

EPIDEMIA DE DENGUE EN NICARAGUA, 1985.

G. KOURI (1), M. VALDÉZ (2), L. ARGUELLO (2), MARIA G. GUZMÁN (1), L. VALDÉS (2),
MARITZA SOLER (1) & J. BRAVO (1).

RESUMEN

En el segundo semestre de 1985, coincidiendo con el período de lluvias se produjo en Nicaragua una epidemia de Dengue en la que se reportaron 17,483 casos. La mayor morbilidad y las más elevadas tasas de ataque se registraron entre Agosto y Noviembre, siendo afectadas fundamentalmente las regiones II (León y Chinandega), III (Managua) y IV (Masaya, Granada, Carazo, Rivas) que acumularon el 89% de los reportes. Estas regiones se corresponden precisamente con las zonas más densamente pobladas ubicadas en la costa del Pacífico, en donde se encuentran los núcleos urbanos más importantes y populosos del país. León y Chinandega fueron las ciudades más afectadas, pues reportaron el 41% del total de casos registrados. El 66.8% de los casos eran adultos y el 57.6% del sexo femenino. La tasa global de ataque para el país fue de 55.24 x 10.000 habitantes. Una campaña de lucha antivectorial, fue iniciada de inmediato, manteniéndose en forma intensiva hasta el mes de Octubre. Al final de este período la morbilidad disminuyó considerablemente y la enfermedad entró en una fase de escasos reportes y posiblemente de endemia.

Se reportaron 7 adultos fallecidos que fueron considerados como portadores de una FHD/SCD por un grupo mixto de patólogos y clínicos teniendo en cuenta la experiencia adquirida en los pacientes adultos durante la epidemia ocurrida en Cuba en 1981.

El brote fué interpretado como una epidemia de Dengue Clásico en la cual se produjeron 7 casos fatales. Se aislaron los serotipos 1 y 2 del Dengue en sueros de fase aguda de pacientes y el serotipo 1 en el de uno de los fallecidos.

UNITERMOS: Dengue hemorrágico.

INTRODUCCION

En las Américas existen evidencias de circulación de los virus del Dengue desde hace más de 30 años habiéndose reportado actividad epidémica en un gran número de países de la región^{13, 14}. En 1957 HAMMON¹⁰ describió por primera vez la Fiebre Hemorrágica del Dengue/Síndrome del Choque del Dengue (FHD/SCD) en Filipinas. Las epidemias de esta grave enfermedad estuvieron limitadas al Sudeste Asiático e Islas del Pacífico Occidental hasta el año 1981 en que ocurrió un brote de grandes proporciones en Cuba¹¹. A partir de entonces la situación del Dengue en nuestra región se hace cada día más compleja pues a pesar de que los virus han estado circulando por muchos años, es ahora que surgen nuevos elementos que ponen "sobre el tapete" a esta enferme-

dad, que amenaza con adquirir la magnitud y severidad que ya tiene en el Sudeste Asiático, en donde constituye una de las principales causas de morbilidad infantil⁸.

Considerando la infección secundaria el principal factor de riesgo para la FHD/SCD^{1, 9} vemos con preocupación la circulación en países de las Américas de los serotipos 1, 2 y 4 del Virus Dengue existiendo inclusive en algunos de estos países circulación simultánea de varios serotipos^{16, 18}; en la región se están informando con frecuencia creciente casos esporádicos de Dengue Hemorrágico^{16, 19}, reportándose en 1990, en Venezuela¹⁸, la segunda epidemia de Dengue Hemorrágico en la región de las Américas.

(1) Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" Apto. 601, Zona Postal Marianao 13, Habana, Cuba.

(2) Dirección General de Higiene y Epidemiología. MINSA, Complejo de la Salud, Managua, Nicaragua.

Los reportes realizados entre 1985 y 1988 de episodios esporádicos de FHD/SCD con un reducido número de casos en Curacao, Puerto Rico, Honduras, Suriname, México, Aruba, Santa Lucía, República Dominicana y El Salvador^{16, 19, 20, 22, 23} y las recientes epidemias de grandes proporciones producida por el dengue 1 en Brasil, Bolivia, Ecuador y Paraguay^{12, 24, 25, 26, 27}, presagian un futuro sombrío en lo que al Dengue se refiere en nuestra región.

El deterioro de los programas de control del *Aedes aegypti*, la reinfección de áreas previamente libres del vector y la presencia del *Aedes albopictus* en el Sur de los Estados Unidos de Norteamérica²¹ y en varios estados de Brasil¹⁵, añade elementos crecientes de riesgo y preocupación¹⁴.

En el presente trabajo se informa sobre la epidemia de Dengue ocurrida en Nicaragua en el año 1985 y se brinda la información epidemiológica, que se pudo obtener en el curso de la misma.

ANTECEDENTES

Desde 1981 se comenzaron a hacer estudios limitados de vigilancia serológica para el Dengue, en grupos seleccionados de la población nicaraguense. En Agosto de 1981 se estudiaron 121 monosueros por la técnica de Inhibición de la Hemaglutinación (IH)³ apareciendo 13 personas con anticuerpos (10,7%). En 1982 en otro estudio serológico de 148 monosueros, se detectaron sólo 5 personas (3,4%) con anticuerpos IH a los arbovirus del Grupo B. En un tercer estudio realizado sobre 164 monosueros tomados en 1983, aparecieron sólo 5 muestras positivas (3,0%). En el último estudio realizado antes de la epidemia (Septiembre 1984) se procesaron 96 monosueros encontrándose una seropositividad de un 10,4%. En resumen puede decirse que de 529 monosueros estudiados por IH en el período de 1981-1984 sólo se encontraron 33 positivos para un 6,2%.

Consideramos que aunque estos estudios no son representativos de la población, podemos tomarlos como indicativos para suponer que antes de 1985 la circulación de los virus del complejo Dengue en Nicaragua no parece haber sido marcada, ya que inclusive desde el punto de vista clínico la enfermedad no había sido reconocida al menos en los últimos 30 años.

RECONOCIMIENTO DE LA EPIDEMIA

En Marzo de 1985 se reportó en la localidad

de San Rafael del Sur, cerca de Managua, una enfermedad febril cuyo cuadro clínico era compatible con Dengue, que produjo un número limitado de enfermos, sin que se registraran casos graves ni fatales. Los estudios serológicos permitieron demostrar seroconversión utilizando la técnica de IH en el 23% de las muestras estudiadas.

Se procesaron 29 muestras para aislamiento viral habiéndose aislado 8 cepas del virus Dengue tipo 1. Se tomaron medidas para el control del vector y se produjo una declinación de la morbilidad.

En estudios epidemiológicos retrospectivos se demostró que la enfermedad denominada "Quebradora" por la población, posiblemente hizo su aparición en el país en el segundo semestre de 1984.

En Junio de 1985 se decidió hacer una encuesta serológica nacional, (representativa de la población en Nicaragua) en la que se procesaron 1164 muestras apareciendo 175 (15%) positivas de anticuerpos IH contra los Arbovirus del grupo B. Debe señalarse que la mayor positividad se encontró entre los mayores de 35 años lo que pudiera indicar posiblemente que en la década de los años 50 hubo circulación de los Arbovirus del grupo B. Se debe tener en cuenta que cuando se hizo la encuesta ya había sucedido el brote en San Rafael, o sea que ya los virus estaban circulando en la población y pudiera pensarse que una parte de los casos positivos estaban relacionados con una infección reciente producida durante la epidemia que se describe (1985).

Esta encuesta nos permite plantear que la mayor parte de la población nicaraguense no tenía posibilidad de presentar una infección secundaria y que como máximo un 15% de la misma era la que estaba en riesgo de padecer su segunda infección.

DESARROLLO DE LA EPIDEMIA

A partir del mes de Agosto de 1985, coincidiendo con el período de las lluvias, se produce un alza en la información de casos procedentes fundamentalmente de León, Managua y Granada. En total se informaron 17,483 casos y siete defunciones que fueron catalogadas como posibles casos de FHD/SCD. De los siete fallecidos, seis fueron comprobados por anatomía patológica como portadores de lesiones compatibles con FHD/SCD. En

el caso no comprobado se pudo aislar el virus Dengue tipo 1 a partir de una muestra de suero de fase aguda.

Debe señalarse que las medidas de lucha antivectorial se venían tomando desde finales del mes de Julio y que se mantuvieron en forma intensiva en los meses de Agosto, Septiembre y Octubre. Al final de este período la morbilidad disminuyó considerablemente considerándose que la fase de desarrollo de la epidemia entraba en una etapa de producción de casos esporádicos, pasando posiblemente a una situación endémica.

MORBILIDAD

La Figura 1 muestra el número de casos reportados por mes en el curso de la epidemia; en total

se registraron 17,483 casos, (tasa de ataque global para Nicaragua; 55.24/10.000 hab.), el mes de más alta incidencia fue Octubre con 9,360 casos, debe destacarse que las características de la epidemia, con una inmensa mayoría de pacientes con cuadro clínico benigno y síntomas generales inespecíficos, pudo favorecer un subregistro de casos, al no acudir los pacientes al hospital, como se observa en la mayoría de las epidemias de Dengue clásico.

En el mes de Noviembre se produjo un descenso apreciable en la morbilidad, registrándose 1,655 casos. A partir del mes de Diciembre el reporte de enfermos declinó bruscamente registrándose en ese mes sólo 66 casos. El 66.8% de los casos registrados fue en mayores de 15 años, y el 57,6% del sexo femenino.

FIGURA Nº 1

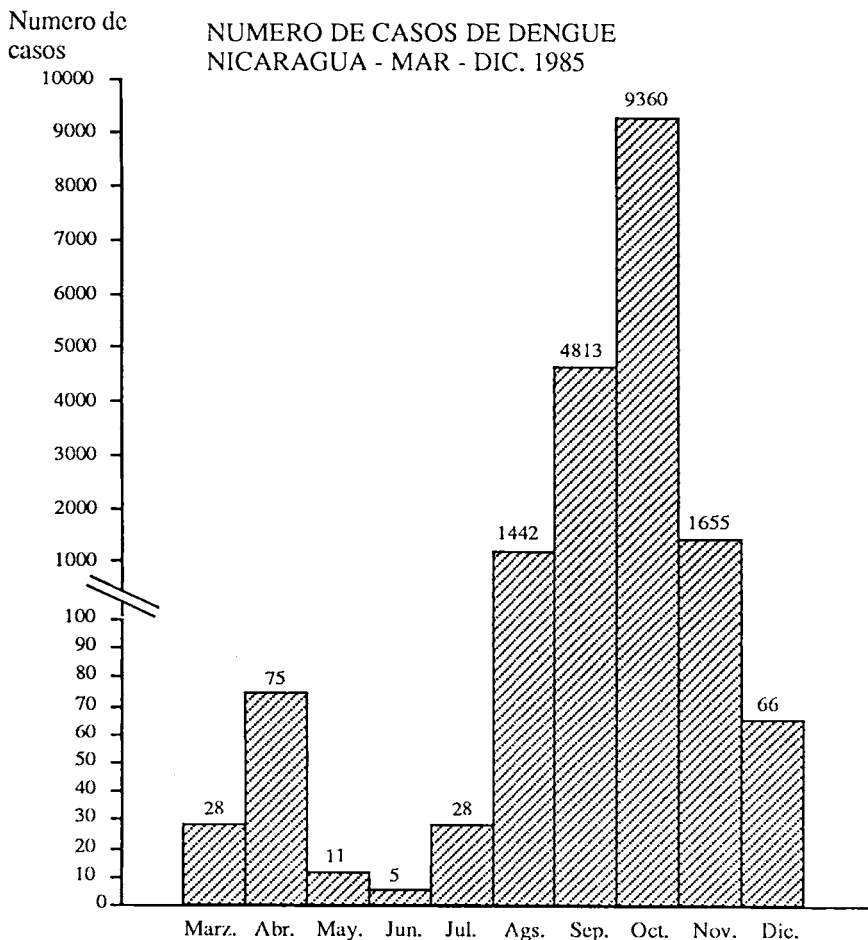


TABLA 1
CASOS INFORMADOS Y TASAS DE ATAQUE SEGUN MES Y REGION.
NICARAGUA MARZO-DICIEMBRE 1985.

Mes	Regiones*								
	I	II	III	IV	V	VI	Z.E.I.	Z.E.II.	Z.E.III
Marzo	—	—	28	—	—	—	—	—	—
Abril	1	—	47	22	5	—	—	—	—
Mayo	—	—	4	7	—	—	—	—	—
Junio	—	—	5	—	—	—	—	—	—
Julio	—	—	25	1	—	2	—	—	—
Agosto	3	894	521	21	—	2	—	1	—
Sept.	44	2521	1665	470	82	31	—	—	—
Oct.	301	3365	2055	2725	702	212	—	—	—
Nov.	116	355	434	432	148	170	—	—	—
Dic.	2	2	8	23	2	27	2	—	—
Total	467	7137	4792	3701	939	444	2	1	—
%	2.6	41	27.4	21.2	5.3	2.5	—	—	—
Tasa x 10.000 habit	14.15	136.31	54.98	75.18	29.84	10.40	0.16	0.19	0.00

*Región I: Esteli, Madriz, Nueva Segovia
Región II: León y Chinandega
Región III: Managua
Región IV: Masaya, Granada, Carazo, Rivas
Región V: Chontales y Boaco
Región VI: Matagalpa y Jinotega
Z.E.I.: Puerto Cabezas o Zelaya Norte
Z.E.II.: Bluefield o Zelaya Central
Z.E.III.: Rio San Juan o Zelaya Sur

En la Tabla I se presentan los casos informados y las tasas de ataque registradas durante la epidemia. Se observa que tanto la morbilidad como las tasas de ataque más elevadas se registraron en las regiones II (León y Chinandega), III (Managua) y IV (Masaya, Granada, Carazo y Rivas); estas son precisamente las zonas más densamente pobladas de la costa del Pacífico, en donde se encuentran las ciudades más importantes y populosas del país. La zona más afectada fue León, Chinandega (Zona II) que acumuló el 41% de los enfermos con una tasa de ataque de 136.31/10.000 habitantes. Las zonas II, III y IV informaron el 89% de los casos.

ANALISIS DE LOS FALLECIDOS

Durante la epidemia se informaron 7 fallecidos, todos adultos, cuatro eran mujeres y tres hombres. Los fallecidos fueron analizados por una co-

misión mixta de clínicos y patólogos que llegó a la conclusión de que podían ser considerados como sospechosos de haber padecido la FHD/SCD. Teniendo en cuenta que los criterios establecidos por el Grupo de Expertos para FHD/SCD de la Organización Mundial de la Salud⁴ para definir los casos de Dengue Hemorrágico se basaron en la información adquirida de los casos en niños, consideramos que la experiencia cubana en donde la enfermedad se observó y describió por primera vez en el paciente adulto⁵ constituyó un punto de partida adecuado para analizar los casos adultos observados en nuestro país. Estos 7 fallecidos presentaron dentro del período epidémico un síndrome febril con manifestaciones generales (cefalea, astenia marcada, mialgia y artralgia) acompañadas con frecuencia de síntomas digestivos (dolor abdominal, náuseas, vómitos), en ocasiones con hepatomegalia y manifestaciones hemorrágicas menores y/o mayores, evolucionando súbitamente hacia el choque

irreversible y muerte en pocas horas. La hemoconcentración y la trombopenia se comprobaron con frecuencia aunque no en todos los casos.

En 5 de los fallecidos se registraron los antecedentes patologicos personales y familiares. Un paciente era asmático conocido; dos tenían cargados antecedentes familiares de asma bronquial y otras manifestaciones alérgicas y los dos restantes podían clasificarse como posibles portadores de una Diabetes Mellitus.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION VIRAL

Ciento sesenta y seis muestras de suero de fase aguda fueron procesadas para aislamiento viral e inoculadas en la línea celular C6/36 (*Aedes albopictus*) y en ratón lactante por vía intracerebral. Del brote del mes de Marzo se aislaron 8 cepas de DEN 1, todas en las células C6/36. Diez cepas de DEN 1 y ocho de DEN 2 se aislaron en el mes de Agosto (una de las cepas de Dengue 1 se aisló del suero de uno de los fallecidos). Las cepas de DEN 1 se aislaron solamente en las células C6/36, mientras que todas las cepas de Dengue 2 se aislaron en ratón lactante no siendo posible obtener ningún aislamiento de este último serotipo en el cultivo celular. El aislamiento en el ratón resultó difícil pues fue necesario dar varios pases en el sistema para estabilizar las cepas.

De las 26 cepas aisladas 18 fueron identificadas como DEN 1 utilizando diluciones seriadas de líquidos ascíticos hiperinmunes mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IF) las 8 cepas restantes de Dengue 2 que se aislaron exclusivamente en ratón lactante fueron identificadas utilizando anticuerpos monoclonales, también por la técnica de IF^{6, 28}.

ANALISIS E INTERPRETACION DE LA EPIDEMIA

Para la aparición de FHD/SCD en forma epidémica es necesario la concurrencia de varios grupos de factores de riesgo¹²:

Factores Epidemiológicos, Factores del Virus, Factores Individuales.

Factores epidemiológicos:

1. Preexistencia de anticuerpos contra el Dengue en una gran parte de la población. (No presente en Nicaragua); 2. Alta densidad de un vector eficiente (posiblemente presente en Nicaragua); 3. Dos epidemias sucesivas en un lapso que oscile entre los 6 meses y los 7 años. (No presente en Nicaragua, en donde existió circulación simultánea de al menos dos serotipos del Dengue); 4. Amplia circulación de los virus (presente en Nicaragua).

Factores del virus:

La presencia de los serotipos 1 y 2 del Dengue hace posible que la secuencia 1 + 2 se dé en determinadas personas. Esta secuencia fue la que produjo la epidemia en Cuba en 1981¹¹.

Factores individuales:

La edad infantil, la raza blanca, el sexo femenino, el buen estado nutricional, además de algunas enfermedades crónicas, han sido identificados como factores de riesgo en epidemias previas^{1, 8}. En Nicaragua la enfermedad afectó en su forma severa y fatal exclusivamente a los adultos, lo cual pudiera relacionarse con el estado inmunitario de la población infantil que en esta oportunidad estaba sufriendo su primera experiencia con estos virus. Los datos serológicos brindados en los antecedentes (previos a la epidemia) apoyan estos planteamientos ya que como máximo el 15% de la población estaba en riesgo de padecer su segunda infección.

Debe destacarse que entre los 7 fallecidos se registraron los antecedentes personales solo en 5 y en ellos había un asmático y otros dos pacientes que aunque no eran asmáticos, reportaron marcados antecedentes familiares de esta enfermedad y otras manifestaciones alérgicas. Además en los otros 2 pacientes se registraron datos que pudieran hacer sospechar que eran portadores de una Diabetes Mellitus no reconocida. En los estudios serológicos realizados durante la epidemia se pudieron catalogar como portadores de una infección secundaria, solo el 5.4% de los pacientes estudiados, lo cual sugiere que no existía una masa crítica de personas con una infección secundaria que consideramos el principal factor individual de riesgo para que se produzca el Dengue Hemorrágico en forma epidémica^{1, 9}.

Se ha señalado la posibilidad de cierta resistencia natural de la raza negra para el Dengue¹. La

composición étnica de la población nicaraguense presenta un marcado componente de población autóctona cuyo comportamiento frente a la infección por dengue es desconocido, pero que pudiera jugar un papel importante en el cuadro epidemiológico que esta enfermedad presenta en el país.

Como conclusión podemos considerar que la epidemia de Dengue ocurrida en Nicaragua en 1985 se caracterizó por el cuadro clínico del Dengue Clásico, aunque presentó siete fallecidos cuya sintomatología fué compatible con la de la FHD/SCD aunque sólo en uno se comprobó la infección por el serotipo 1 del complejo Dengue. La circulación simultánea de los serotipos 1 y 2 comprobada en el país determina un gran riesgo de producción de nuevos casos esporádicos de Dengue Hemorrágico, por lo que se debe mantener una vigilancia epidemiológica activa y una consecuente lucha antivectorial.

SUMMARY

Epidemic Dengue in Nicaragua 1985

In the second half of the year 1985, during the rainy season, an epidemic of Dengue Fever was recognized in Nicaragua. A total of 17,483 cases were reported by the health services. The highest morbidity and attack rates were reported between August and November of the same year. Regions II (Leon and Chinandega), III (Managua) and IV (Masaya, Granada, Carazo y Rivas) reported 89% of the cases; these regions are precisely the more densely populated in the country, located in the Pacific Coast. Leon and Chinandega were the more affected cities reporting 41% of the cases of the epidemic. Sixty seven percent of the cases were adults, 57% were female. The national attack rate was 55.4/10,000 inhab.

An intensive campaign for the control of the vector was launched immediately after the epidemic was recognized and by the month of October 1985 morbidity decreased and an endemic situation was established.

Seven fatal cases were reported in adults. They were considered as DHF/DSS cases by a multidisciplinary group of pathologists and clinicians, considering the criteria of WHO and the experience obtained during the Cuban DHF/DSS epidemic, in 1981.

The outbreak was considered as a Classical Dengue Fever epidemic with 7 fatalities. Dengue-1 and-2 were isolated from acute sera and Dengue-1 from one of the deads.

REFERENCES

1. BRAVO, J.; GUZMAN MARIA, G. & KOURI, G.P. - Why Dengue Haemorrhagic Fever in Cuba? I. Individual Risk Factors for Dengue Haemorrhagic Fever/Dengue Shock Syndrome (FHD/SSD). *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 81: 816-820, 1987.
2. CANTELAR, N.; FERNANDEZ, A.; ALBERT, L. & PEREZ, E. - Circulación de Dengue en Cuba. 1978-1979. *Rev. cuba. Med. trop.*, 33: 72-78, 1981.
3. CLARKE, D.H. & CASALS, J. - Techniques for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod borne viruses. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 7: 561-573, 1958.
4. DENGUE HEMORRÁGICO: diagnóstico, tratamiento y lucha. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1987.
5. DIAZ, A.; KOURI, G.; GUZMAN, M.G.; LOBAINA, L.; BRAVO, J.; RUIZ, A.; RAMOS, A. & MARTINEZ, R. - Cuadro clínico de la fiebre hemorrágica del dengue, síndrome de choque del dengue en el adulto. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 104: 560-571, 1988.
6. GUBLER, D.J.; KUNO, G.; SATHER, G.E.; VELEZ, M. & OLIVER, A. - Mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue virus. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 33: 158-165, 1984.
7. GUZMAN, M.G.; KOURI, G.; BRAVO, J.; SOLER, M.; MORIER, L. & VAZQUEZ, S. - Dengue Haemorrhagic Fever in Cuba, 1981; A Retrospective Seroepidemiologic Study. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 42: 179-184, 1990.
8. HALSTEAD, S.B. - Dengue haemorrhagic a public health problem and field for research. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 58: 1-21, 1980.
9. HALSTEAD, S.B. - The pathogenesis of dengue. Molecular epidemiology in infections disease. *Amer. J. Epidem.*, 114: 632-638, 1981.
10. HAMMON, W. MCD.; RUDNICK, A.; SATHER, G.F.; ROGERS, K.D.; CHAN, V.; DIZON, J.J. & BASAKA SEVILLA, D. - Studies on Philippine hemorrhagic fever: relationship to dengue viruses. In: PACIFIC SCIENTIFIC CONGRESS, 9., Bangkok, 1957. *Proceedings*. p. 67-72.
11. KOURI, G.; MAS, P.; GUZMAN, M.G.; SOLER, M.; GOYENECHEA, R. & MORIER, L. - Dengue hemorrágico en Cuba, 1981. Diagnóstico rápido del agente etiológico. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 93: 414-420, 1982.
12. NOGUEIRA, R.M.; SCHATZMAYR, H.G.; MIRGOSTOVICH, M.P.; FARIAS, M.F. & FARIAS FILHO, J. - Virological study of a dengue type 1 epidemic

- at Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 83: 219-225, 1988.
13. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - Dengue in the Caribbean, 1977. Washington, 1979. (Publicación Científica N° 375).
 14. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - Las condiciones de salud en las Américas 1985-88, Washington, 1990. v. 1, p. 157-163. (Publicación Científica N° 524).
 15. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - El vector *Aedes albopictus* en las Américas. Washington, 22 de Septiembre de 1986. (CSP22/INF/3-ESP).
 16. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue in Puerto Rico. *Dengue Surveillance Summary*, N° 28, November 1985.
 17. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. *Aedes albopictus* infestation in the United States. *Dengue Surveillance Summary*, N° 30, February, 1986.
 18. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue in Venezuela. *Dengue Surveillance Summary*, N° 31, March, 1986.
 19. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue in the Americas, 1985. *Dengue Surveillance Summary*, N° 33, May, 1986.
 20. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue in Puerto Rico. *Dengue Surveillance Summary*, N° 34, June, 1986.
 21. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Fatal Dengue Shock Syndrome in Puerto Rico. *Dengue Surveillance Summary*, N° 36, August, 1986.
 22. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue Hemorrhagic Fever in St. Lucia and the Dominican Republic. *Dengue Surveillance Summary*, N° 38, October, 1986.
 23. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in El Salvador. *Dengue Surveillance Summary*, N° 48, November, 1987.
 24. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue in the Caribbean Basin and South America. *Dengue Surveillance*, N° 51, April, 1988.
 25. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Epidemic Dengue 1 in Ecuador. *Dengue Surveillance Summary*, N° 52, May, 1988.
 26. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Epidemic Dengue 1 in Ecuador. *Dengue Surveillance Summary*, N° 53, May, 1988.
 27. San Juan, Puerto Rico. Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control. Dengue in Paraguay. *Dengue Surveillance Summary*, N° 54, July, 1988.
 28. YAMAGUISHI, H. & YOSMIONA, I. - A modified method for the preparation of antigens for the indirect fluorescent antibody technique with Japanese encephalitis virus. *Kitasato Arch. exp. Med.*, 50: 3-4, 1977.

Recebido para publicação em 07/01/1991.

Aceito para publicação em 11/07/1991.