos: número de personas en periodo de observación que reciben el diagnóstico de Dengue después de haber recibido la tercera dosis de la vacuna o el placebo.
Eficacia: reducción porcentual de riesgo de padecer Dengue en el grupo vacunado respecto del grupo que recibió placebo.

Respecto a la protección frente a cada uno de los cuatro serotipos, la vacuna mostró gran variabilidad, siendo estadísticamente efectiva frente a los serotipos DEN 1, 3 y 4 en todos los estudios, no así para el serotipo DEN2. Solo mostró una eficacia superior al 25% para este serotipo en el estudio realizado en América Latina, donde la protección ofrecida fue la menor comparada con los restantes serotipos. Este dato adquiere relevancia si se considera el hecho que DEN2 es el que produce casos severos de Dengue con mayor frecuencia.²²

Las efectividades hasta aquí mencionadas son aquellas medidas por protocolo, es decir que se basan en el número de casos de Dengue observados después de la tercera dosis. Cuando estas efectividades fueron comparadas con las logradas desde el inicio del esquema (primera dosis), se observó que no existían diferencias significativas. Si bien, no pueden obtenerse conclusiones al respecto porque la mayoría de los pacientes recibieron las 3 dosis, este dato dejaría abierta la pregunta respecto al número de dosis necesarias para conseguir una efectividad aceptable.^{20,21}

Por otro lado, la efectividad fue subanalizada en función del grupo de edad de los pacientes expuestos. En el estudio realizado en Asia²⁰, se encontraron niveles de efectividad más elevados en los pacientes de mayor edad: 74% (IC95: 59% a 84%) en los participantes de 12 a 14 años; 60% (IC95: 49% a 68%) en los de 6 a 11 años y 34% (IC95: 12% a 50%) en los de 2 a 5 años. En el estudio realizado en América Latina²¹, no se observaron diferencias estadísticamente significativas según la edad, pero tampoco fueron incorporados pacientes menores de 9 años. Estos resultados dejan incertidumbre respecto a cuál sería la edad indicada a partir de la cual la

vacuna debería recomendarse, especialmente si se pretende incorporarla dentro de un calendario de vacunación.

Otro resultado que vale la pena mencionar, es la comparación de los niveles de protección entre aquellos pacientes que presentaban anticuerpos basales contra el Dengue, respecto de aquellos que no. En el estudio realizado en América Latina²¹, previo a la aplicación de la primera dosis, se obtuvieron muestras de sangre en un grupo reducido de pacientes para diferenciar ambos grupos. Al comparar los niveles de protección, se pudo observar que la eficacia de la vacuna fue mayor en los participantes seropositivos (83,7% IC95: 62,2% a 93,7%) que en los seronegativos (43,2% IC95: -61,5% a 80,0%). En este último grupo, el intervalo de confianza muestra falta de significación estadística, lo cual podría cuestionar la utilidad de la vacuna en personas sin exposición previa, como por ejemplo personas que viajan desde zonas no endémicas. Dado que el número de pacientes fue reducido, serán necesarios más estudios para confirmar o rechazar esta hipótesis.

Seguridad y casos graves de Dengue

En lo que respecta a seguridad, los estudios no revelaron incremento en el número de eventos adversos graves en los pacientes vacunados, respecto al grupo placebo. Puede decirse que la información aportada por el estudio de más de 30.000 niños, alivió los temores respecto a la teoría del ADE o amplificación de la infección dependiente de anticuerpos, en relación a que la vacuna podía predisponer a los vacunados a mayores tasas de Dengue grave. Dicho análisis no solo mostró una menor proporción de casos graves, sino por el contrario, hubo una reducción significativa del riesgo, produciéndose también una disminución en el número de hospitalizaciones (Tabla 3). Si bien estos datos serían de suma importancia desde el punto de vista clínico y económico, el número de casos observados es demasiado pequeño como para arrojar conclusiones definitivas. El protocolo de ambos estudio de Fase III^{20,21} incluye un seguimiento hospitalario de otros 4 años, actualmente en curso.

Tabla 3: Eficacia de la vacuna CYD-TDV en prevenir casos de Dengue grave y hospitalizaciones por Dengue

Dengue grave	Casos grupo vacunado	Casos grupo placebo	Eficacia (IC 95%)
Estudio Fase III Asia	8	20	80,8% (42,7–94,7)
Estudio Fase III América	1	11	95,5% (68,8–99,9)
Hospitalizaciones			
Estudio Fase III Asia	40	61	67,2% (50,3–78,6)
Estudio Fase III América	17	42	80,3% (64,7–89,5)

Cabe destacar que los resultados de todos estos estudios^{20,21}, que surgen de un número reducido de casos o un escaso tiempo de seguimiento (13 meses) deben interpretarse con cautela y requieren confirmación. Estudios futuros o con mayor tiempo de seguimiento, serán necesarios para determinar la seguridad a largo plazo y saber si existirá o no atenuación de la protección.

Conclusiones

El Dengue es un problema de salud pública significativo a nivel mundial, que podría ser susceptible de controlar con la introducción de una vacuna segura y eficaz. Los resultados obtenidos por la vacuna desarrollada por Sanofi Pasteur, considerando los ensayos clínicos de

fase III en curso, son altamente prometedores y representan un importante avance en la investigación sobre las vacunas contra esta enfermedad. Sin embargo, son muchas las preguntas sin respuesta respecto a su efectividad y pauta de administración, siendo también incierto si los datos aportados serán suficientes para su introducción dentro del selecto grupo de especialidades medicinales aprobadas.

Al tiempo que se avanza en la investigación de las vacunas, los sistemas sanitarios de los países endémicos deberían abordar preventivamente el problema con un enfoque de riesgo, implementar programas eficaces de vigilancia de la enfermedad, con diagnósticos estandarizados²³. Ello permitiría cuantificar el impacto que tendrían las vacunas sobre la incidencia o prevalencia de la enfermedad y estudiar en mayor profundidad la inmunopatogénesis del Dengue. Esta información es crucial en el desarrollo de nuevas medidas preventivas o de tratamiento.

Agradecimientos: a los Dres. M. Mazzieri, S. Nuñez Montoya y G. Calfa por la lectura crítica del manuscrito.

Revisoras externas: Mgter. Marcela Fontana y Dra. Elena M. Vega.

Comité Editorial (Resolución HCD 320/2015 FCQ-UNC)

Dres. María Rosa Mazzieri, Susana Nuñez Montoya, Gastón Calfa, María Gabriela Ortega, Paulina Paez y Flavia Bollati.

Bibliografía

1. Bäck AT, Lundkvist A. Dengue viruses – an overview. *Infection Ecology and Epidemiology* [Internet]. 2013 [Acceso: 29/04/2015]; 3:19839 [21 pág.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3402/iee.v3i0.19839>
2. OMS. Centro de prensa [Internet]. Dengue y dengue hemorrágico. Nota descriptiva N° 117. Febrero de 2015 [Acceso: 29/04/2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>
3. Ministerio de Salud [Internet]. Enfermedades infecciosas: Dengue, Guía Para El Equipo De Salud. 3ra Edición. Argentina. Ministerio de Salud; 2013 [Acceso: 29/04/2015]. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/medicoscomunitarios/images/stories/Equipos/problemas-priorizados-salud/guia-dengue.pdf>
4. Murray NEA, Quam ME, Wilder-Smith A. Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. *Clin Epidemiol.* 2013;5:299-309..
5. World Health Organization. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Second WHO report on neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2013
6. Guzmán MG, García G, Kourí G. Temas de Actualidad: El Dengue y Dengue Hemorrágico: Prioridades de Investigación. *Rev Panam Salud Pública.* 2006; 19(3):204-15.
7. Tarragona S, Monteverde M, Marchioni S, Caporale J, Pereiro AC, Palacios JM. Dengue en la Argentina: un análisis económico del impacto de la epidemia de 2009. *Salud Colect.* 2012 Mayo-Agosto;8(2):151-62.
8. Plan Nacional de Prevención y Control del Dengue y la Fiebre Amarilla [Internet]. Buenos Aires (Argentina): Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación [acceso 05/05/15]. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/dengue/index.php/institucional/plan-nacional-de-control-del-dengue-y-la-fiebre-amarilla>
9. Plan Nacional de Prevención y Control de Dengue y Fiebre Amarilla. Recomendaciones Generales para Prevención y Control de Dengue y Chikungunya. Buenos Aires: Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores, Ministerio de Salud; 2015 [Acceso: 05/05/2015]. Disponible en: <http://www.reporteepidemiologico.com/wp-content/uploads/2015/02/DETV-Recomendaciones-generales-para-prevenci%C3%B3n-y-control-de-dengue-y-fiebre-chikungunya-Feb-2015.pdf>
10. Vigilancia de dengue. Reporte Epidemiológico de Córdoba [Internet]. 2015 marzo 31; (1554):2 [Acceso: 05/05/2015]. Disponible en: <http://www.reporteepidemiologico.com/>

11. Diez nuevos casos de dengue durante la última semana. Reporte Epidemiológico de Córdoba [Internet]. 2015 abril 16; (1564):2 [Acceso: 05/05/2015]. Disponible en: <http://www.reporteepidemiologico.com/>
12. Vigilancia de dengue. Reporte Epidemiológico de Córdoba [Internet]. 2015 junio 12; (1598):2-3 [Acceso: 12/06/2015]. Disponible en: <http://www.reporteepidemiologico.com/>
13. PAHO/WHO. 2015: Number of Reported Cases of Dengue and Severe Dengue (SD) in the Americas, by Country - June 5, 2015 (EW 20) [Internet]. Annual Cases Reported of Dengue. Washington (USA): Pan American Health Organization; 2015 [Acceso: 12/06/2015]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rdmore&cid=6290&Itemid=40734&lang=en
14. Beatty ME, Beutels P, Meltzer MI, et al. Health economics of dengue: a systematic literature review and expert panel's assessment. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84:473–88.
15. Organización Mundial de la Salud (2012). Global Strategy for dengue prevention and control, 2012–2020 [Acceso: 29/04/2015]. Disponible en: <http://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/>
16. Galán Herrera JF. Dengue: ¿dónde nos encontramos en el desarrollo de una vacuna eficaz? *Med Sal Soc* [Internet]. Ene-Abr 2014. [Acceso: 29/04/2015]. Disponible en: http://www.medicinasaludsociedad.com/site/images/stories/4_2/06.pdf
17. Sasaki T, Seththapramote C, Kurosu T, et al. Dengue virus neutralization and antibody-dependent enhancement activities of human monoclonal antibodies derived from dengue patients at acute phase of secondary infection. *Antiviral Res.* 2013 Jun;98(3):423-31
18. Guzman MG, Alvarez M, Halstead SB. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: an historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch Virol.* 2013 Jul;158(7):1445-59
19. Sabchareon A1, Wallace D, Sirivichayakul C et al. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated, CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren: a randomised, controlled phase 2b trial. *Lancet.* 2012 Nov 3;380(9853):1559-67.
20. Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SR, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observer-masked, placebo- controlled trial. *Lancet.* 2014;384:1358-65.
21. Villar L, Dayan GH, Arredondo-García JL, et al. Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in children in Latin America. *N Engl J Med.* 2015;372:113-23.
22. Vaughn DW, Green S, Kalajanoorj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorns S, et al. Dengue viremia titer, antibody, response pattern and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis.* 2000;181:2-9.
23. Terazón Miclín O, Terazón Miclín M. Enfoque de riesgo en la prevención del dengue. *MEDISAN* [Internet]. 2012 [Acceso: 02/06/2015];16(9):1428. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol_16_9_12/PDF/san14912.pdf