

Jumlah limfosit absolut dan relatif pada infeksi dengue

Bambang Ardianto¹, Sumadiono², Sutaryo²

¹Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/
Rumah Sakit Dr. Sardjito, Yogyakarta

ABSTRACT

Bambang Ardianto, Sumadiono, Sutaryo - *Absolute and relative lymphocyte counts in dengue infection*

Background: Dengue infection is one of Indonesia's health problems. Lymphocytes are thought to be involved in dengue pathogenesis.

Objectives: To determine whether there were any differences on absolute and relative lymphocyte counts between dengue and non-dengue febrile patients and among dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever without shock (DHF), dengue shock syndrome (DSS), and non-dengue (ND) patients.

Methods: A cross-sectional study was conducted on dengue and non-dengue patients hospitalized at "Empat Lima" Hospital, Yogyakarta, during the period of November 23, 2001-January 22, 2002. The diagnosis of dengue infection was confirmed by HI test. Absolute and relative lymphocyte counts were obtained from serial peripheral blood films stained with Giemsa's staining.

Results: Thirty-eight DF, 10 DHF, 16 DSS, and 86 ND patients were involved in this study. Absolute and relative counts of each degree were compared each other from the third day until the eighth day after the onset of fever. Absolute lymphocyte counts of dengue patients were higher than those of non-dengue patients on day 5 ($p=0.047$) and 6 ($p=0.022$). Absolute lymphocyte counts of DHF patients were higher than those of DF, DSS, and ND patients on day 5 (DF vs. DHF, $p=0.003$; DHF vs. DSS, $p=0.001$; ND vs. DHF, $p<0.001$). Absolute lymphocyte counts of DHF patients were higher than those of ND patients on day 6 ($p=0.018$). Relative lymphocyte counts of DF patients were higher than those of DSS patients on day 6 ($p=0.023$), while relative lymphocyte counts of ND patients were higher than those of DSS patients on day 7 ($p=0.026$).

Conclusion: There were significant differences in absolute lymphocyte counts between dengue and non-dengue patients, DF and DHF patients, DHF and DSS patients, and ND and DHF patients, and in relative lymphocyte counts between DF and DSS patients, and ND and DSS patients.

Key words: lymphocyte count, dengue infection, dengue shock syndrome, non-dengue infection

ABSTRAK

Bambang Ardianto, Sumadiono, Sutaryo - *Jumlah limfosit absolut dan relatif pada infeksi dengue*

Latar belakang: Infeksi dengue merupakan salah satu masalah kesehatan yang dihadapi oleh masyarakat Indonesia. Limfosit diduga berperan dalam patogenesis infeksi dengue.

Tujuan penelitian: Mengetahui ada-tidaknya perbedaan dalam hal jumlah limfosit absolut dan relatif antara penderita infeksi dengue dan nondengue dan antara penderita demam dengue (DF), demam berdarah dengue tanpa renjatan (DHF), dengue shock syndrome (DSS), dan nondengue (ND).

Bahan dan cara: Penelitian ini adalah penelitian potong-lintang yang melibatkan penderita infeksi dengue dan nondengue yang dirawat di Rumah Sakit "Empat Lima", Yogyakarta, dalam kurun waktu 23 November 2001-22 Januari 2002. Diagnosis infeksi dengue ditegakkan dengan HI test. Jumlah limfosit absolut dan relatif diperoleh dari preparat apusan darah tepi yang dikumpulkan setiap hari dan dipulas dengan pewarna Giemsa.

Hasil penelitian: Tiga puluh delapan penderita DF, 10 penderita DHF, 16 penderita DSS, dan 86 penderita ND dilibatkan dalam penelitian ini. Jumlah limfosit absolut dan relatif masing-masing derajat dibandingkan satu sama lain selama hari ketiga hingga hari kedelapan setelah awitan demam. Jumlah limfosit absolut pada penderita infeksi dengue lebih tinggi daripada penderita nondengue pada hari kelima ($p=0,047$) dan keenam ($p=0,022$). Jumlah limfosit absolut pada penderita DHF adalah paling tinggi di antara seluruh penderita pada hari kelima (DF vs. DHF, $p=0,003$; DHF vs. DSS, $p=0,001$; ND vs. DHF, $p<0,001$). Jumlah limfosit absolut pada penderita DHF lebih tinggi daripada penderita ND pada hari keenam ($p=0,018$). Jumlah limfosit relatif pada penderita DF lebih tinggi daripada penderita DSS pada hari keenam ($p=0,023$), sedangkan jumlah limfosit relatif pada penderita ND lebih tinggi daripada penderita DSS pada hari ketujuh ($p=0,026$).

Simpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna dalam hal jumlah limfosit absolut antara penderita infeksi dengue dan nondengue, DF dan DHF, DHF dan DSS, dan ND dan DHF, dan dalam hal jumlah limfosit relatif antara penderita DF dan DSS, dan ND dan DSS.

(B.I.Ked. Vol. 34, No.4: 221-229, 2002)

PENGANTAR

Infeksi dengue merupakan salah satu masalah kesehatan yang dihadapi oleh masyarakat Indonesia karena meningkatnya jumlah penderita dan tingginya jumlah kematian akibat infeksi dengue. Hal ini diakibatkan oleh berbagai faktor, antara lain peningkatan jumlah penduduk, peningkatan laju urbanisasi, kurang efektifnya program pemberantasan sarang nyamuk, dan meningkatnya transportasi antar daerah.¹

Limfosit memainkan peran yang penting dalam mekanisme pertahanan terhadap virus dengue^{2,3}, tetapi aktivitas protein sitotoksik, antibodi anti-dengue, dan sitokin yang diproduksi oleh limfosit diduga turut berperan dalam mekanisme terjadinya demam berdarah dengue dan *dengue shock syndrome*.^{4,5} Di samping itu, pada penderita infeksi dengue dapat ditemukan kenaikan jumlah limfosit atipikal yang lebih tinggi dibanding pada penderita infeksi bakterial dan virus lain.^{6,7}

Penelitian mengenai jumlah limfosit pada infeksi dengue telah dilakukan oleh banyak peneliti^{8,9}, tetapi pada penelitian tersebut penderita infeksi dengue tidak dikelompokkan ke dalam demam dengue, demam berdarah dengue tanpa renjatan, dan *dengue shock syndrome*. Dalam penelitian ini dibandingkan jumlah limfosit absolut dan relatif pada penderita ketiga derajat infeksi dengue tersebut dan penderita nondengue sebagai pembanding. Karena pemeriksaan hitung limfosit merupakan pemeriksaan yang murah dan dikerjakan rutin, hasil yang diperoleh dalam penelitian ini diharapkan dapat

digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis infeksi dengue.

BAHAN DAN CARA

Desain penelitian

Penelitian ini adalah penelitian potong-lintang yang melibatkan penderita infeksi dengue dan penderita nondengue yang dirawat di Rumah Sakit "Empat Lima", Yogyakarta, dalam kurun waktu 23 November 2001 - 22 Januari 2002. Diagnosis infeksi dengue ditegakkan dengan *hemagglutination inhibition test* (HI test). Penderita infeksi dengue kemudian dikelompokkan ke dalam demam dengue, demam berdarah dengue tanpa renjatan, dan *dengue shock syndrome* berdasarkan kriteria WHO¹⁰. Pada penelitian ini, dalam beberapa hari setelah awitan demam, dibandingkan jumlah limfosit absolut dan relatif pada penderita infeksi dengue dan nondengue dan pada penderita demam dengue (DF), demam berdarah dengue tanpa renjatan (DHF), *dengue shock syndrome* (DSS), dan nondengue (ND).

Sampel darah

Sampel darah yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah perifer yang diambil setiap hari selama penderita dirawat di rumah sakit. Preparat apusan darah tepi dibuat dan dipulas dengan pewarna Giemsa. Jumlah limfosit relatif merupakan persentase limfosit dalam 200 leukosit, sedangkan jumlah limfosit absolut diperoleh dengan mengalikan

jumlah limfosit relatif dengan jumlah leukosit. Untuk menentukan jumlah leukosit, digunakan pewarna Turk dan bilik hitung *Improved Neubauer*.

Analisis data

Perbandingan jumlah leukosit, jumlah limfosit absolut, dan jumlah limfosit relatif pada penderita infeksi dengue dan nondengue dilakukan dengan *independent sample t-test*, sedangkan perbandingan antara penderita DF, DHF, DSS, dan ND dilakukan dengan *one-way analysis of variance* (ANOVA). Analisis data dilakukan dengan program SPSS versi 8.0. Nilai $p < 0,05$ digunakan untuk menentukan perbedaan yang bermakna antara 2 variabel yang dianalisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi penderita

Pada penelitian ini dilibatkan 38 penderita DF, 10 penderita DHF, 16 penderita DSS, dan 86 penderita ND, yang secara keseluruhan terdiri dari 78 penderita laki-laki dan 72 penderita perempuan. Dengan demikian, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah penderita laki-laki dan

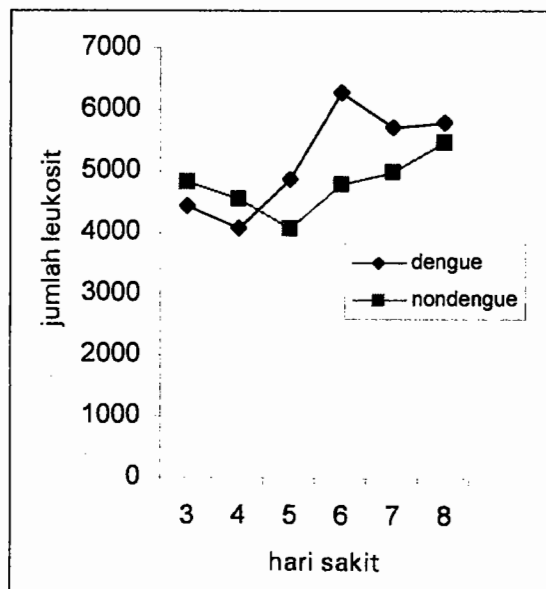
perempuan ($p > 0,05$). Rata-rata usia penderita DF, DHF, DSS, dan ND masing-masing adalah $8,27 \pm 4,67$; $7,50 \pm 4,43$; $8,05 \pm 4,04$; $7,36 \pm 4,09$ tahun. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara rata-rata usia penderita DF, DHF, DSS, dan ND ($p > 0,05$).

Jumlah leukosit pada penderita infeksi dengue dan nondengue

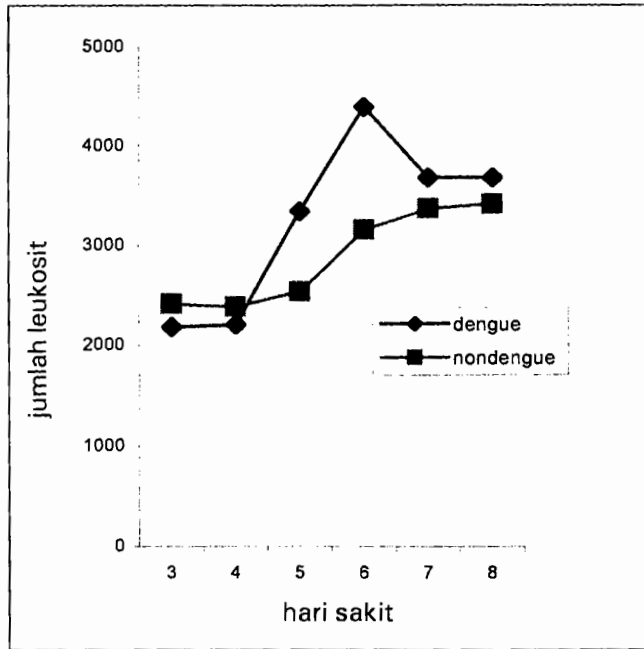
Jumlah leukosit pada penderita infeksi dengue meningkat sejak hari ketiga dan mencapai puncaknya pada hari keenam, kemudian jumlah tersebut menurun pada hari ketujuh dan kedelapan. Perbedaan yang bermakna antara penderita infeksi dengue dan nondengue ditemukan pada hari keenam, di mana jumlah leukosit pada penderita infeksi dengue lebih tinggi daripada penderita nondengue ($6265,96$ vs. $4818,18/\text{mm}^3$, $p = 0,026$, 95% CI 175,12-2720,44) (GAMBAR 1).

Jumlah limfosit absolut pada penderita infeksi dengue dan nondengue

Jumlah limfosit absolut pada penderita infeksi dengue meningkat sejak hari ketiga dan mencapai puncak pada hari keenam, kemudian jumlah tersebut



GAMBAR 1. Jumlah leukosit pada penderita infeksi dengue dan nondengue
Hari ke-6: dengue vs. nondengue, $p = 0,026$



GAMBAR 2. Jumlah limfosit absolut pada penderita infeksi dengue dan nondengue
 Hari ke-5: dengue vs. nondengue, $p=0,047$
 Hari ke-6: dengue vs. nondengue, $p=0,022$

akan menurun pada hari ketujuh dan kedelapan. Perbedaan yang bermakna antara penderita infeksi dengue dan nondengue ditemukan pada hari kelima dan keenam, di mana jumlah limfosit absolut pada penderita infeksi dengue lebih tinggi daripada penderita nondengue (hari ke-5: 3346,66 vs. 2442,85/mm³, $p=0,047$, 95% CI 9,41-1605,50; hari ke-6: 4396,79 vs. 3161,84/mm³, $p=0,022$, 95% CI 186,41-2283,49) (GAMBAR 2).

Fase kritis infeksi dengue berkaitan dengan kecenderungan terjadinya renjatan dan turunnya jumlah trombosit. Pada sebagian besar penderita fase ini berlangsung pada hari kelima dan keenam setelah awitan demam^{6,11,12}. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini serupa dengan hasil yang diperoleh Green *et al*⁸.

Limfosit mula-mula diproduksi oleh sumsum tulang. Namun demikian, limfosit T mengalami pematangan di dalam timus, sedangkan limfosit B tetap berada di dalam sumsum tulang. Limfosit yang baru saja mengalami pematangan tersebut bersirkulasi dalam peredaran darah sebagai *naive lymphocytes*. Apabila terjadi infeksi oleh suatu agen infeksius, limfosit yang bersifat spesifik tersebut akan mengalami aktivasi di dalam jaringan limfoid

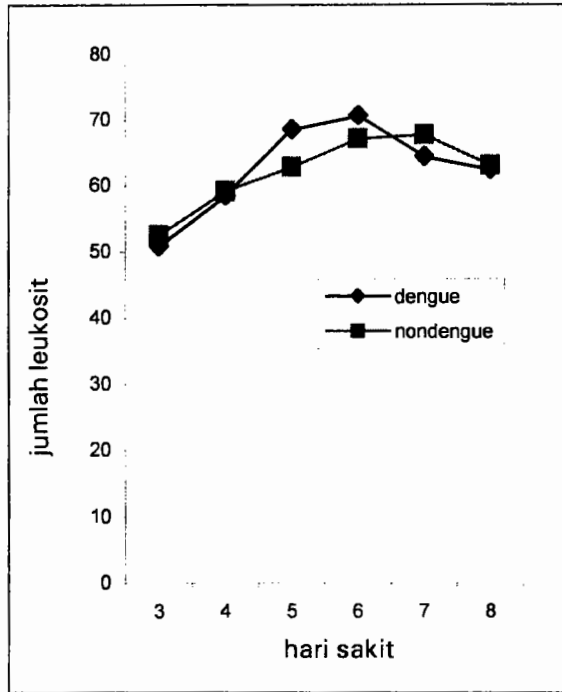
perifer dan kemudian akan dilepaskan kembali ke peredaran darah¹³.

Beberapa penelitian menemukan pada fase demam infeksi dengue terjadi penurunan aktivitas hemopoiesis sumsum tulang. Hal ini diakibatkan oleh berbagai faktor, misalnya infeksi virus dengue pada sel-sel darah muda dan stroma sumsum tulang dan aktivitas mediator kimia^{2,14,15,16}. Sementara itu, limfosit yang bersirkulasi dalam peredaran darah bermigrasi ke jaringan limfoid perifer⁸. Namun demikian, aktivitas proliferasi limfosit mengalami penurunan^{17,18}.

Beberapa penelitian menemukan pada fase kritis infeksi dengue terjadi peningkatan aktivitas sumsum tulang dan peningkatan aktivitas proliferasi limfosit^{8,14,19}. Beberapa peneliti, seperti Koraka *et al*⁸ dan Green *et al*²⁰, menyebutkan bahwa peningkatan aktivitas limfosit pada penderita infeksi dengue lebih tinggi daripada penderita nondengue.

Jumlah limfosit relatif penderita infeksi dengue dan nondengue

Jumlah limfosit relatif pada penderita infeksi dengue meningkat sejak hari ketiga dan mencapai



GAMBAR 3. Jumlah limfosit relatif pada penderita infeksi dengue dan nondengue
Tidak ditemukan perbedaan yang bermakna ($p>0,05$)

puncak pada hari keenam, kemudian jumlah tersebut menurun pada hari ketujuh dan kedelapan. Namun demikian, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara penderita infeksi dengue dan nondengue ($p>0,05$) (GAMBAR 3).

Jumlah limfosit relatif menunjukkan persentase limfosit dalam leukosit²¹. Dalam penelitian ini, selain terdapat peningkatan jumlah limfosit absolut, juga terdapat peningkatan jumlah leukosit pada fase kritis, tetapi peningkatan jumlah limfosit absolut lebih tinggi daripada peningkatan jumlah leukosit (GAMBAR 1 dan 2). Hal inilah yang menyebabkan peningkatan jumlah limfosit relatif pada fase kritis. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini serupa dengan hasil yang diperoleh Green *et al*⁸ dan Hotta dan Shiomi⁹.

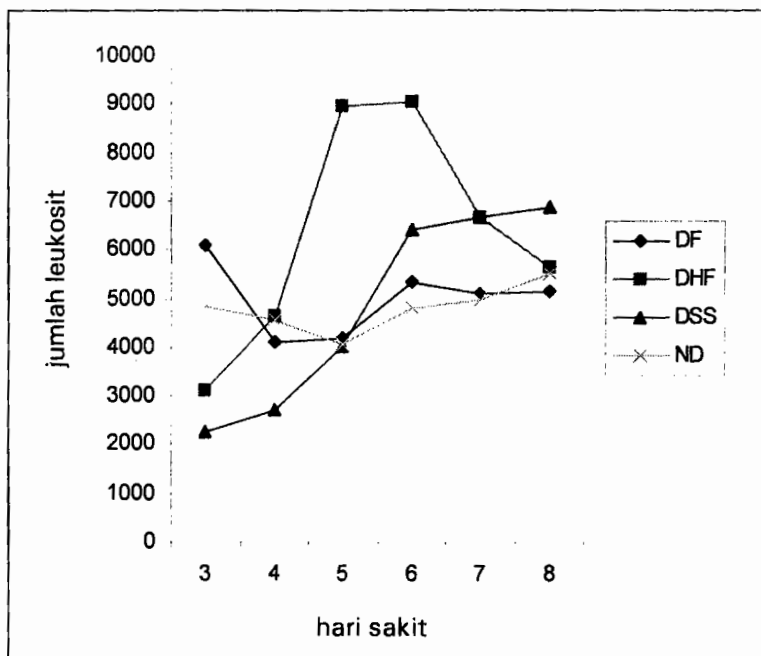
Jumlah leukosit pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND

Jumlah leukosit pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND ditunjukkan dalam GAMBAR 4. Perbedaan yang bermakna antara keadaan-keadaan tersebut ditemukan pada hari kelima dan keenam. Pada hari

kelima jumlah leukosit pada penderita DHF ($8971,43/mm^3$) lebih tinggi daripada penderita DF ($4184/mm^3$, $p=0,005$, 95% CI 2198,84-7376,02), DSS ($4046,15/mm^3$, $p=0,006$, 95% CI 2087,35-7763,20), dan ND ($4091,67/mm^3$, $p=0,002$, 95% CI 2461,97-7297,56), sedangkan pada hari keenam jumlah leukosit pada penderita DHF lebih tinggi daripada penderita ND ($9033,33$ vs. $4818,18/mm^3$, $p=0,040$, 95% CI 1430,56-6999,74).

Jumlah limfosit absolut pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND

Jumlah limfosit absolut pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND ditunjukkan dalam GAMBAR 5. Perbedaan yang bermakna antara keadaan-keadaan tersebut ditemukan pada hari kelima dan keenam. Pada hari kelima jumlah limfosit absolut pada penderita DHF ($6486,86/mm^3$) lebih tinggi jika dibandingkan dengan penderita DF ($2848/mm^3$, $p=0,003$, 95% CI 1842,42-5435,29), DSS ($2576,38mm^3$, $p=0,001$, 95% CI 1949,92-5871,03), dan ND ($2539,21/mm^3$, $p<0,001$, 95% CI 2274,33-5620,97), sedangkan pada hari keenam jumlah



GAMBAR 4. Jumlah leukosit pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND
 Hari ke-5: DF vs. DHF, $p=0,005$; DHF vs. DSS, $p=0,006$; ND vs.
 DHF, $p=0,002$ Hari ke-6: ND vs. DHF, $p=0,040$

limfosit absolut pada penderita DHF lebih tinggi daripada penderita ND (6883,72 vs. 3161,84/mm³, $p=0,018$, 95% CI 1447,23-5996,55).

Green *et al*⁸, yang menggabungkan penderita-penderita DHF dan DSS dalam satu kelompok (DHF/DSS), melaporkan bahwa perbedaan yang bermakna dalam hal jumlah limfosit absolut antara penderita DF dan DHF/DSS terjadi pada fase demam, di mana jumlah limfosit absolut pada penderita DHF/DSS lebih rendah daripada penderita DF.

Sebagian besar penderita DHF dan DSS telah memiliki antibodi terhadap virus dengue dengan serotipe yang berbeda dengan serotipe yang menginfeksi saat itu^{22,23}. Adanya antibodi tersebut akan meningkatkan aktivitas proliferasi limfosit²⁴.

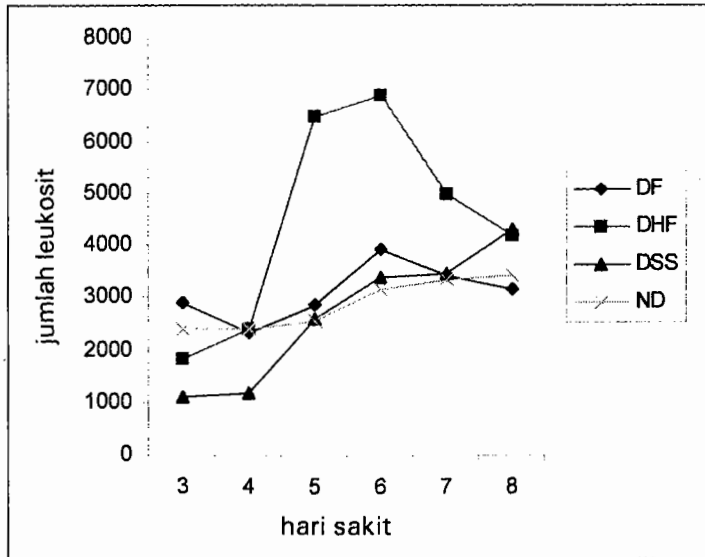
Relatif rendahnya jumlah limfosit absolut pada penderita DSS jika dibandingkan dengan penderita DHF dapat diakibatkan oleh berbagai faktor. Juffrie dkk²⁵ dan Raghupathy *et al*²⁶ melaporkan terjadinya peningkatan konsentrasi mediator kimia yang berfungsi sebagai *chemoattractant*, seperti IL-8, yang lebih tinggi pada penderita DSS daripada penderita DHF. Apakah sitokin itu mempengaruhi

proliferasi limfosit pada infeksi dengue masih perlu penelitian lebih lanjut.

Pada GAMBAR 5 tampak peningkatan jumlah limfosit yang mencolok dari hari keempat ke hari kelima pada DHF (tanpa syok) dan ini bertahan sampai hari keenam, sedangkan pada DSS peningkatan limfosit itu sama sekali tidak mencolok. Ini mengesankan sekiranya antara hari keempat sampai hari keenam pemantauan jumlah limfosit dilakukan sering-sering, misalnya setiap 6 jam, maka tidak adanya perubahan yang mencolok dari jumlah limfosit absolut mungkin dapat dipakai sebagai alasan untuk berhati-hati akan kemungkinan timbulnya syok. Apakah tidak adanya perubahan jumlah limfosit yang mencolok itu dipengaruhi oleh resusitasi cairan (yang sangat intensif pada kasus DSS maupun pada presyok) perlu penelitian lebih lanjut.

Jumlah limfosit relatif pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND

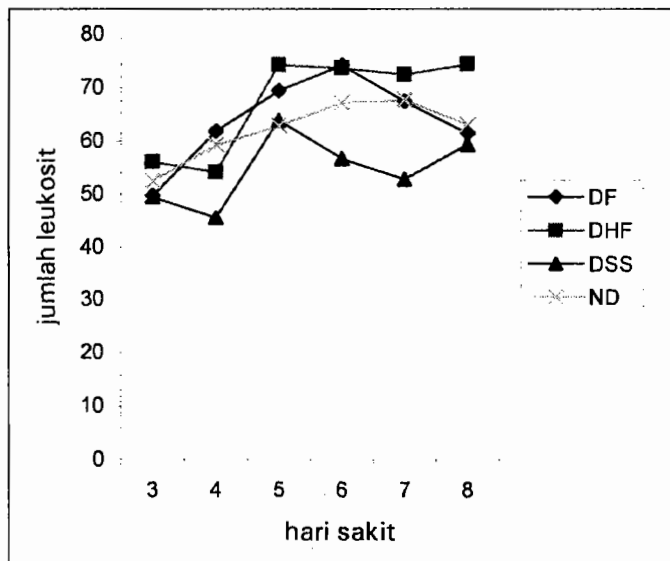
Jumlah limfosit relatif pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND ditunjukkan dalam GAMBAR 6. Perbedaan yang bermakna antara keadaan-



GAMBAR 5. Jumlah limfosit absolut pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND
 Hari ke-5: DF vs. DHF, $p=0,003$; DHF vs. DSS, $p=0,001$; ND vs. DHF, $p<0,001$
 Hari ke-6: ND vs. DHF, $p=0,018$

keadaan tersebut ditemukan pada hari keenam, di mana jumlah limfosit relatif pada penderita DF lebih tinggi daripada penderita DSS (74,26 vs. 56,83%, $p=0,023$, 95% CI 1,77-33,08), dan hari ketujuh, di mana jumlah limfosit relatif pada penderita DSS lebih rendah daripada penderita ND (52,90 vs. 67,83%, $p=0,026$, 95% CI 1,28-28,59).

Penelitian yang dilakukan oleh Green *et al*⁸ melaporkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara penderita DF dan DHF/DSS. Terdapatnya perbedaan yang bermakna dalam penelitian ini mungkin diakibatkan oleh adanya perbedaan dalam hal jumlah limfosit absolut dan jumlah leukosit antara penderita DF dan DSS.



GAMBAR 6. Jumlah limfosit relatif pada penderita DF, DHF, DSS, dan ND
 Hari ke-6: DF vs. DSS, $p=0,023$
 Hari ke-7: ND vs. DSS, $p=0,026$

Jumlah limfosit absolut pada penderita DF lebih tinggi daripada penderita DSS, sedangkan jumlah leukosit pada penderita DF lebih rendah daripada penderita DSS. Namun demikian, perbedaan-perbedaan tersebut tidak menunjukkan adanya kemaknaan (GAMBAR 4 dan 5).

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diambil simpulan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dalam hal jumlah limfosit absolut antara penderita infeksi dengue dan nondengue, penderita DF dan DHF, penderita DHF dan DSS, dan penderita ND dan DHF. Di samping itu, terdapat perbedaan dalam hal jumlah limfosit relatif antara penderita DF dan DSS dan penderita ND dan DSS.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian-penelitian serupa dengan jumlah sampel yang lebih besar dan penelitian-penelitian untuk mengetahui apakah pemeriksaan hitung limfosit dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis dan meramalkan prognosis infeksi dengue.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Prof. dr. Sunarto, Sp.A(K) yang telah memberikan koreksi yang sangat berharga.

KEPUSTAKAAN

1. Gibbons RV, Vaughn DW. Dengue: An escalating problem. *BMJ* 2002 Jun 29; 324: 1563-6.
2. Bhamarapravati N. Pathology and pathogenesis of DHF. Proceedings of the First ICMR Seminar; 1980 Nov 21-22; Kobe, Japan. Kobe: International Center on Medical Research; 1981.
3. Hotta S. Pathogenesis and immunity of dengue infection in man. *Kobe J Med Sci* 1972 Dec; 18: 199-210.
4. Gagnon SJ, Ennis FA, Rothman AL. Bystander target cell lysis and cytokine production by dengue virus-specific human CD4(+) cytotoxic T-lymphocyte clones. *J Virol* 1999 May; 73(5): 3623-9.
5. Koraka P, Suharti C, Setiati TE, Mairuhu ATA, Van Gorp E, Hack CE, *et al.* Kinetics of dengue virus-specific serum immunoglobulin classes and subclasses correlate with clinical outcome of infection. *J Clin Microbiol* 2001 Dec; 39(12): 4332-8.
6. Soedarmo SSP. Demam berdarah (dengue) pada anak. 2nd ed. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press); 1988.
7. Suvatte V, Longsaman M. Diagnostic value of buffy coat preparation in dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1979 Mar; 10(1): 7-12.
8. Green S, Pichyangkul S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Nisalak A, *et al.* Early CD69 expression on peripheral blood lymphocytes from children with dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1999; 180: 1429-35.
9. Hotta S, Shiomi T. Blood picture of the experimental dengue infections in man and in mouse. *Acta Scholae Medicinalis Universitatis Kioto* 1952; 30: 11-7.
10. World Health Organization. Guidelines for treatment of dengue fever/dengue haemorrhagic fever in small hospitals. New Delhi: World Health Organization Regional Office for South-East Asia; 1999.
11. Ibrahim NM, Cheong I. Adult dengue haemorrhagic fever at Kuala Lumpur Hospital: retrospective study of 102 cases. *Br J Clin Pract* 1995 Jul-Aug; 49(4): 189-91.
12. Tai DY, Chee YC, Chan KW. The natural history of dengue illness based on a study of hospitalised patients in Singapore. *Singapore Med J* 1999 Apr; 40(4): 238-42.
13. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Immunobiology*. 5th ed. New York, London: Garland Publishing; 2001.
14. La Russa VF, Innis BL. Mechanisms of dengue virus-induced bone marrow suppression. *Baillieres Clin Haematol* 1995 Mar; 8(1): 249-70.
15. Spain-Santana TA, Marglin S, Ennis FA, Rothman AL. MIP-1 alpha and MIP-1 beta induction by dengue virus. *J Med Virol* 2001 Oct; 65(2): 324-30.
16. Srichaikul T, Nimmannitya S. Haematology in dengue and dengue haemorrhagic fever. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000 Jun; 13(2): 261-76.
17. Azeredo EL, Zagne SM, Santiago MA, Gouvea AS, Santana AA, Neves-Souza PC, *et al.* Characterisation of lymphocyte response and cytokine patterns in patients with dengue fever. *Immunobiology* 2001 Dec; 204(4): 494-507.
18. Mathew A, Kurane I, Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Suntayakorn S, *et al.* Impaired T cell proliferation in acute dengue infection. *J Immunol* 1999 May 1; 162(9): 5609-15.
19. Liu CC, Huang KJ, Lin YS, Yeh TM, Liu HS, Lei HY. Transient CD4/CD8 ratio inversion and aberrant immune activation during dengue virus infection. *J Med Virol* 2002 Oct; 68(2): 241-52.
20. Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Nisalak A, *et al.* Early immune activation in acute dengue illness is related to development of plasma leakage and disease severity. *J Infect Dis* 1999; 179: 755-62.
21. Gay JC, Athens JW. Variations of leukocytes in disease. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer

- JP, Rodgers GM, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology* volume 2. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1998: 1836-61.
22. Bhakdi S, Kazatchkine MD. Pathogenesis of dengue: an alternative hypothesis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1990 Dec; 21(4): 652-7.
 23. Sutaryo, Sunarto. Patogenesis demam berdarah dengue. *Berita Kesehatan Masyarakat* 1991; VII(1): 9-16.
 24. Kurane I, Innis BL, Nisalak A, Hoke C, Nimmannitya S, Meager A, et al. Human T cell responses to dengue virus antigens. Proliferative responses and interferon gamma production. *J Clin Invest* 1989 Feb; 83(2): 506-13.
 25. Juffrie M, van der Meer GM, Hack CE, Haasnoot K, Sutaryo, Veerman AJ, et al. Inflammatory mediators in dengue virus infection in children: interleukin-8 and its relationship to neutrophil degranulation. *Infect Immun* 2000 Feb; 68(2): 702-7.
 26. Raghupathy R, Chaturvedi UC, Al-Sayer H, Elbishbishi EA, Agarwal R, Nagar R, et al. Elevated levels of IL-8 in dengue hemorrhagic fever. *J Med Virol* 1998 Nov; 56(3): 280-5.