

ARTÍCULO ESPECIAL

Treinta años después de la epidemia cubana de dengue hemorrágico en 1981

Dra. C. María G. Guzmán Tirado¹

RESUMEN

En 1981, Cuba reportó la primera epidemia de dengue hemorrágico en las Américas, en la cual se reportaron más de 344 203 enfermos, con 10 312 casos graves y muy graves, y 158 fallecidos. En estos 30 años con posterioridad a la epidemia, las acciones de vigilancia, control, e investigaciones realizadas han permitido que el país se mantenga libre de dengue, aunque se han reportado epidemias y transmisiones que han sido interrumpidas. En este trabajo se resumen aspectos de interés relacionados con esta epidemia así como con la vigilancia de laboratorio y los resultados de algunas de las investigaciones realizadas.

Palabras clave: dengue, dengue hemorrágico, Cuba, epidemia de 1981.

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES DE DENGUE EN LAS AMÉRICAS Y EN CUBA ANTES DE 1981

El dengue, enfermedad viral febril aguda causada por cualquiera de los 4 serotipos del virus dengue (Den 1, 2, 3, 4) y transmitida al hombre por la picada del mosquito *Aedes aegypti*, se reconoce en la región de las Américas desde el siglo XVIII; aunque epidemias de una enfermedad tipo dengue han sido reportadas tan temprano como en 1699 en Panamá. En 1780 se describe al dengue por primera vez durante una epidemia ocurrida en Filadelfia. Del período 1780 a 1800 hay poca información disponible. Durante los siglos XIX y primera mitad del siglo XX la literatura recoge epidemias ocurridas principalmente en el Caribe y sur de EE. UU.^{1,2}

A principios de los años 50, el virus dengue (Den 2) es aislado por primera vez en la región, en Trinidad Tobago en condiciones no epidémicas; este representa el primer aislamiento de dengue en la región. En el período de 1960 a 1980, la

región reconoce 3 grandes epidemias: Den 3 en 1963-1964, Den 2 y Den 3 en 1968-1969 y la epidemia de Den 1 de 1977-1978. Estas epidemias caracterizadas por el cuadro benigno de la enfermedad (la fiebre del dengue, FD) afectaron principalmente a países del Caribe, Centroamérica y algunos países de Sudamérica.^{2,3} Este período se caracterizó por una baja endemicidad y la presencia de casos aislados de dengue hemorrágico (DH), la forma severa de la enfermedad.¹

Después de 1945, en que se observa una epidemia de dengue en La Habana, no se reportaron casos clínicos sospechosos de dengue hasta la introducción del virus Den 1 durante la pandemia de 1977.^{4,5} Estudios serológicos realizados a inicios de los años setenta confirman la no circulación de virus dengue en ese período.⁶ Durante la epidemia de Den 1 de 1977 se registraron más de 400 000 casos, todos con el cuadro benigno de la enfermedad.^{5,7} Estudios serológicos realizados con posterioridad demostraron que 44,46 % de la población cubana se había infectado con este serotipo viral y estaba a riesgo de una infección secundaria si otro serotipo del virus dengue entraba al país.⁶

¹ Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf". La Habana, Cuba

LA EPIDEMIA CUBANA DE DENGUE HEMORRÁGICO DE 1981

Antecedentes: a finales de 1980, en la región de las Américas se observaba una baja circulación del virus Den 2. Por otra parte, Cuba contaba con casi la mitad de su población a riesgo de una segunda infección por otro serotipo de dengue. Finalmente, a principios de 1981 se reporta por primera vez en la región la introducción del virus Den 4 (Dominica) y la primera epidemia de DH, en este caso en Cuba.^{1,3,8}

Datos de la epidemia: a finales de mayo de 1981 se reconoce la epidemia. Estudios epidemiológicos retrospectivos demostraron que comenzó a finales de 1980 en 3 municipios del este, centro y oeste del país; se reportaron casos en la misma semana epidemiológica en personas sin antecedentes de viajar fuera del país ni de su localidad. En total se registraron 344 203 casos con 10 312 casos graves y muy graves, y 158 fallecidos (de ellos 101 niños) (tabla).

Cuadro clínico: el DH se observó tanto en niños como en adultos.^{8,9} En los primeros, el cuadro clínico fue similar al reportado en el sudeste asiático.⁹⁻¹¹ En los adultos se registró por primera vez en forma epidémica.¹² El choque fue más frecuente en los niños pero más severo en los adultos. Estudios serológicos demostraron que el DH se observó en casos con infección secundaria Den1/ /Den 2, con una frecuencia de 1 por cada 23 infecciones secundarias en niños y en 1 por cada 79 adultos.¹³ El estudio de los casos permitió identificar por primera vez los signos de alarma clínicos de la enfermedad.⁹

Tabla. Datos generales de la epidemia cubana de dengue hemorrágico de 1981

Reconocimiento a finales de mayo de 1981
Agente etiológico: virus Den 2, genotipo asiático
Total de casos reportados: 344 203 con 10 312 casos graves (9 203) y muy graves (1 109) y 158 fallecidos
Letalidad: 0,49 x 1 000 pacientes
Mortalidad: 1,58 x 100 000 habitantes
Duración de la epidemia: 4 meses
Fecha del último caso reportado: 10 de octubre de 1981
Meses de mayor reporte de casos: junio, julio y agosto
Día de mayor reporte de casos: 6 de julio con 11 400 casos
Pacientes hospitalizados en 4 meses: 116 151

Procedimiento, control y eliminación de la epidemia: como parte de las acciones para su enfrentamiento se establecieron las guías clínicas de diagnóstico y manejo clínico de los casos donde la hospitalización temprana y la hidratación apropiada desempeñaron un papel fundamental en la evolución adecuada de los enfermos. Para la mejor atención y vigilancia de los pacientes, las escuelas se habilitaron como hospitales, con una red para el traslado inmediato de los pacientes que lo requirieran a los hospitales. El personal médico fue redistribuido para una mejor atención a los pacientes. Se crearon grupos de expertos para el entrenamiento y la capacitación rápida del personal médico y paramédico. En este contexto, los estudiantes de medicina desempeñaron un papel fundamental en la vigilancia clínica (seguimiento de los parámetros clínicos y vigilancia de los signos de alarma) de los pacientes hospitalizados.

Para el control y la eliminación de la epidemia se estableció una campaña intensiva para la erradicación del vector, donde la comunidad tuvo un papel fundamental.^{7,14} Las acciones establecidas permitieron eliminar la epidemia en 4 meses, reportándose el último caso el 10 de octubre de 1981.

Diagnóstico del agente etiológico y vigilancia de laboratorio: los estudios serológicos a partir de sueros colectados en los primeros días de comienzo de la fiebre en pacientes con un cuadro clínico sospechoso de la enfermedad permitieron detectar niveles elevados de anticuerpos a flavivirus. Estos resultados, unidos al cuadro clínico de la enfermedad y los antecedentes epidemiológicos en la población, permitieron brindar el diagnóstico presuntivo de dengue y comunicar que se estaba en presencia de una epidemia de DH. Los estudios de aislamiento viral en muestras colectadas en la etapa aguda de la enfermedad, permitieron aislar e identificar al virus Den 2 como el agente etiológico de la epidemia en los primeros días de identificada esta.¹⁵⁻¹⁷

Para un mejor seguimiento y caracterización de la epidemia se estableció la vigilancia serológica que transcurrió en 3 etapas:

1. La primera hasta el 24 de julio, tuvo como objetivo identificar el agente etiológico de la epidemia y confirmar la presencia de la trans-

misión en las diferentes provincias. Durante esta etapa se procesaron 4 000 monosueros de pacientes.

2. Durante la segunda etapa, se trabajó en la confirmación de los casos clínicos mediante el estudio de sueros pareados con el fin de determinar la eficacia del diagnóstico. En esta etapa se procesaron 2 017 pares de sueros.
3. En la tercera y última etapa se estudió 100 % de los casos sospechosos de dengue con el objetivo de certificar la eliminación de la epidemia. Durante todo el período de la epidemia se mantuvo la vigilancia virológica que permitió aislar el virus en muestras de 22 pacientes de FD, DH y fallecidos.^{15,17}

Investigaciones realizadas en el transcurso de la epidemia: las primeras investigaciones realizadas durante y después de eliminada la epidemia permitieron a) caracterizar el cuadro clínico de DH tanto en niños como adultos con una infección confirmada por Den 2; b) caracterizar clínica, virológica y patológicamente el cuadro observado en 13 niños fallecidos por DH; c) identificar los factores de riesgo de DH en varios grupos de pacientes con una infección confirmada; d) caracterizar el agente etiológico de la enfermedad; e) establecer los criterios serológicos de infección primaria y secundaria en las condiciones de Cuba; f) introducir la nueva tecnología para el diagnóstico.^{9-12,15-23}

PERÍODO 1982-2011

En los 30 años transcurridos después de la epidemia de DH de 1981, se ha observado a escala global el incremento del dengue y el DH, lo que se refleja en el aumento del reporte de casos, epidemias y la extensión geográfica del vector y de la transmisión de dengue. Hoy se estima que 1/3 de la población mundial vive en áreas de riesgo de infección. La enfermedad se reporta en el Sudeste asiático, Pacífico Occidental, las Américas, África y Mediterráneo Oriental. Los 4 serotipos virales se han identificado en todas estas áreas.^{24,25}

Solo en la región de las Américas, el dengue se ha incrementado en alrededor de 6 veces y el DH en 12 veces. En 2010 se reportaron 1 663 276 casos con 48 954 casos de DH y 1 194 fallecidos;

30 países reportan cocirculación de 2 serotipos o más. Las epidemias se han hecho más frecuentes, se acortan los ciclos entre estas (http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&task=view&id=4497&Itemid=3526&limit=1&limitstart=3).²⁶

En este contexto tan complejo, Cuba ha trabajado durante todos estos años para mantener al país libre de transmisión. Para ello cuenta con un fuerte programa de vigilancia clínico-epidemiológico con soporte de laboratorio, el cual de conjunto con el programa de control y erradicación del vector han permitido que el país se mantenga libre de epidemia de dengue en un contexto regional muy complejo. Para ello la voluntad política, la participación de la comunidad y la intersectorialidad de las acciones han sido decisivas.

Diagnóstico y vigilancia: en estos 30 años además del fortalecimiento del diagnóstico, la vigilancia y las actividades de referencia, se han desarrollado investigaciones en las diferentes disciplinas relacionadas con dengue que han apoyado los programas de vigilancia y control del país pero también han brindado nuevo conocimiento para Cuba y el mundo, que es reconocida hoy como el único país que ha sido capaz de mantenerse libre de dengue y de eliminar las transmisiones cuando estas se han producido. A su vez es considerada un centro de excelencia para la capacitación del personal; en su actividad de colaboración internacional y referencia ha apoyado a un gran número de países de la región en el enfrentamiento y control del dengue.

El país trabaja en el perfeccionamiento de su vigilancia integrada (ambiental, entomológica, epidemiológica, clínica y de laboratorio) con la participación de todos los niveles del sistema de salud. La vigilancia de laboratorio está dirigida, en particular, a la identificación temprana y confirmación de la transmisión, seguimiento y caracterización de las epidemias y su agente etiológico, y a la certificación del cese de la transmisión. A partir de 1997 se estableció la vigilancia activa para la búsqueda de casos y confirmación del diagnóstico. Para ello, han sido fundamentales: el papel de la atención primaria de salud, la red de laboratorios provinciales con capacidad para el diagnóstico serológico utilizando una tecnología cubana, el UMELISA Dengue IgM (desarrollada por el Cen-

tro de Inmunoensayos, CIE), la actividad de referencia nacional (a cargo de los Laboratorios Nacionales de Referencia del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, IPK) y la integración activa de todos los niveles del sistema para el análisis dinámico de las situaciones epidemiológicas. Como parte de la atención integrada, la vigilancia del vector desempeña un papel decisivo, para identificar su incremento y sus sitios de cría para la toma de acciones inmediatas que permitan disminuir el riesgo, además de la vigilancia de la resistencia a insecticidas. Para el desarrollo de estas actividades se cuenta con una red de laboratorios de entomología a lo largo de todo el país, así como el laboratorio nacional de referencia de entomología en el IPK y la Dirección Nacional de Vigilancia y Lucha Antivectorial. Como parte de la vigilancia integrada, la vigilancia clínico epidemiológica, desarrollada a todos los niveles del sistema nacional de salud permite identificar tempranamente los riesgos, notificar los casos de manera oportuna, estudiar la distribución temporo-espacial de estos, así como trazar y evaluar las estrategias para su eliminación. Estas acciones están insertadas en el programa cubano de control sanitario internacional.

RESULTADOS DE ALGUNAS INVESTIGACIONES DESARROLLADAS EN EL PERÍODO

A diferencia de lo observado en el Sudeste asiático y la mayoría de los países de la región de las Américas, las epidemias en Cuba han sido eliminadas. Con posterioridad a la epidemia de 1981, se han reportado las epidemias de 1997 (Den 2) en Santiago de Cuba y la de 2001-2002 (Den 3) que afectó principalmente a la capital.²⁷⁻³¹ Con posterioridad a 2004 se han reportado transmisiones a partir de casos importados que han sido controladas y eliminadas. En 2006 se reportó una epidemia que también fue eliminada (<http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/eid-eer-2006-oct24ht>). En este contexto epidemiológico, las investigaciones realizadas han permitido brindar nuevo conocimiento en el campo del dengue. Algunos de los principales resultados se resumen a continuación:

1. Los estudios virológicos, inmunológicos y clínico-epidemiológicos realizados han permitido

caracterizar las epidemias de 1981, 1997 y 2001-2002. Han brindado datos de importancia para su diagnóstico temprano, seguimiento y conocimiento de factores determinantes en su control y eliminación, así como en el mejor conocimiento del dengue.

2. La infección secundaria por un serotipo diferente al de la primoinfección ha sido confirmada como factor de riesgo principal en el desarrollo de DH. En el contexto de una infección secundaria, se han identificado secuencias virales de mayor riesgo de DH (Den 1/Den 2; Den 1/Den 3) y se ha observado la mayor producción de IL-10 en estos pacientes. Estudios realizados demostraron las mayores tasas de DH en niños comparados con adultos con una infección secundaria, así como la identificación de casos de DH durante las infecciones terciarias. Finalmente, los estudios sero-epidemiológicos han permitido conocer las tasas de casos de dengue y DH según tipo de infección y serotipo para las condiciones de Cuba.^{13,20,30-35}
3. Se demostró por primera vez el mayor riesgo de DH en la medida en que el intervalo entre las infecciones es mayor. Asociada a esta observación se demostró el incremento de la especificidad de la respuesta humoral en el tiempo con disminución de los anticuerpos neutralizantes heterólogos y una respuesta de células T de memoria de reactividad cruzada aun después de 20 años de la primoinfección.³⁶⁻³⁸
4. Identificación de la raza blanca, el asma bronquial, la diabetes mellitus y la anemia de células falciformes como factores de riesgo de DH.^{20,23}
5. Demostración de la mayor asociación de DH en individuos europoides, con una respuesta de células T de memoria más fuerte y de reactividad cruzada en blancos comparados con negros inmunes a dengue y con mayor producción de IFN alfa en individuos blancos.³⁹⁻⁴³
6. Demostración del incremento y diferentes niveles de expresión de quemoquinas y citoquinas (CCL2, CCL3, TNF α , IFN γ , IL-10 y TGF β) en individuos con diferentes antecedentes inmunes de dengue, lo cual sugiere que la inmunidad previa a un serotipo tiene una fuerte influencia en la respuesta inmune temprana en la reinfección.^{34,35,44}

7. Identificación de genes de respuesta inmune asociados a severidad (HLA clase IA*31,B*15, Fc g RIIa HH131, MICA*008 y MICB*008) o protección (HLA clase II DRB1*04, DRB1*07, Fc g RIIa RR31).^{41,45}
8. Demostración del papel de los virus en la severidad de las epidemias cubanas con cepas y genotipos con capacidad para el desarrollo de DH. Demostración de un patrón de evolución en las proteínas no estructurales en cepas aisladas en diferentes momentos de la epidemia.⁴⁶⁻⁵²
9. Incremento de la severidad de la epidemia en la medida en que transcurre en el tiempo con posible selección de variantes virales de mayor virulencia, ya sea por escape a la neutralización (hipótesis de mutantes de escape) o por evolución viral.^{20,23,49,53}
10. Hipótesis integral que explica el desarrollo de epidemias de DH, en los cuales las características del hospedero, el virus y las condiciones epidemiológicas desempeñan un papel fundamental.^{8,23,54}
11. Las investigaciones dirigidas al mejor conocimiento clínico de la enfermedad han permitido caracterizarla, conocer sus complicaciones, reconocer y validar los signos de alarma clínicos y demostrar las secuelas clínicas de la infección por dengue aun 1 año después de la infección, así como su posible relación a un fenómeno de autoinmunidad.^{9,21,55-61}
12. Los estudios dirigidos al desarrollo e implementación de métodos de diagnóstico, la caracterización de la respuesta humoral en pacientes con infección primaria o secundaria, y el estudio de la utilidad diagnóstica de diferentes muestras clínicas, han sido de importancia en la vigilancia de laboratorio (serológica, virológica y molecular) y en el mejor conocimiento de la enfermedad.⁶²⁻⁷³
13. Se han producido reactivos biológicos como anticuerpos monoclonales, estuches diagnósticos para la determinación de anticuerpos IgM a dengue mediante el sistema ultramicroanalítico (SUMA), entre otros, que han contribuido al diagnóstico serológico y a un mejor conocimiento de este agente.⁷⁴⁻⁷⁶
14. Se ha demostrado además, que la sostenibilidad de las acciones en la lucha contra *Aedes aegypti*, solo es posible a través de una acción consciente, sistemática, promotora y preventiva de las personas y los grupos, lo cual en el contexto cubano se ha dado en llamar “autofocal” y que se refiere al “conjunto de acciones encaminadas a detectar y eliminar posibles criaderos de mosquitos. Tiene como eje central la autoinspección que deben realizar las familias y los colectivos laborales en sus viviendas y centros, con periodicidad semanal”.
15. En este período se han realizado investigaciones para la mejor implementación de la vigilancia integrada, la institucionalización de las estrategias comunitarias en la lucha contra el dengue y la evaluación de la intervención de la comunidad, así como el estudio de nuevos métodos de control.⁷⁷⁻⁸²
16. La estimación de los parámetros epidemiológicos de interés durante las epidemias, la estacionalidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, las investigaciones dirigidas a conocer el peso entomológico para la transmisión de dengue, el desarrollo de métodos predictivos de la severidad de dengue, el desarrollo de modelos para el análisis de las condiciones sociales que favorecen la transmisión, así como el desarrollo de modelos para medir la evolución de la infestación de *Ae. aegypti* y del resultado de las intervenciones, han formado parte de las principales investigaciones realizadas en este período.^{78,79,83-89}
17. Las investigaciones dirigidas a conocer el impacto económico del dengue han permitido conocer el costo en períodos de transmisión y de no transmisión, el costo de los programas de prevención, del control del caso clínico, los costos directos e indirectos para la familia, el costo/efectividad de las estrategias de participación de la comunidad y el costo/efectividad de las acciones vectoriales para el control de *Ae. aegypti*.⁹⁰⁻⁹³
18. El desarrollo de un candidato vacunal cubano para el control del dengue constituye una de las principales líneas de investigación del país. Como parte de estas investigaciones se estableció un modelo para la obtención de vacunas atenuadas, se caracterizó la respuesta inmune humoral y celular inducida por las

proteínas de membrana y su precursor, se estableció el modelo de monos para la evaluación de candidatos vacunales de dengue, se evaluó la capacidad inmunogénica y protectora de la proteína de envoltura del virus Den 4 expresada en *Pichia pastoris*. Hoy se cuenta con 2 candidatos vacunales basados en una estrategia recombinante (dominio III de la proteína de envoltura de virus dengue y capsido/dominio III) que han brindado resultados satisfactorios en los estudios preclínicos.^{74,94-121}

COLABORACIÓN INTERNACIONAL

En este período, el país ha mantenido una fuerte actividad de colaboración con países de esta y otras regiones geográficas, así como con las organizaciones internacionales más involucradas en el estudio del dengue (Organización Panamericana de la Salud [OPS], Organización Mundial de la Salud [OMS], Programa Mundial para la Investigación y Fortalecimiento en Enfermedades Tropicales [TDR], Iniciativa para una Vacuna para Dengue [DVI], y otros). Hay varios elementos que han permitido por una parte que el país aporte sus conocimientos y capacidades para el mejor control del dengue en otros países y, por otra parte, tener un mejor conocimiento de la situación mundial y de los aportes de las estrategias e investigaciones que otros países y organizaciones internacionales están realizando para el enfrentamiento del dengue; estos elementos son los siguientes: la participación en el diagnóstico, manejo clínico de pacientes, enfrentamiento y control de epidemias, las evaluaciones de los programas de control en países de la región, la coordinación de las pruebas de control de calidad, la introducción de metodologías diagnósticas y de evaluación de la resistencia a insecticidas, la capacitación del personal en las diferentes disciplinas relacionadas con el dengue, la introducción y evaluación de la nueva clasificación clínica de dengue, la participación en la implementación en la región de la estrategia de gestión integrada (EGI) que promueve la OPS, la participación en grupos de expertos internacionales (OPS, OMS, TDR, DVI entre otras), la parti-

cipación en proyectos de investigación multicéntricos y la colaboración con instituciones nacionales e internacionales de gran nivel científico.

CONCLUSIONES

En estos 30 años, a diferencia de la mayoría de los países de la región, Cuba ha sido capaz de mantenerse libre de dengue como una enfermedad endémica. Las epidemias y transmisiones ocurridas han sido interrumpidas. El país ha seguido los 5 principios básicos que la OMS/OPS recomiendan para el enfrentamiento del dengue siendo la voluntad política el pilar fundamental y promotor del éxito obtenido. No obstante, la creciente complejidad de la situación epidemiológica del dengue en la región y el amplio y creciente intercambio que Cuba mantiene con países endémicos incrementan el riesgo. En este contexto, el país trabaja en el fortalecimiento y mejoramiento de sus programas. La aplicación de los resultados científicos obtenidos y la continua y creciente colaboración internacional deben desempeñar un papel fundamental para el mejor enfrentamiento del dengue.

DEDICATORIA

Este trabajo se dedica a la memoria del profesor Gustavo Kourí Flores, recientemente fallecido, quien con su labor, dedicación y enseñanzas fue un luchador incansable en la batalla contra el dengue y trabajó de modo intenso por el desarrollo de la ciencia cubana como forma fundamental para el enfrentamiento de las enfermedades infecciosas y tropicales.

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer a todos los que trabajan día a día en los diferentes campos, disciplinas y niveles en el país para evitar la introducción del dengue, así como a la población cubana sin la cual no es posible lograr los éxitos alcanzados.

También a los doctores Gisel García, Maritza Pupo y Ángel Álvarez del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" por sus útiles comentarios y sugerencias en la revisión del documento.

Thirty years after the Cuban dengue hemorrhagic epidemic occurred in 1981

ABSTRACT

Cuba reported the first dengue hemorrhagic fever epidemic in the American region in 1981. More than 344 203 cases with 10 312 severe and very severe cases and 158 fatalities were reported. Thirty years after this epidemic, the established surveillance, the control actions and the performed research studies have allowed the country to keep free of dengue, although some epidemics and waves of transmission have occurred, which have finally been eliminated. This paper summarized some interesting aspects related with this epidemic as well as with the laboratory surveillance and results of some of the main research works.

Key words: dengue, dengue hemorrhagic, Cuba, epidemic of 1981.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gubler DJ, Kuno J. Dengue and dengue hemorrhagic fever: CAB International 198 Madison Avenue: New York, NY 10016-4341 USA; 1997.
- Guzmán MG, Kourí G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *J Clin Virol.* 2003 May;27(1):1-13.
- PAHO. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in the Americas. Pan American Health Organization Guidelines for Prevention and Control: Scientific Publication; 1994. p. 548.
- Hoffman WH. La endemicidad pandémica del dengue en los países cálidos. *Rev Med Trop Parasit.* 1943;9:11-8.
- Mas P. Dengue fever in Cuba in 1977. PAHO. 1978;375:40-3.
- Cantelar de Francisco N, Fernández A, Albert Molina L, Pérez Balbis E. Circulación de dengue en Cuba. 1978-1979. *Rev Cubana Med Trop.* 1981;33(1):72-8.
- Terry H, Figueredo R, Martínez S, Armando J, Trigo J, Antuna T, et al. Preliminary report on the national extermination campaign of *Aedes (S) aegypti* in the Republic of Cuba (31 May 1981 to 20 March 1982). *Z Gesamte Hyg.* 1984;30(12):737-8.
- Kourí GP, Guzmán MG, Bravo JR, Triana C. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. *Bull World Health Organ.* 1989;67(4):375-80.
- Martínez-Torres E. Dengue and hemorrhagic dengue: the clinical aspects. *Salud Publica Mex.* 1995;37(Suppl):S29-44.
- Guzmán MG, Kourí G, Morier L, Soler M, Fernández A. A study of fatal hemorrhagic dengue cases in Cuba, 1981. *Bull Pan Am Health Organ.* 1984;18(3):213-20.
- Guzmán MG, Kourí G, Martínez E, Bravo J, Riverón R, Soler M, et al. Clinical and serologic study of Cuban children with dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Bull Pan Am Health Organ.* 1987;21(3):270-9.
- Díaz A, Kourí G, Guzmán MG, Lobaina L, Bravo J, Ruiz A, et al. Description of the clinical picture of dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) in adults. *Bull Pan Am Health Organ.* 1988;22(2):133-44.
- Guzmán MG, Kourí GP, Bravo J, Soler M, Vázquez S, Morier L. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;42(2):179-84.
- Armada Gessa JA, Figueredo González R. Application of environmental management principles in the program for eradication of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) in the Republic of Cuba, 1984. *Bull Pan Am Health Organ.* 1986;20(2):186-93.
- Kourí Flores G, Guzmán Tirado MG, Bravo González J, Calunga Ríos M. Actividades del laboratorio de arbovirología durante la epidemia de dengue hemorrágico en Cuba, 1981. *Rev Cubana Med Trop.* 1982;34(2):107-13.
- Kourí G, Mas P, Guzmán MG, Soler M, Goyenechea A, Morier L. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: rapid diagnosis of the etiologic agent. *Bull Pan Am Health Organ.* 1983;17(2):126-32.
- Guzmán Tirado MG, Kourí Flores G, Soler Nodarse M, Morier Díaz L, Vázquez Ramudo S. Aislamiento del virus del dengue 2 en sueros de pacientes utilizando el ratón lactante y cultivo de células LLCMK2. *Rev Cubana Med Trop.* 1984;36(1):4-10.
- Guzmán MG, Kourí GP, Bravo J, Calunga M, Soler M, Vázquez S, et al. Dengue haemorrhagic fever in Cuba. I. Serological confirmation of clinical diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78(2):235-8.
- Guzmán MG, Kourí GP, Bravo J, Soler M, Vázquez S, Santos M, et al. Dengue haemorrhagic fever in Cuba. II. Clinical investigations. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78(2):239-41.
- Bravo JR, Guzmán MG, Kourí GP. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 1. Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987;81(5):816-20.
- Martínez E, Guzmán MG, Valdés M, Soler M, Kourí G. Fiebre del dengue y dengue hemorrágico en infantes con infección primaria. *Rev Cubana Med Trop.* 1993;45(2):97-101.
- Kourí G, Guzmán MG, Bravo JR. Criterios utilizados durante la epidemia de dengue hemorrágico para definir los casos positivos y las respuestas primarias y secundarias en la prueba de inhibición de la hemaglutinación, Cuba 1981. *Rev Cubana Med Trop.* 1983;35(1):4-10.
- Kourí GP, Guzmán MG, Bravo JR. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2. An integral analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987;81(5):821-3.
- Guzmán MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, Hunsperger E, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nature Rev Microbiol.* 2010; 8: S7-S16.
- WHO. Dengue. Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: World Health Organization; 2009.
- San Martín JL, Brathwaite O, Zambrano B, Solorzano JO, Bouckennooghe A, Dayan GH, et al. The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: a worrisome reality. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82(1):128-35.
- Kourí G, Guzmán MG, Valdés L, Carbonel I, del Rosario D, Vázquez S, et al. Reemergence of dengue in Cuba: a 1997 epidemic in Santiago de Cuba. *Emerg Infect Dis.* 1998;4(1):89-92.
- Pelaez O, Guzmán MG, Kourí G, Pérez R, Martín JLS, Vázquez S, et al. Dengue 3 epidemic in Havana, 2001. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(4):219-22.
- Valdés L, Guzmán MG, Kourí G, Delgado J, Carbonell I, Cabrera MV, et al. Epidemiology of dengue and hemorrhagic dengue in Santiago, Cuba 1997. *Rev Panam Salud Publica.* 1999;6(1):16-25.
- Guzmán MG, Kourí G, Valdés L, Bravo J, Álvarez M, Vázquez S, et al. Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997. *Am J Epidemiol.* 2000;152(9):793-9.
- Guzmán MG, Álvarez A, Vázquez S, Álvarez M, Rosario D, Pelaez O, et al. Epidemiologic studies on dengue 3 in Playa municipality, Havana, Cuba, 2001-2002. *Int J Inf Dis.* 2011.
- Álvarez M, Rodríguez-Roche R, Bernardo L, Vázquez S, Morier L, González D, et al. Dengue Hemorrhagic Fever Caused by Sequential Dengue 1-3 Virus Infections over a Long Time Interval: Havana Epidemic, 2001-2002. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;75(6):1113-7.
- Álvarez MPA, Vázquez S, Morier L, Álvarez AM, Guzmán MG. Secuencias de infección viral asociadas a la fiebre del dengue durante la epidemia de dengue 3 de ciudad de La Habana, 2001-2002. *Rev Cubana Med Trop.* 2008;60(1):26-30.

34. Pérez AB, Sierra B, García G, Aguirre E, Babel N, Álvarez M, et al. Tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta1, and interleukin-10 gene polymorphisms: implication in protection or susceptibility to dengue hemorrhagic fever. *Hum Immunol.* 2010;71(11):1135-40.
35. Pérez AB, García G, Sierra B, Álvarez M, Vázquez S, Cabrera MV, et al. IL-10 levels in Dengue patients: some findings from the exceptional epidemiological conditions in Cuba. *J Med Virol.* 2004;73(2):230-4.
36. Guzmán MG, Kourí G, Valdés L, Bravo J, Vázquez S, Halstead SB. Enhanced severity of secondary dengue-2 infections: death rates in 1981 and 1997 Cuban outbreaks. *Rev Panam Salud Publica.* 2002;11(4):223-7.
37. Guzmán MG, Álvarez M, Rodríguez-Roche R, Bernardo L, Montes T, Vázquez S, et al. Neutralizing antibodies after infection with dengue 1 virus. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13(2):282-6.
38. Sierra B, García G, Pérez AB, Morier L, Rodríguez R, Álvarez M, et al. Long-term memory cellular immune response to dengue virus after a natural primary infection. *Int J Infect Dis.* 2002;6(2):125-8.
39. Sierra BD, García G, Pérez AB, Morier L, Álvarez M, Kourí G, et al. Ethnicity and Difference in Dengue Virus-Specific Memory T Cell Responses in Cuban Individuals. *Viral Immunol.* 2006;19(4):662-8.
40. de la CSB, Kourí G, Guzmán MG. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Arch Virol.* 2007;152(3):533-42.
41. Sierra B, Alegre R, Pérez AB, García G, Sturn-Ramírez K, Obasanjo O, et al. HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele frequencies in Cuban individuals with antecedents of dengue 2 disease: Advantages of the Cuban population for HLA studies of dengue virus infection. *Hum Immunol.* 2007;68(6):531-40.
42. Pérez AB, Sierra B, García G, Aguirre E, Babel N, Álvarez M, et al. Tumor necrosis factor-alpha transforming growth factor-1, and interleukin-1- gene polymorphisms: implication in protection or susceptibility to dengue hemorrhagic fever. *Human Immunol.* 2010;71:1135-40.
43. García G, Sierra B, Morier L, Guzmán M, Álvarez M, Pérez AP, et al. IL-2 level in past dengue infection. *Dengue Bull.* 2001;25:65-8.
44. Sierra B, Pérez AB, Vogt K, García G, Schmolke K, Aguirre E, et al. Secondary heterologous dengue infection risk: disequilibrium between immune regulation and inflammation. *Cellular Immunol.* 2010;262:134-40.
45. García G, Puerto FD, Pérez AB, Sierra B, Aguirre E, Kikuchi M, et al. Association of MICA and MICB alleles with symptomatic dengue infection. *Human Immunol.* 2011;72:904-7.
46. Guzmán MG, Deubel V, Pelegrino JL, Rosario D, Marrero M, Sariol C, et al. Partial nucleotide and amino acid sequences of the envelope and the envelope/nonstructural protein-1 gene junction of four dengue-2 virus strains isolated during the 1981 Cuban epidemic. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;52(3):241-6.
47. Álvarez M, Guzmán MG, Rosario D, Vázquez S, Pelegrino JL, Sariol CA, et al. Direct sequencing of an amplified product from a serum sample. *Rev Cubana Med Trop.* 1996;48(1):53-5.
48. Sariol CA, Pelegrino JL, Martínez A, Arteaga E, Kourí G, Guzmán MG. Detection and genetic relationship of dengue virus sequences in seventeen-year-old paraffin-embedded samples from Cuba. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;61(6):994-1000.
49. Rodríguez-Roche R, Álvarez M, Gritsun T, Halstead S, Kourí G, Gould EA, et al. Virus evolution during a severe dengue epidemic in Cuba, 1997. *Virology.* 2005;334(2):154-9.
50. Rodríguez-Roche R, Álvarez M, Gritsun T, Rosario D, Halstead S, Kourí G, et al. Dengue virus type 2 in Cuba, 1997: conservation of E gene sequence in isolates obtained at different times during the epidemic. *Arch Virol.* 2005;150(3):415-25.
51. Rodríguez-Roche R, Álvarez M, Holmes EC, Bernardo L, Halstead S, Kourí G, et al. Dengue virus type 3 in Cuba: Evolution from a Small Outbreak in 2000 to a Major Epidemic in 2001. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(5):773-4.
52. Rodríguez-Roche R, Sánchez L, Burgher Y, Rosario D, Álvarez M, Kourí G, et al. Virus role during intraepidemic increase in dengue disease severity. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(6):675-81.
53. Guzmán MG, Kourí G, Halstead SB. Do escape mutants explain rapid increases in dengue case-fatality rates within epidemics? *Lancet.* 2000;355(9218):1902-3.
54. Guzmán MG, Kourí G. Dengue haemorrhagic fever integral hypothesis: confirming observations, 1987-2007. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102(6):522-3.
55. Martínez E. Dengue y dengue hemorrágico. Editorial de la Universidad de Quilmes; 1998. p. 1-269.
56. Martínez Torres E. Preventing deaths from dengue: a space and challenge for primary health care. *Rev Panam Salud Publica.* 2006;20(1):60-74.
57. González D, Castro O, Pérez J, Martínez E, Vázquez S, Rosario D, et al. Classical dengue hemorrhagic fever resulting from two dengue infections spaced 20 years or more apart: Havana, Dengue 3 epidemic, 2001-2002. *Int J Infect Dis.* 2005;9:280-5.
58. González AL, Martínez RA, Villar LA. Clinical evolution of dengue in hospitalized patients. *Biomedica.* 2008;28(4):531-43.
59. González D, Limonta D, Bandera JF, Pérez J, Kourí G, Guzmán MG. Dual infection with dengue virus 3 and human immunodeficiency virus 1 in Havana, Cuba. *J Infect Dev Ctries.* 2009;3(4):318-20.
60. García GSB, Pérez AB, Aguirre E, Rosado I, González N, Izquierdo A, et al. Asymptomatic dengue infection in a Cuban Population confirms the protective role of the RR variant of the PcrIIa polymorphism. *American J Tropical Med Hygiene.* 2010;82(6):1153-6.
61. García G, González N, Pérez AB, Sierra B, Aguirre E, Rizo D, et al. Long-term persistence of clinical symptoms in dengue-infected persons and its association with immunological disorders. *Int J Infect Dis.* 2011;15(1):e38-43.
62. Vázquez S, Ruiz D, Barrero R, Ramírez R, Calzada N, Peña BR, et al. Kinetic of dengue virus NS1 protein in dengue 4 confirmed adults patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;68:46-9.
63. Vázquez S, Acosta N, Ruiz D, Calzada N, Álvarez AM, Guzmán MG. Immunoglobulin G antibody response in children and adults with acute dengue 3 infection. *J Virol Methods.* 2009;159(1):6-9.
64. Vázquez S, Valdivia I, Sánchez A, Calzada N, Guzmán MG. Evaluación del sistema diagnóstico UMELISA DENGUE IgM PLUS. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical.* 2007;5:4-20.
65. Vázquez S, Cabezas S, Pérez AB, Pupo M, Ruiz D, Calzada N, et al. Kinetics of antibodies in sera, saliva, and urine samples from adult patients with primary or secondary dengue 3 virus infections. *Int J Infect Dis.* 2007;11:256-62.
66. Vázquez S, Pérez AB, Ruiz D, Rodríguez R, Pupo M, Calzada N, et al. Serological markers during Dengue 3 primary and secondary infections. *J Clin Virol.* 2005;33(2):132-7.
67. Vázquez S, Valdés O, Pupo M, Delgado I, Álvarez M, Pelegrino JL, et al. MAC-ELISA and ELISA inhibition methods for detection of antibodies after yellow fever vaccination. *J Virol Methods.* 2003;110(2):179-84.

68. Vázquez S, Saenz E, Huelva G, González A, Kourí G, Guzmán M. Detección de IgM contra el virus del dengue en sangre entera absorbida en papel de filtro. *Rev Panam Salud Publica*. 1998;3(3):174-8.
69. Rosario D, Álvarez M, Díaz J, Contreras R, Rodríguez R, Vázquez S, et al. Reacción en cadena de la polimerasa para la detección rápida y determinación del serotipo de virus del dengue en muestras clínicas. *Rev Panam Salud Publica*. 1998;4(1):1-5.
70. Rosario Domínguez D, Suárez Moran CM, Rodríguez Roche R, Soler Nodarse M, Guzmán Tirado MG. Identificación rápida de los serotipos del virus del dengue mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Rev Cubana Med Trop*. 1996;48(3):155-60.
71. Pelegrino JL, Arteaga E, Rodríguez AJ, González E, Frontela MD, Guzmán MG. Normalización de técnicas inmunohistoquímicas para la detección de antígenos del virus dengue en tejidos embebidos en parafina. *Rev Cubana Med Trop*. 1997;49(2):100-7.
72. Pelegrino JL, Vázquez S, Guzmán MG, Valdivia A, Rogés G. Rapid diagnosis of dengue virus using a novel enzyme-immunosorbent assay (ELISA) kit. In: Tenth Annual Clinical Virology Symposium and Annual Meeting Pan American Group for Rapid Diagnosis: USA;1994. p. 74.
73. Rodríguez-Roche R, Álvarez M, Guzmán MG, Morier L, Kourí G. Comparison of rapid centrifugation assay with conventional tissue culture method for isolation of dengue 2 virus in C6/36-HT cells. *J Clin Microbiol*. 2000;38(9):3508-10.
74. Pupo-Antunez M, Rodríguez R, Álvarez M, Amin N, Rodríguez H, Otero A, et al. Development of a monoclonal antibody specific to a recombinant envelope protein from dengue virus type 4 expressed in *Pichia pastoris*. *Hybridoma*. 2001;20(1):35-41.
75. Pupo Antunez M, Álvarez Vera M, Soto Hernandez M, Rodríguez Sanchez H, Rodríguez Diaz R, Morier Diaz L, et al. Anticuerpos monoclonales al virus dengue 4: espectro de reactividad a los 4 serotipos del dengue. Monoclonal antibodies to dengue virus 4: the spectrum of the reactivity to 4 serotypes of dengue. *Rev Cubana Med Trop*. 2000;52(2):119-25.
76. Pupo-Antunez M, Rodríguez H, Vázquez S, Vilaseca JC, Álvarez M, Otero A, et al. Monoclonal antibodies raised to the dengue-2 virus (Cuban: A15 strain) which recognize viral structural proteins. *Hybridoma*. 1997;16(4):347-53.
77. Álvarez AM. Sistema integrado de vigilancia para la prevención del dengue. Municipio Cotorro, La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2007;59(3):193-201.
78. Díaz CTY, De la Cruz AM, Álvarez AM, Piquero ME, Valero A, Fuentes O. Estrategia intersectorial y participativa con enfoque de ecosalud para la prevención de la transmisión de dengue en el nivel local. *Cadernos de Saúde Pública Rio de Janeiro*. 2009;25(supl.1):59-70. ISSN 0102-311X.
79. Pérez D, Lefevre P, Sánchez L, Van der Stuyft P. Comment on: What do community-based dengue control programmes achieve? A systematic review of published evaluations. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2007;101:630-1.
80. Toledo ME, Vanlerberghe V, Baly A, Ceballos E, Valdés L, Searret M, et al. Towards active community participation in dengue vector control: results from action research in Santiago de Cuba, Cuba. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006;101:56-63.
81. Toledo Romani ME VV, Pérez D. Achieving sustainability of community-based dengue control in Santiago de Cuba. *Social Science Med*. 2007;64:976-88.
82. Toledo ME, Rodríguez A, Valdés L, Carrion R, Cabrera G, Banderas D, et al. Evidence on impact of community-based environmental management on dengue transmission in Santiago de Cuba. *Trop Med Int Health*. 2011;16(6):744-7.
83. Bisset Lazcano JA, Marquetti MC, González B, Mendizabal ME, Navarro A. Abundance of larvae of urban mosquitoes during the campaign of the eradication of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and of dengue in Cuba (1981-82). *Rev Cubana Med Trop*. 1985;37(2):161-8.
84. Bisset JA, San Martín JL, Romero JE, Montoya R. Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Rev Panam Salud Pública*. 2009;26(3):229-34.
85. Marquetti MC, Bisset JA, García A. Recipientes asociados a la infestación por *Aedes aegypti* en La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2009;61(3):232-8.
86. Rodríguez MM, Bisset JA, Pérez O, Montada D, Moya M, Ricardo Y, Valdéz V. Estado de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos en *Aedes aegypti* en el municipio Boyeros. *Rev Cubana Med Trop*. 2009;61(2):170-6.
87. Rodríguez MM, Ricardo Y, Pérez O, Montada D, Figueredo D, Fuentes. Resistencia a insecticidas organofosforados en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Santiago de Cuba en el período 1997-2009. *Rev Cubana Med Trop*. 2010;62(3):217-23.
88. Bisset JA, Rodríguez MM, Ricardo Y, Ranson H, Pérez O, Moya M, et al. Temephos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increased dramatically between 2006 and 2008. *Medical and Veterinary Entomology*. 2011;25(3):233-9.
89. Fuentes O, López R, Marquetti MC, Lugo J. Presence of *Aedes (Gymnometopa) mediovitatus* in Cuba: a new factor to be considered in the national campaign to eradicate dengue. *Bull Pan Am Health Organ*. 1992;26(1):14-7.
90. Guzmán MG, Triana C, Bravo J, Kourí G. The estimation of the economic damages caused as a consequence of the epidemic of hemorrhagic dengue in Cuba in 1981. *Rev Cubana Med Trop*. 1992;44(1):13-7.
91. Valdés L, Vila J, Guzmán MG. Impacto económico de la epidemia de dengue 2 de Santiago de Cuba, 1997. *Rev Cubana Med Trop*. 2002;54(3):220-7.
92. Baly O, Vanlerberghe V, Ceballos E, Reyes A, Sánchez I, Carvajal M, et al. Effectiveness of a Community-Based Approach Intertwined with a Vertical *Aedes* Control Program. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;81(1):88-93.
93. Baly A, Flessa S, Cote M, Thiramanus T, Vanlerberghe V, Villegas E, et al. The cost of routine *Aedes aegypti* control and of insecticide-treated curtain implementation. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(5):747-52.
94. Álvarez M, Guzmán MG, Pupo M, Morier L, Bravo J, Rodríguez R. Study of biologic attributes of Cuban dengue 2 virus after serial passage in primary dog kidney cells. *Int J Infect Dis*. 2001;5(1):35-9.
95. Mune M, Rodríguez R, Ramírez R, Soto Y, Sierra B, Rodríguez Roche R, et al. Carboxy-terminally truncated Dengue 4 virus envelope glycoprotein expressed in *Pichia pastoris* induced neutralizing antibodies and resistance to Dengue 4 virus challenge in mice. *Arch Virol*. 2003;148(11):2267-73.
96. Sierra Vázquez B, Pérez Díaz AB, Vázquez Villasuso V, Rodríguez Díaz R, García Menéndez G, Guzmán Tirado MG. Assessment of the cellular immune response induced in Balb/C mice with dengue virus 2 envelope protein. *Rev Cubana Med Trop*. 1999;51(2):95-8.
97. Guzmán MG, Rodríguez R, Hermida L, Álvarez M, Lazo L, Mune M, et al. Induction of neutralizing antibodies and partial protection from viral challenge in *Macaca fascicularis* immunized with recombinant dengue 4 virus envelope glycoprotein expressed in *Pichia pastoris*. *Am J Trop Med Hyg*. 2003;69(2):129-34.
98. Guillen G, Aguilar JC, Duenas S, Hermida L, Guzmán MG, Penton E, et al. Virus-like particles as vaccine antigens and adjuvants: application to chronic disease, cancer immunotherapy and infectious disease preventive strategies. *Procedia Vaccinology*. 2010;2:128-33.

99. Guzmán MG, Hermida L, Bernardo L, Ramírez R, Guillen G. Domain III of the envelope protein as a dengue vaccine target. *Expert Rev Vaccines*. 2010;9(9):87-97.
100. Guzmán MG. Dengue vaccines: new developments. *Drugs Future*. 2011;36(1):45-62.
101. Hermida L, Rodríguez R, Lazo L, López C, Márquez G, Paez R, et al. A recombinant envelope protein from Dengue virus purified by IMAC is bioequivalent with its immunofluorescence chromatography purified counterpart. *J Biotechnol*. 2002;94(2):213-6.
102. Hermida L, Rodríguez R, Lazo L, Bernardo L, Silva R, Zulueta A, et al. A fragment of the Envelope protein from Dengue-1 virus, fused in two different sites of the meningococcal P64k protein carrier, induces a functional immune response in mice. *Biotechnol Appl Biochem*. 2003;39:107-14.
103. Hermida L, Rodríguez R, Lazo L, Silva R, Zulueta A, Chinae G, et al. A dengue-2 Envelope fragment inserted within the structure of the P64k meningococcal protein carrier enables a functional immune response against the virus in mice. *J Virol Methods*. 2004;115(1):41-9.
104. Hermida L, Bernardo L, Martín J, Álvarez M, Prado I, López C, et al. A recombinant fusion protein containing the domain III of the dengue-2 envelope protein is immunogenic and protective in nonhuman primates. *Vaccine*. 2006;24(16):3165-71.
105. Izquierdo A, Bernardo L, Martín J, Santana E, Hermida L, Guillen G, et al. Serotype-specificity of recombinant fusion proteins containing Domain III of dengue virus. *Virus Res*. 2008;138(1-2):135-8.
106. Valdés I, Hermida L, Zulueta A, Martín J, Silva R, Álvarez M, et al. Expression in *Pichia pastoris* and immunological evaluation of a truncated Dengue envelope protein. *Mol Biotechnol*. 2007;35(1):23-30.
107. Valdés I, Hermida L, Martín J, Menéndez T, Gil L, Lazo L, et al. Immunological evaluation in nonhuman primates of formulations based on the chimeric protein P64k-domain III of Dengue 2 and two components of *Neisseria meningitidis*. *Vaccine*. 2009;27:995-1001.
108. Valdés I, Bernardo L, Gil L, Pavón A, Lazo L, López C, et al. A novel fusion protein domain III-capsid from dengue-2, in a highly aggregated form, induces a functional immune response and protection in mice. *Virology*. 2009;394(2):249-58.
109. Valdés I, Hermida L, Gil L, Lazo L, Castro J, Martín J, et al. Heterologous prime-boost strategy in non-human primates combining the infective dengue virus and a recombinant protein in a formulation suitable for human use. *Int J Infect Dis*. 2009;14(5):e377-83.
110. Valdés I, Gil L, Romero Y, Castro J, Puente P, Lazo L, et al. The chimeric protein domain III-capsid of dengue virus serotype 2 (DEN-2) successfully boosts neutralizing antibodies generated in monkeys upon infection with DEN-2. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18(3):455-9.
111. Lazo L, Hermida L, Zulueta A, Sanchez J, Lopez C, Silva R, et al. A recombinant capsid protein from Dengue-2 induces protection in mice against homologous virus. *Vaccine*. 2007;25(6):1064-70.
112. Lazo L, Zulueta A, Hermida L, Blanco A, Sánchez J, Valdés I, et al. The Dengue-4 envelope domain III fused twice within the meningococcal P64k protein carrier induces partial protection in mice. *Biotechnology Applied Biochemistry*. 2008;52:265-267.
113. Lazo L, Zulueta A, Hermida L, Blanco A, Sanchez J, Valdés I, et al. Dengue-4 envelope domain III fused twice within the meningococcal P64k protein carrier induces partial protection in mice. *Biotechnol Appl Biochem*. 2009;52(Pt 4):265-71.
114. Lazo L, Gil L, López C, Valdés I, Marcos E, Álvarez M, et al. Nucleocapsid-like particles of dengue-2 virus enhance the immune response against a recombinant protein of dengue-4 virus. *Arch Virol*. 2010;155(10):1587-95.
115. Bernardo L, Yndart A, Vázquez S, Morier L, Guzmán MG. Antibody responses to asian and american genotypes of dengue 2 virus in immunized mice. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12(2):361-2.
116. Bernardo L, Izquierdo A, Prado I, Rosario D, Álvarez M, Santana E, et al. Primary and Secondary Infections by Asian and American Genotypes of Dengue 2 Virus in Macaca Fascicularis Monkeys. *Clin Vaccine Immunol*. 2007; 15(3):439-46.
117. Bernardo L, Hermida L, Martín J, Álvarez M, Prado I, Lopez C, et al. Anamnestic antibody response after viral challenge in monkeys immunized with dengue 2 recombinant fusion proteins. *Arch Virol*. 2008;153(5): 849-54.
118. Bernardo L, Izquierdo A, Álvarez M, Rosario D, Prado I, López C, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a recombinant fusion protein containing the domain III of the dengue 1 envelope protein in nonhuman primates. *Antiviral Research*. 2008;80:194-9.
119. Bernardo L, Izquierdo A, Prado I, Rosario D, Álvarez M, Santana E, et al. Primary and Secondary Infections by Asian and American Genotypes of Dengue 2 Virus in Macaca Fascicularis Monkeys. *Clin Vaccine Immunol*. 2008;15(3):439-46.
120. Bernardo L, Fleitas O, Pavon A, Hermida L, Guillen G, Guzmán MG. Antibodies induced by dengue virus type 1 and 2 envelope domain III recombinant proteins in monkeys neutralize strains with different genotypes. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16(12):1829-31.
121. Bernardo L, Pavon A, Hermida L, Gil L, Valdés I, Cabezas S, et al. The two component adjuvant IC31(R) potentiates the protective immunity induced by a dengue 2 recombinant fusion protein in mice. *Vaccine*. 2011; 29(25):4256-63.

Recibido: 14 de octubre de 2011. Aprobado: 11 de noviembre de 2011.

María G. Guzmán Tirado. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6½, AP 601, Marianao 13. La Habana, Cuba. Correo electrónico: lupe@ipk.sld.cu