

Denga zagraża Polsce

Zdzisław Gliński

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Denga jest klasycznym przykładem wpływu ocieplenia klimatu na przesunięcie się granicy zasięgu wektorów wielu chorób wirusowych i związanych z nimi chorób na dotychczas dziewicze pod tym względem tereny. Już od 2010 r. przypadki dengi pojawiły się w Europie (1). Należy pamiętać, że od 2010 r. denga występuje jako zakażenie rodzime we Francji (Nizza) i w Chorwacji, i znaleziono komary przenoszące tę chorobę w cieplarniach w Holandii. Zawleczenie dengi do Europy jest związane z szybkimi podróżami lotniczymi i możliwością zawleczenia komarów w rejonach wokół lotnisk. W Europie Środkowej i Wschodniej, w tym w Polsce i Czechach, do niedawna chorowały na dengę tylko osoby, które zakażyły się podczas pobytu w miejscach jej endemicznego występowania.

Denga występuje w ponad 100 krajach (Afryka, obydwie Ameryki, kraje leżące w części wschodniej basenu Morza Śródziemnego, Azja Północno-Wschodnia, Zachodni Pacyfik) i corocznie diagnozuje się od 50 do 100 milionów nowych zakażeń. U około 50% chorych, głównie u dzieci, występuje gorączka denga, krwotoczna gorączka denga lub zespół wstrząsowy dengi. W chorobie o ciężkim przebiegu śmiertelność jest wysoka (2). Najczęściej denga jest przenoszona przez komara z człowieka na człowieka, ale rezerwuar dzikich zwierząt może odgrywać pewną rolę w krążeniu wirusa w naturalnych warunkach. W Europie sytuacja epidemiologiczna zmieniła się dramatycznie, gdy w Czechach zachorował na dengę pacjent, który nigdy nie opuścił swojego kraju oraz gdy w południowej Europie zagościł na stałe komar tygrysi *Aedes albopictus*. Komar ten jest wektorem wirusa dengi (DENV) w krajach o niższej temperaturze, podczas gdy *A. aegypti* przenosi chorobę głównie w tropikach. Do Czech zakażony komar tygrysi został najprawdopodobniej przeniesiony w lukach samolotu z terenów endemicznego występowania dengi. Ostatnio na świecie przypadki dengi, zarówno w formie łagodnej, jak ciężkiej, gwałtownie rosną i Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) przyjmuje, że około 50% populacji ludzi jest zagrożona tą chorobą (3).

Wirus dengi

Wirus dengi (DENV, *Flaviviridae*) o kształcie dwudziestościanu z ostką i sferycznym rdzeniem nukleokapsydu (4), genomie zbudowanym z jednopałsmowego RNA o polaryzacji dodatniej, replikuje się w cytoplazmie zakażonej komórki w powiązaniu z siateczką śródplazmatyczną. Wirus opuszcza komórkę w wyniku jej lizy. RNA wirusa działa jako mRNA w syntezie białek wirusowych oraz jako matryca w syntezie komplementarnej do niej nici służącej jako matryca do syntezy RNA następnej kopii wirusa. Dojrzały wirus posiada 3 białka strukturalne: białko kapsydu

Dengue is threatening Poland

Gliński Z., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Science in Lublin

The global incidence of dengue has grown dramatically in recent decades. About half of the world's population is now considered to be at risk. Dengue viruses (DENV), are the most widespread arboviruses transmitted mainly by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. There are five dengue virus serotypes: DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 and DENV-5. The majority of DENV infections proceed asymptotically or result in self-limited dengue fever. Subsequent infections increase the risk of developing more severe manifestations, such as dengue hemorrhagic fever (DHF), and dengue shock syndrome (DSS). Different serotypes of DENV are imported from dengue endemic areas to Poland by travelers. Now, the risk of autochthonous outbreak of dengue in EU is anticipated to overlap with *Aedes albopictus* vector appearance.

Keywords: emerging dengue, *Aedes albopictus*, Poland.

(C, 11 kDa), błony (M, około 8 kDa) i ostłonki (E, 53 kDa) (5) z trzema domenami. Domena I znajduje się pomiędzy domeną II i domeną III (6). Glikoproteina otoczka dojrzałego wirusa DENV zawiera 180 kopii białka M i E. Natomiast białko prM bierze udział w powstawaniu i dojrzewaniu wirionu. Wirus traci zdolności chorobotwórcze przy temperaturze otoczenia poniżej 20°C (6), zaś choroba nie pojawia się na wysokości powyżej 600 m n.p.m. (7).

Z pięciu znanych serotypów DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 i DENV-5 (8), cztery: DENV-1 – DENV-4, stwierdzono w Polsce u osób zakażonych na terenach endemicznych dengi (9). Serotypy od DENV-1 do DENV-4 wyewoluowały ze szczepów w lasach Azji Południowo-Wschodniej (10). Serotypy DENV-2 i DENV-3 wywołują najczęściej łagodną postać choroby – gorączkę denga (DF; 11), przy czym serotyp DENV-2 z Azji Południowo-Wschodniej jest bardziej zjadliwy aniżeli DENV-2 z Ameryki, który jest główną przyczyną gorączki dengi (12).

Odporność po zakażeniu jest silna w stosunku do serotypu homologicznego i średnio trwa 2 lata, natomiast w stosunku do serotypu heterologicznego jest bardzo słaba, trwa kilka miesięcy (13) i dlatego odporność indukowana zakażeniem jednym serotypem nie chroni w pełni przed zakażeniem serotypami heterologicznymi (14). Zakażenie DENV indukuje wystąpienie krwotocznej gorączki denga (dengue hemorrhagic fever – DHF) i/lub zespołu wstrząsowego dengi (dengue shock syndrome – DSS; 15, 16). U dzieci matek odpornych na dengę już po pierwotnym zakażeniu istnieje duże ryzyko rozwoju DHF/DSS (17).

DENV, który dostaje się z krwią zakażonego dengą pacjenta do organizmu samicy komara *A. aegypti* lub *A. albopictus*, zakaża jelito środkowe, skąd zakażenie

obejmuje narządy i tkanki oraz gruczoły ślinowe komara (18). DENV replikuje się w wielu typach hodowli komórkowych człowieka (K562, U937, THP-1, HepG2, HUVEC, ECV304, Raji, HSB-2, Jurkat, LoVo, KU812), małpy (Vero, BS-C-1, CV-1; 14), makrofagach myszy (19) i komara (20).

Komary wektorem dengi

Jedynymi wektorami DENV są komary *Aedes aegypti* i *A. albopictus*, przy czym *A. albopictus* jest wektorem szczepów, które w organizmie człowieka nie osiągają po replikacji wysokiego miana, czego efektem jest choroba o słabiej wyrażonych objawach lub o mniej ciężkim przebiegu (21). *Aedes albopictus* jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych i najliczniej występującym, a przy tym najbardziej inwazyjnym komarem na świecie. Występuje na całym obszarze Azji Południowo-Wschodniej i jest najważniejszy z punktu widzenia epidemiologii. Został zawleczony przez ludzi na inne kontynenty, zagraża ludziom chorobą chikungunya, żółtą gorączką, gorączką Zachodniego Nilu, japońskim zapaleniem mózgu oraz chorobami zika i dengi. Samce komarów żywią się nektarem kwiatów i sokiem warzyw, natomiast kłuszą samice, ponieważ krew kręgowców jest niezbędna do reprodukcji komarów. Atakują zwykle od świtu do południa, a następnie ponownie aktywują się tuż przed zmierzchem i są aktywne do godziny 21–22. Przy pochmurnej i wilgotnej pogodzie samice są aktywne przez cały dzień. Samica składa jajeczka tylko raz w ciągu życia, po około 6 tygodniach wykluwają się z nich larwy, które przechodzą w stadium poczwarki. Długość życia samicy wynosi 2–3 miesiące, nie przeżywa one zimy.

Patogeneza choroby

Celem ataku DENV są monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne i komórki Langerhansa skóry (22). Odczyn kwaśny w endosomach komórek umożliwia dysocjację homodimerów białka E osłonki wirusa, projekcję domeny I, a w efekcie uwolnienie nukleokapsydu wirusa do cytozolu zakażonej komórki (23). Zakażenie inicjuje produkcję INF- α , INF- β i INF- γ jako następstwo interakcji DENV z receptorami PRR (lektyny typu C, receptory Toll-podobne) na komórkach mieloidalnych (14), aktywację komórek NK – głównych producentów INF- γ (24) i aktywację szlaku sygnałowego Tyk2-STAT w komórkach dendrytycznych oraz ekspresji około 100 białek efektorowych (25). Odporność związana z przeciwciałami rozwija się po około 6 dniach po zakażeniu, przeciwciała neutralizujące są skierowane głównie przeciwko glikoproteinie E i prM wirusa. Przeciwciała o najsilniejszej zdolności neutralizacji wirusa są skierowane przeciwko domenie III glikoproteiny E, dominują jednak przeciwciała przeciwko domenie I oraz domenie II.

Patogeneza ciężkich postaci dengi nie jest w pełni wyjaśniona. Przeważa jednak pogląd o decydującym udziale „sztormu cytokinowego” w powstaniu gorączki krwotocznej dengi (DHF) i zespołu szoku (DSS) po zakażeniu heterologicznym serotypem DENV, co

powoduje uszkodzenie komórek, nieszczelność naczyń krwionośnych i objawy wstrząsopodobne (26, 27). Ze względu na fakt, że zakażenie jednym serotypem nie indukuje (14) w pełni działania ochronnego na serotypy heterologiczne, zakażenie serotypem heterologicznym jest czynnikiem ryzyka wystąpienia DHF/DSS (13, 14). Przeciwciała klasy IgG po związaniu się z białkami osłonki zakażającego wirusa ułatwiają jego wejście do monocytów, makrofagów, komórek dendrytycznych na drodze endocytozy za pośrednictwem fragmentu Fc (14).

Badania kliniczne jednoznacznie wykazały zwiększenie poziomu cytokin i mediatorów odczynów immunologicznych: TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-13, IL-18, MCP-1, and IFN- γ and IFN- α u chorych z DHF/DSS (28). Uszkodzenie śródbłonna naczyń krwionośnych i związane z tym wysiękanie osocza oraz koagulopatia są skutkiem infiltracji tkanek przez makrofagi i sekrecji TNF- α (29). W zakażeniu heterologicznym szczepem w sztormie cytokinowym zostają także aktywowane komórki T CD8+ do masywnej produkcji cytokin i modulatorów immunologicznych (30). Zwiększony poziom czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), białka zapalnego makrofagów (MIP-1 β), IFN- γ i IL-10 wykorzystuje się jako markery ciężkich postaci dengi (31, 32).

Objawy choroby

Klinicyści wyróżniają 3 kliniczne postaci choroby: klasyczną (DF, gorączka dengi), krwotoczną (DHF) oraz wstrząsową (DSS). Postać klasyczna (DF), jest ostrą chorobą gorączkową. Po 4–7-dniowym, rzadziej 3–14-dniowym okresie wylegania nagle pojawia się gorączka, bóle głowy, silne bóle mięśniowo-stawowe, łamanie w kościach kończyn i pleców, bóle załawkowe i często objawy żołądkowo-jelitowe. Z reguły występuje wysypka plamisto-grudkowa na tułowiu, wewnętrznej partii ramion, powierzchni podeszwy i dłoniowej kończyn oraz leukopenia i trombocytopenia. Najczęściej choroba trwa 4–7 dni i zwykle kończy się pełnym wyzdrowieniem. DENV pojawia się w krwi chorych w końcowym okresie wylegania i w pierwszych trzech dniach choroby. U dzieci choroba ma zwykle przebieg bezobjawowy lub występuje jedynie gorączka.

W postaci krwotocznej (DHF) wyróżnia się 2 okresy. Po objawach charakterystycznych dla DF, często w okresie gorączkowym lub po ustąpieniu gorączki, występuje drugi okres choroby z objawami skazy krwotocznej pod postacią krwawienia z nosa, wybroczyn na błonach śluzowych, czasem krwawych wymiotów lub stolców z domieszką krwi, trombocytopenia (<100 000 płytek krwi/mm³), wysięki na skutek zwiększonej przepuszczalności naczyń krwionośnych, spadek wartości hematokrytu o 20%, wodobrzusze, gromadzenie się płynu w jamie opłucnej (33).

Postać wstrząsowa (DSS) przebiega pod postacią wstrząsu ze śmiertelnością dochodzącą do 50% (3). Charakterystyczny jest szybki wzrost wartości hematokrytu, silne bóle brzucha, trwałe wymioty, i spadek ciśnienia krwi (34).

WHO wyróżnia dwie postacie dengi: dengę bez objawów lub z symptomami ostrzegającymi o możliwości wystąpienia ciężkiego przebiegu choroby oraz ciężką postać dengi (35). Do symptomów ostrzegających zalicza się ból lub napięcie powłok brzusznych, niestające wymioty, bladeść śluzówek, osłabienie, powiększenie śledziona powyżej 2 cm, wzrost hematokrytu z jednoczesnym szybkim zmniejszeniem się liczby płytek krwi.

Rozpoznanie

W diagnostyce wykorzystuje się testy MAC-ELISA do wykrywania przeciwciał w klasie IgG, ELISA do wykrywania przeciwciał IgG, test redukcji łyseinek i neutralizacji (PRNT) oraz RT-PCR, a także test wykrywania białka niestrukturalnego 1 (NS1) DENV. RT-PCR i NS1 cechuje 80–90% czułość i wysoka swoistość. W diagnostyce serologicznej należy uwzględnić reakcje krzyżowe DENV z wirusami odkleszczowego zapalenia mózgu (TBE) lub żółtej gorączki (1).

Profilaktyka i zwalczanie

Globalnej strategii zapobiegania i zwalczania dengi, zalecanej przez WHO na lata 2012–2020, która zakładała obniżenie zachorowalności o 50% i śmiertelności co najmniej o 25% do 2015 r. nie udało się zrealizować. Jest ona ciągle aktualna i umożliwia osiągnięcie sukcesu przy wczesnym wykryciu epidemii, określeniu czynników ryzyka, kierunków rozprzestrzeniania się choroby, monitoringu czynników środowiskowych, wdrożenia programów prewencji i oceny efektów leczenia. Konieczne jest specjalistyczne szkolenia personelu medycznego, koordynacja badań epidemiologicznych i entomologicznych na szeroką skalę, opracowanie zintegrowanych metod zwalczania wektorów, kontroli źródeł wody oraz opracowanie skutecznych i tanich szczepionek. Śmiertelność może zostać bardzo ograniczona, nawet do minimum, w przypadku wczesnego i szybkiego rozpoznania klinicznego i laboratoryjnego choroby i usprawnienia sposobów leczenia. Test diagnostyczny NS1 należy włączyć do wczesnego rozpoznania choroby. Obecność DENV można wykryć w surowicy, osoczu, erytrocytach krwi obwodowej i innych tkankach w okresie od pojawienia się pierwszych objawów choroby do 450. dnia od zakażenia. W chorobie o ostrym przebiegu diagnostyka powinna być ukierunkowana na izolację wirusa, wykrycie jego genomu lub antygenów. Pod koniec ostrej fazy choroby odczyny serologiczne wykrywania przeciwciał anti-DENV w klasie IgM i IgG są metodą z wyboru. Na terenach występowania wektorów dengi przy braku krążeń DENV muszą być podejmowane działania redukujące ryzyko transmisji choroby, a więc szybkie wykrycie sporadycznego zachorowania i ustalenia jego charakteru (zakażenia rodzime lub z terenów endemicznych), monitoring wektorów i ich zwalczanie. Kraje, w których istnieje ryzyko pojawienia się wektorów DENV, muszą kontrolować wszystkie drogi (porty, lotniska) przedostania się wektorów wirusa oraz przeprowadzać akcje

uświadamiające odnośnie do zagrożenia dengą, metod profilaktyki, leczenia i zwalczania choroby (2).

Problem szczepionek przeciwko dencze pozostaje nadal otwarty (36, 37). Żywa atenuowana, rekombinowana tetrawalentna szczepionka CYD-TDV lub Dengvaxia® dla serotypów DENV-1 – DENV-4, jest zarejestrowana w wielu krajach do szczepień prewencyjnych. Na terenach endemicznych szczepi się dzieci w wieku 9–16 lat. Poszczepionymi odczynami niepożądanym są bóle głowy, mięśni, stawów, osłabienie, ból w miejscu iniekcji i gorączka o niewielkim nasileniu (38). Nadzieje budzą będące w fazie badań żywe atenuowane czterowalentne szczepionki (39, 40). Rekombinowane szczepionki chimeryczne (DENVax, TAK-003) zawierają komponenty DENV-1, DENV-2, DENV-3 i DENV-4. Firma Merck opracowała i bada rekombinowaną szczepionkę podjednostkową z ekspresją antygenów wirusa na komórkach *Drosophila* (38).

Piśmiennictwo

- Pancer K.W., Szkoła M.T., Gut W.: Imported cases of dengue in Poland and their diagnosis. *Przegląd Epidemiol.* 2014, **68**, 651–655.
- WHO: Global strategy for dengue prevention and control 2012–2020. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034_eng.pdf
- WHO: WHO report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases – dengue and dengue haemorrhagic fever. WHO, 2010. http://www.who.int/csr/resources/publications/dengue/CSR_ISR_2000_1/en/
- Kuhn R.J., Zhang W., Rossmann M.G., Pletnev S.V., Corver J., Lenches E., Jones C.T., Mukhopadhyay S., Chipman P.R., Strauss E.G., Baker T.S., Strauss J.H.: Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 2002, **108**, 717–725.
- Ma L., Jones C.T., Groesch T.D., Kuhn R.J., Post C.B.: Solution structure of dengue virus capsid protein reveals another fold. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101**, 3414–3419.
- Modis Y., Ogata S., Clements D., Harrison S.C.: Variable surface epitopes in the crystal structure of dengue virus type 3 envelope glycoprotein. *J. Virol.* 2005, **79**, 1223–1231.
- Wroczyńska A., Kuna A.: *Podróże i zdrowie*. Wydawnictwo Bezdruka, Kraków 2006.
- Mustafa M.S., Rasotgi V., Jain S., Gupta V.: Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Med. J. Armed Forces India* 2015, **71**, 67–70.
- Biernat B., Stańczak J., Szostakowska B., Wroczyńska A., Kuna A., Nahorski W.L., Racewicz M.: Different serotypes of dengue virus (DENV) imported by Polish travelers from dengue endemic areas to Poland. *Int. Maritime Health* 2015, **66**, 72–76.
- Wang E., Ni H., Xu R., Barrett A.D., Watowich S.J., Gubler D.J., Weaver S.C.: Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J. Virol.* 2000, **74**, 3227–3234.
- Pandey B.D., Igarashi A.: Severity-related molecular differences among nineteen strains of dengue type 2 viruses. *Microbiol. Immunol.* 2000, **44**, 179–188.
- Rico-Hesse R., Harrison L.M., Salas R.A., Tovar D., Nisalak A., Ramos C., Boshell J., de Mesa M.T., Nogueira R.M., da Rosa A.T.: Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology* 1997, **230**, 244–251.
- Srikiatkhanchorn A., Mathew A., Rothman A.L.: Immune-mediated cytokine storm and its role in severe dengue. *Semin. Immunopathol.* 2017, **39**, 563–574.
- Rodenhuis-Zybert I.A., Wilschut J., Smit J.M.: Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. *Cell. Mol. Life Sci.* 2010, **67**, 2773–2786.
- Guzman M.G., Kouri G., Valdes L., Bravo J., Vazquez S., Halstead S.B.: Enhanced severity of secondary dengue-2 infections: death rates in 1981 and 1997 Cuban outbreaks. *Rev. Panam Salud Public.* 2002, **11**, 223–227.
- Recker M., Blyuss K.B., Simmons C.P., Hien T.T., Wills B., Farrar J., Gupta S.: Immunological serotype interactions and their effect on the epidemiological pattern of dengue. *Proc. Bio. Sci.* 2009, **276**, 2541–2548.
- Halstead S.B., Lan N.T., Myint T.T., Shwe T.N., Nisalak A., Kalyanarooj S., Nimmannitya S., Soegijanto S., Vaughn D.W., Endy T.P.: Dengue hemorrhagic fever in infants: research opportunities ignored. *Emerg. Infect. Dis.* 2002, **8**, 1474–1479.

18. Molina-Cruz A., Gupta L., Richardson J., Bennett K., Black W., Barrillas-Mury C.: Effect of mosquito midgut trypsin activity on dengue-2 virus infection and dissemination in *Aedes aegypti*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2005, **72**, 631–637.
19. Moreno-Altamirano M.M., Sanchez-Garcia F.J., Legorreta-Herrera M., Guilar-Carmona I.: Susceptibility of mouse macrophage J774 to dengue virus infection. *Intervirology* 2007, **50**, 237–239.
20. Yazi M.M., Salas-Benito J.S., Lanz-Mendoza H., Hernandez-Martinez S., Del Angel R.M.: A putative receptor for dengue virus in mosquito tissues: localization of a 45-kDa glycoprotein. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002, **67**, 76–84.
21. Bäck A., Lundkvist Å.: Dengue viruses – an overview. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2013. doi: 10.3402/iee.v3i0.19839
22. Jessie K., Fong M.Y., Devi S., Lam S.K., Wong K.T.: Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization. *J. Infect. Dis.* 2004, **189**, 1411–1418.
23. Stiasny K., Allison S.L., Schalich J., Heinz F.X.: Membrane interactions of the tick-borne encephalitis virus fusion protein E at low pH. *J. Virol.* 2002, **76**, 3784–3790.
24. Azeredo E.L., De Oliveira-Pinto L.M., Zagne S.M., Cerqueira D.I., Nogueira R.M., Kubelka C.F.: NK cells, displaying early activation, cytotoxicity and adhesion molecules, are associated with mild dengue disease. *Clin. Exp. Immunol.* 2006, **143**, 345–356.
25. Ho L.J., Hung L.F., Weng C.Y., Wu W.L., Chou P., Lin Y.L., Chang D.M., Tai T.Y., Lai J.H.: Dengue virus type 2 antagonizes IFN- α but not IFN- γ antiviral effect via down-regulating Tyk2-STAT signaling in the human dendritic cell. *J. Immunol.* 2005, **174**, 8163–8172.S
26. Kuczera D., Assolini J.P., Tomiotto-Pellissier F., Pavanelli W.R., Silveira G.F.: Highlights for dengue immunopathogenesis: Antibody-dependent enhancement, cytokine storm, and beyond. *J. Interferon Cytokine Res.* 2018, **38**. <https://doi.org/10.1089/jir.2017.0037>
27. Kumar Patro A.R., Mohanty S., Prusty B.K., Singh D.K., Gaikwad S., Saswat T., Chattopadhyay S., Das B.K., Tripathy R., Ravindran B.: Cytokine signature associated with disease severity in dengue. *Viruses* 2019, **11**, 34: doi:10.3390/v11010034
28. Bozza F.A., Cruz O.G., Zagne S.M., Azeredo E.L., Nogueira R.M., Assis E.F., Kubelka C.F.: Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1 β and INF gamma as predictive factors for severity. *BMC Intec. Dis.* 2008 Jun 25;8:86. doi: 10.1186/1471-2334-8-86.
29. Yen Y.T., Chen H.C., Lin Y.D., Shieh C.C., Wu-Hsieh B.A.: Enhancement by tumor necrosis factor alpha of dengue virus-induced endothelial cell production of reactive nitrogen and oxygen species is key to hemorrhage development. *J. Virol.* 2008, **82**, 12312–12324.
30. Rothman A.L.: Cellular immunology of sequential dengue virus infection and its role in disease pathogenesis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2010, **338**, 83–98.
31. Malavige G.N., Gomes L., Alles L., Chang T., Salimi M., Fernando S., Nanayakkara K.D., Jayaratne S., Ogg G.S.: Serum IL-10 as a marker of severe dengue infection. *BMC Infect. Dis.* 2013, **13**, 341–351.
32. Lee Y.H., Leong W.Y., Wilder-Smith A.: Markers of dengue severity: A systematic review of cytokines and chemokines. *J. Gen. Virol.* 2016, **97**, 3103–3119.
33. Tsai C.J., Kuo C.H., Chen P.C., Changcheng C.S.: Upper gastrointestinal bleeding in dengue fever. *Am. J. Gastroenterol.* 1991, **86**, 33–35.
34. Gubler D.J.: Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol.* 2002, **10**, 100–1003.
35. WHO: Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. Geneva, Switzerland: 2009. <http://www.who.int/tdr/publications/documents/dengue-diagnosis>
36. Collier B.A., Clements D.E.: Dengue vaccines: progress and challenges. *Curr. Opin Immunol.* 2011, **23**, 391–398.
37. Johansson M.A., Hombach J., Cummings D.A.: Models of the impact of dengue vaccines: A review of current research and potential approaches. *Vaccine* 2011, **29**, 5860–5868.
38. Schwartz L.M., Halloran M.E., Durbin A.P., Longini I.M.: The dengue vaccine pipeline: Implications for the future of dengue control. *Vaccine* 2015, **33**, 3293–3298.
39. Capeding M.R., Tran N.H., Hadinegoro S.R., Ismail H.I., Chotpitay-asunondh T., Chua M.N., Luong C.Q., Rusmil K., Wirawan D.N., Nal-lusamy R., Pitisuttithum P., Thitsyakorn U., Yoon I.K., van der Vliet D., Langevin E., Laot T., Hutagalung Y., Frago C., Boaz M., Wartel T.A., Tornieporth N.G., Saville M., Bouckennooghe A.: 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**, 1358–1365.
40. WHO: Dengue vaccine: WHO position paper – July 2016. *Weekly Epidemiol. Rec.* 2016, **30**, 349–364.