



Infeksi Dengue Sekunder: Patofisiologi, Diagnosis, dan Implikasi Klinis

Denni Marvianto,¹ Oktaviani Dewi Ratih,² Katarina Frenka Nadya Wijaya¹

¹Alumna Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, Banyumas, Jawa Tengah, Indonesia

²Klinik Pratama Imuni, Jakarta, Indonesia

ABSTRAK

Infeksi dengue sekunder merupakan infeksi dengue yang terjadi kali kedua. Infeksi kedua dengan serotipe berbeda dapat menyebabkan penyakit dengue yang lebih berat. Penelitian menunjukkan bahwa 98% kasus *dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome* (DHF/DSS) merupakan infeksi dengue sekunder. Patofisiologi yang menjadikan infeksi dengue sekunder lebih berat belum sepenuhnya dipahami, diduga berkaitan dengan mekanisme *antibody dependent enhancement* (ADE). Membedakan infeksi dengue primer dan sekunder penting agar dokter dan tenaga kesehatan mampu memprediksi prognosis dan keluaran klinis pasien.

Kata kunci: Dengue sekunder, DHF, diagnosis, implikasi klinis, patofisiologi

ABSTRACT

Dengue secondary infection is the second dengue infection. A second infection with different serotype tend to be more severe. Data shown that 98% cases of dengue hemorrhagic fever/ dengue shock syndrome (DHF/DSS) are dengue secondary infection. The pathophysiology of more severe cases is not fully understood; it is suspected to be related to antibody dependent enhancement (ADE) mechanism. Differentiating primary and secondary dengue infection is important to predict patient's prognosis and clinical outcome. **Denni Marvianto, Oktaviani Dewi Ratih, Katarina Frenka Nadya Wijaya. Dengue Secondary Infection: Pathophysiology, Diagnosis, and Clinical Implication**

Keywords: Secondary dengue, DHF, diagnosis, clinical implication, pathophysiology



Cermin Dunia Kedokteran is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

PENDAHULUAN

Demam dengue adalah suatu penyakit akibat infeksi virus dengue yang ditransmisikan ke manusia melalui gigitan nyamuk. Perantara utama penyebar penyakit ini adalah nyamuk *Aedes aegypti* dan pada tingkat yang lebih rendah adalah nyamuk *Aedes albopictus*.¹ Virus dengue (DENV) termasuk genus *Flavivirus*, famili *Flaviridae*, dan terdiri dari empat serotipe DENV (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4).² Infeksi dengue pertama kali disebut infeksi dengue primer dan infeksi dengue kedua disebut infeksi dengue sekunder. Penelitian menunjukkan bahwa risiko dengue berat lebih tinggi pada kasus infeksi dengue sekunder.³

WHO mendaftarkan dengue sebagai ancaman potensial di antara 10 ancaman kesehatan global di tahun 2019.⁴ Tingkat kematian

akibat dengue mencapai 20% pada penderita dengue berat.⁴ Jumlah kasus dengue yang dilaporkan ke WHO meningkat 8 kali lipat dalam dua dekade terakhir, dari 505.430 kasus di tahun 2000, menjadi lebih dari 2,4 juta kasus di tahun 2010, dan 5,2 juta kasus di tahun 2019. Tingkat kematian yang dilaporkan antara tahun 2000 dan 2015 meningkat dari 960 jadi 4032 kasus, dan umumnya terjadi pada kelompok umur yang lebih muda. Total kasus dan jumlah kematian di tahun 2020 dan 2021 menunjukkan penurunan. Meskipun demikian, data yang terkumpul belum lengkap karena pandemi COVID-19 menghambat pelaporan kasus di beberapa negara.¹

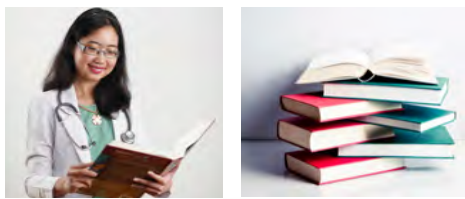
Deteksi dini kasus dengue berat, dan adanya akses ke fasilitas kesehatan dapat menurunkan tingkat kematian kasus dengue berat sampai

di bawah 1%.¹ Infeksi dengue sekunder cenderung lebih berat dibandingkan infeksi primer, sehingga menjadi penting bagi tenaga kesehatan untuk mampu mengidentifikasi infeksi dengue sekunder guna memprediksi kemungkinan terjadi kasus dengue yang berat pada pasien.

EPIDEMIOLOGI

Transmisi terjadi saat nyamuk *Ae. aegypti* betina menggigit manusia terinfeksi yang sedang dalam fase viremia, fase tersebut dimulai 2 hari sebelum muncul demam dan bertahan 4-5 hari setelah *onset* demam. Setelah darah yang terinfeksi berada di tubuh nyamuk, virus akan bereplikasi di dinding epitel usus tengah, kemudian berpindah ke *haemocoelae* untuk masuk ke kelenjar ludah dan pada akhirnya masuk ke saliva nyamuk. Infeksi terjadi saat saliva mengandung virus masuk ke tubuh

Alamat Korespondensi email: dennimartvianto@gmail.com



manusia melalui proses penetrasi *proboscis* (*probing*) ketika nyamuk menggigit manusia.⁵

Suatu penelitian memprediksi terjadi sekitar 390 juta kasus infeksi dengue per tahunnya, 96 juta kasus bermanifestasi dalam berbagai tingkat keparahan. Kasus dengue tanpa gejala terjadi pada mayoritas kasus infeksi dengue. Dari kasus dengue yang bergejala, hanya <5% yang bergejala berat, atau dikenal dengan demam berdarah dengue (*dengue hemorrhagic fever/DHF*) atau sindrom syok dengue (*dengue shock syndrome/DSS*)⁶ (Gambar 1).

Tren insiden demam berdarah dengue di Indonesia selama 50 tahun terakhir menunjukkan peningkatan yang siklik. Puncak peningkatan kasus berkisar tiap 6-8 tahun. Sebaliknya, *case fatality rate* telah menurun setengahnya setiap dekade sejak 1980. Pulau Jawa menyumbang rata-rata kasus demam berdarah dengue tertinggi setiap tahunnya. Dalam beberapa tahun terakhir, Bali dan Kalimantan memiliki tingkat insiden tertinggi sementara Pulau Papua, wilayah paling timur kepulauan Indonesia, memiliki tingkat insiden terendah.⁷ Prevalensi kasus infeksi dengue primer dan sekunder berbeda-beda bergantung lokasi geografisnya. Sampai saat ini belum ada data yang menunjukkan prevalensi kasus dengue sekunder dan primer secara global.



Gambar 1. Prediksi jumlah kasus dengue per tahun di dunia.⁶

Sebuah penelitian menunjukkan dari 468 kasus dengue, 71 merupakan kasus dengue primer dan 397 merupakan dengue sekunder. Kasus dengue berat lebih banyak ditemukan pada kelompok dengue sekunder.⁸

Kasus dengue sekunder menyebabkan demam yang lebih tinggi, jumlah trombosit lebih rendah, dan persentase kejadian DHF atau DSS yang lebih tinggi.⁹ Suatu ulasan yang dilakukan oleh Guzman, dkk. menunjukkan bahwa 98% kasus DHF/DSS merupakan infeksi dengue sekunder¹⁰ (Tabel 1).

PATOFISIOLOGI INFEKSI DENGUE SEKUNDER

Alasan terjadinya berbagai tingkat keparahan dengue masih belum diketahui, diduga berkaitan dengan mekanisme yang disebut *antibody dependent enhancement* (ADE). Teori ini pertama kali dikemukakan tahun 1964, ketika suatu kasus dengue berat terjadi pada infeksi dengue sekunder.¹⁷ Setelah terjadi infeksi primer oleh suatu serotipe virus dengue, sistem imun memproduksi antibodi yang mampu mengikat dan menetralkan infeksi sekunder dengan serotipe virus yang sama (infeksi sekunder monolog). Namun, jika terjadi infeksi sekunder dengan serotipe berbeda (infeksi sekunder heterolog), penyakit akan lebih parah. Antibodi yang terbentuk ketika infeksi primer dapat mengikat virus, namun tidak mampu menetralkannya. Antibodi reaktif

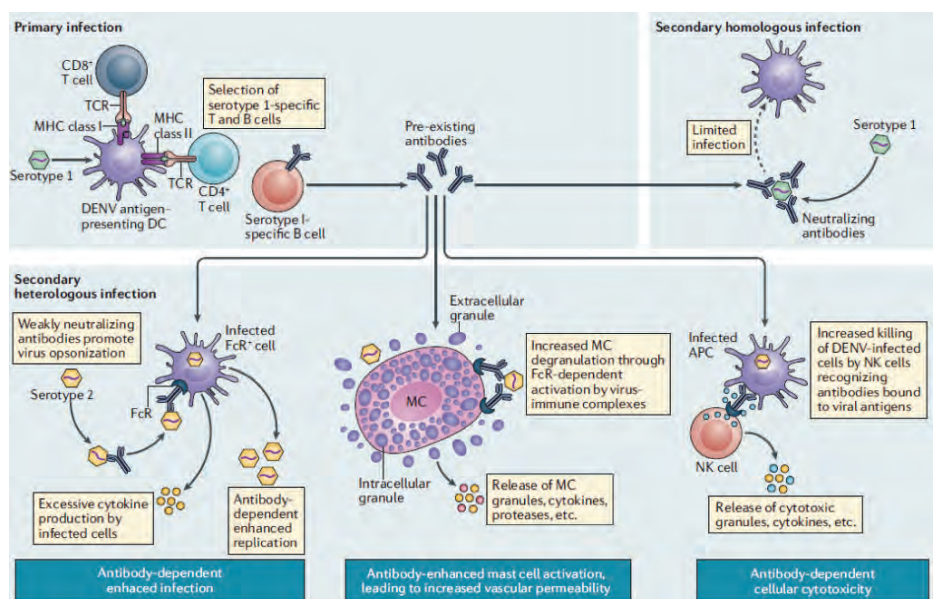
silang ini membentuk kompleks virus-antibodi yang dapat mengikat sel yang memiliki reseptor Fc γ seperti monosit, makrofag, sel dendritik, sehingga terjadi opsonisasi virus dan mengakibatkan peningkatan replikasi virus. Fenomena ini dikenal sebagai *antibody dependent enhancement* (ADE).^{17,18}

Sel imun yang terinfeksi akan menghasilkan sitokin berlebihan, sehingga dapat mengakibatkan badai sitokin.¹⁹ Sama seperti sel imun yang terinfeksi, sel *mast* juga mengalami degranulasi melalui proses aktivasi yang diperantarai reseptor Fc γ pada kompleks virus-antibodi, menghasilkan sitokin dan protease. Sitokin dan protease ini juga berperan dalam peningkatan permeabilitas vaskular dan kebocoran plasma pada infeksi DENV.²⁰

Antibodi yang sudah dibentuk sebelumnya juga berperan dalam patologi infeksi virus dengue sekunder melalui mekanisme sitotoksitas seluler yang diperantarai antibodi, di mana antibodi berikatan dengan sel terinfeksi DENV, mengakibatkan lisisnya sel terinfeksi oleh *natural killer cells* (sel NK). Sel

Tabel 1. Infeksi dengue sekunder pada pasien DHF/DSS di Kuba.¹⁰

Epidemi	1981		1997		2001-2002
	Anak-anak	Dewasa	Dewasa	Kasus Fatal	Dewasa
Sampel	124	104	111	12	51
Infeksi dengue sekunder (%)	98	98	98	91	97
Referensi	[11]	[12]	[13,14]	[15]	[16]



Gambar 2. Patologi yang bergantung pada antibodi selama infeksi virus dengue.¹⁸

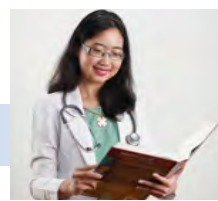
TINJAUAN PUSTAKA

NK akan mengeluarkan granul sitotoksik dan sitokin yang juga berperan mengakibatkan badai sitokin. Kerusakan jaringan akibat respons imun dalam mengatasi infeksi juga mengakibatkan lingkungan yang pro-inflamasi.²⁰ Intinya, antibodi yang telah terbentuk saat infeksi primer justru menyebabkan reaksi imun yang lebih berat jika terjadi infeksi sekunder dengan serotipe berbeda.

klasifikasi dengue menurut WHO tahun 2011, yaitu *dengue fever* (DF) dan DHF derajat I-IV (Tabel 2).

DIAGNOSIS

Standar baku emas pemeriksaan dengue sekunder adalah *plaque reduction neutralization test* (PRNT). PRNT merupakan metode untuk mengukur jumlah antibodi yang menetralkan dan mencegah virion menginfeksi sel yang



flavivirus, dan spesifik serotipe paling baik untuk virus dengue.^{21,22} Pemeriksaan ini membutuhkan biaya mahal dan secara teknis sulit karena membutuhkan fasilitas kultur sel.⁵

Pemeriksaan lain untuk membedakan infeksi dengue sekunder adalah uji penghambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition/ HI*). Pemeriksaan ini memanfaatkan kemampuan virus dengue untuk mengikat sel darah merah (hemaglutinasi), sehingga mencegah terbentuknya gumpalan. Jika terdapat antibodi dalam serum, antibodi akan mengikat virus, sehingga sel darah merah akan menggumpal.²³ Sebelumnya uji HI direkomendasikan oleh WHO untuk diperiksa rutin sebagai diagnosis infeksi dengue karena mudah dan memiliki sensitivitas tinggi, namun belakangan ini mulai ditinggalkan karena spesifitasnya rendah.⁵ Suatu penelitian yang membandingkan IgG ELISA dengan uji HI untuk diagnosis dengue mengungkapkan bahwa IgG ELISA lebih baik dalam menentukan infeksi dengue sekunder dibandingkan uji HI.²⁴

Interpretasi tes diagnostik dengue sangat dipengaruhi oleh dinamika infeksi virus dengue.²⁵ Pada tahap awal infeksi, virus dengue menunjukkan tropisme spesifik sel dengan replikasi cepat di sel imun, hati, dan endotel.²⁶ Puncak viremia terjadi pada saat, atau segera setelah timbulnya gejala. Virus dengue yang intak dan komponen virus seperti RNA atau antigen NS1 dapat ditemukan di serum, plasma, sel darah, dan jaringan yang terinfeksi sejak hari ke 0-7 setelah *onset* gejala. Deteksi langsung virus paling baik dilakukan pada fase viremia penyakit. Respons imun pejamu terhadap infeksi dengue merupakan landasan utama dalam diagnosis serologis.

Infeksi dengue sekunder memberikan pola respons serologis yang berbeda dari infeksi dengue primer (Gambar 3). Pada infeksi primer, IgM spesifik virus terbentuk setelah fase viremia menurun dan terdeteksi pada hari ke-5 atau lebih setelah *onset* penyakit, mencapai puncak pada minggu ke-2 pasca-infeksi, dengan titer menurun sampai tidak terdeteksi lagi dalam 2-3 bulan pasca-infeksi. IgG spesifik dengue muncul dalam 10-15 hari pasca-infeksi. Pada infeksi dengue sekunder, IgM muncul dengan waktu yang sama seperti pada infeksi primer atau bahkan lebih awal, tetapi kadarnya secara signifikan lebih rendah.

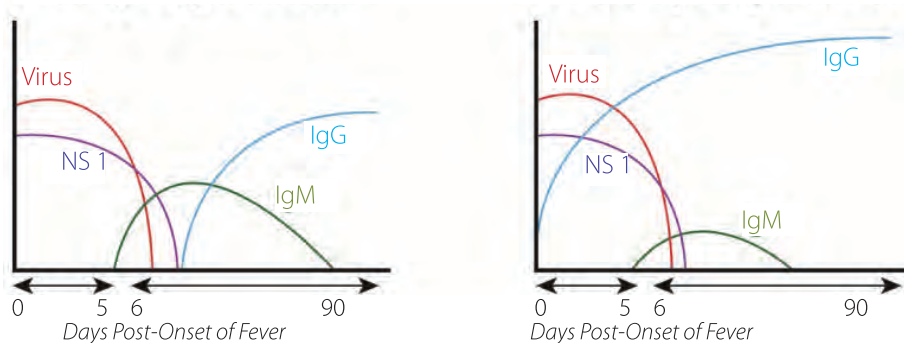
Tabel 2. Klasifikasi infeksi dengue dan pembagian derajat keparahan DHF menurut WHO.⁵

DF/DHF	Derajat	Tanda dan Gejala	Pemeriksaan Penunjang
DF		Demam disertai dua dari gejala berikut: Nyeri kepala Nyeri retro-orbita Mialgia Artralgia Ruam Manifestasi perdarahan Tanpa bukti kebocoran plasma	Leukopenia (leukosit ≤ 5000 sel/ mm^3). Trombositopenia (platelet < 150.000 sel/ mm^3). Peningkatan hematokrit (5%-10%). Tanpa bukti kehilangan plasma.
DHF	I	Demam dan manifestasi perdarahan (tes <i>tourniquet</i> positif) dan terdapat bukti kebocoran plasma	Trombositopenia < 100.000 sel/ mm^3 ; peningkatan hematokrit $\geq 20\%$
DHF	II	Sama seperti pada derajat I ditambah perdarahan spontan	Trombositopenia < 100.000 sel/ mm^3 ; peningkatan hematokrit $\geq 20\%$
DHF*	III	Sama seperti pada derajat I atau II ditambah kegagalan sirkulasi (nadi lemah, tekanan nadi rendah [≤ 20 mmHg], hipotensi, gelisah).	Trombositopenia < 100.000 sel/ mm^3 ; peningkatan hematokrit $\geq 20\%$
DHF*	IV	Sama seperti pada derajat III ditambah tanda syok dengan tekanan darah dan nadi yang tidak terdeteksi.	Trombositopenia < 100.000 sel/ mm^3 ; peningkatan hematokrit $\geq 20\%$

*: DHF derajat III dan IV termasuk DSS

Primary Dengue Infection

Secondary Dengue Infection



Main clinical diagnostic test: Virus--- virus culture, RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction); NS1, IgG, IgM---ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), lateral flow assay.

Gambar 3. Pola infeksi virus dengue, antigen NS1, dan rasio IgM/IgG pada infeksi primer atau sekunder.²⁷

KLASIFIKASI

Klasifikasi dengue sampai saat ini adalah

dikultur, yang saat ini merupakan pemeriksaan serologis spesifik virus yang paling baik untuk



IgG terdeteksi dalam kadar yang tinggi bahkan pada saat awal fase infeksi, dan mampu bertahan beberapa bulan sampai seumur hidup.^{5,27} Oleh karena itu, rasio IgM/IgG dapat digunakan untuk membedakan infeksi dengue primer ataupun sekunder. Infeksi dengue dinyatakan primer jika rasio IgM/IgG lebih dari 1,2, sedangkan infeksi dengue sekunder jika rasio IgM/IgG kurang dari 1,2.²⁸

Pemeriksaan ELISA dan *dot blot assay* terhadap *envelope/membrane* (EM) dan *nonstructural protein 1* (NS1) menunjukkan bahwa antigen ini muncul dalam konsentrasi tinggi dalam serum pasien yang terinfeksi virus dengue ketika fase awal penyakit, dan dapat ditemukan baik pada infeksi dengue primer maupun sekunder sampai enam hari setelah munculnya penyakit,⁵ sehingga selain rasio IgM/IgG, hasil NS1 positif dan IgG positif juga dapat disimpulkan sebagai infeksi dengue sekunder dalam fase akut.

IMPLIKASI KLINIS

Kasus dengue berat ditemukan terutama pada infeksi dengue sekunder.²⁹ Mempertimbangkan hal tersebut, penting bagi dokter untuk membedakan infeksi dengue primer ataupun sekunder sejak awal perjalanan penyakit. Hal ini membantu memprediksi prognosis dan keputusan rawat inap serta pemantauan ketat atau dapat rawat

jalan. Membedakan infeksi dengue primer dan sekunder menjadi sangat penting terutama saat kondisi epidemi atau wabah, ketika rumah sakit penuh dan diperlukan triase dini.⁹

Pengetahuan mengenai bahaya infeksi dengue sekunder dan patofisiologinya telah mempengaruhi penggunaan vaksin dengue. Vaksin dengue pertama mendapat persetujuan di Indonesia pada tahun 2016, namun penggunaannya dievaluasi ulang sebab pemberian vaksin dengue ditemukan memicu penyakit demam dengue berat jika diberikan pada individu yang belum pernah terinfeksi. Melalui temuan tersebut, pemeriksaan IgG dengue perlu dilakukan sebelum pemberian vaksin dengue untuk mengetahui riwayat infeksi dengue sebelumnya. Pada anak usia 9-16 tahun dengan riwayat infeksi dengue sebelumnya, vaksin dengue tersebut memiliki efikasi sekitar 80% terhadap keluaran kasus dengue yang terkonfirmasi virologis, hospitalisasi, dan dengue berat.³⁰

Prognosis

Memperbaiki dan menjaga tekanan darah agar tetap stabil merupakan kunci penanganan kasus dengue. Apabila kondisi syok tidak teratasi, prognosis menjadi sangat buruk.⁵ Kasus dengue berat yang tidak tertangani memiliki tingkat mortalitas 10%-20%. Namun,

penanganan suportif yang adekuat dapat menurunkan mortalitas hingga di bawah 1%.³¹

Infeksi dengue sekunder merupakan salah satu prediktor kasus dengue berat selain usia (anak-anak), diabetes, dan penyakit ginjal.³² Sebuah penelitian di Malaysia yang mengkaji kematian akibat dengue menunjukkan 100% kasus tersebut merupakan infeksi dengue sekunder.³³ Penelitian lain di Pakistan menunjukkan 75% kasus kematian yang berhubungan dengan DSS merupakan infeksi dengue sekunder.³⁴

SIMPULAN

Infeksi dengue sekunder dengan serotipe berbeda menyebabkan penyakit dengue yang lebih berat. Mekanisme yang berperan adalah *antibody dependent enhancement* (ADE), antibodi yang terbentuk ketika infeksi pertama justru menyebabkan reaksi imun yang lebih berat. Dikatakan infeksi dengue sekunder jika rasio IgM/IgG kurang dari 1,2. Alternatif pemeriksaan lain bukti infeksi dengue sekunder, yaitu hasil NS1 dan IgG yang positif. Membedakan infeksi dengue primer dan sekunder penting agar dokter mampu memprediksi prognosis dan keluaran klinis pasien. Pengetahuan lebih mengenai patofisiologi infeksi dengue sekunder juga memengaruhi penggunaan vaksin dengue.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Dengue and severe dengue [Internet]. 2022 Jan 10 [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
2. Murugesan A, Manoharan M. Dengue virus. Academic Press; 2020. p. 281-359. doi:10.1016/B978-0-12-819400-3.00016-8
3. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. *Nat Rev Dis Prim*. 2016;2:1-26. doi:10.1038/nrdp.2016.55
4. World Health Organization. Ten threats to global health in 2019 [Internet]. 2019 [cited 2022 Jun 16]. Available from: <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019>.
5. World Health Organization. Comprehensive guidelines for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever [Internet]. 2011. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204894>
6. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 2013;496(7446):504-7. doi:10.1038/nature12060
7. Harapan H, Michie A, Mudatsir M, Sasmono RT, Imrie A. Epidemiology of dengue hemorrhagic fever in Indonesia: Analysis of five decades data from the National Disease Surveillance. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):4-9. doi:10.1186/s13104-019-4379-9
8. Utama IMS, Lukman N, Sukmawati DD, Alisjahbana B, Alam A, Murniati D, et al. Dengue viral infection in Indonesia: Epidemiology, diagnostic challenges, and mutations from an observational cohort study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(10):1-19. doi:10.1371/journal.pntd.0007785
9. Chandal KH, Raina AH, Raina A, Raina M, Bashir R, Latief M, et al. Differentiating secondary from primary dengue using IgG to IgM ratio in early dengue: An observational hospital based clinico-serological study from North India. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):1-7. doi:10.1186/s12879-016-2053-6
10. Guzman MG, Alvarez M, Halstead SB. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: An historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch Virol*. 2013;158(7):1445-59. doi:10.1007/s00705-013-1645-3
11. 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.
12. 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.
13. Guzman MG, Alvarez A, Vazquez S, Alvarez M, Rosario D, Pelaez O, et al. Epidemiological studies on dengue virus type 3 in Playa municipality, Havana, Cuba, 2001-



2002. *Int J Infect Dis.* 2012;16(3):199-204. doi:10.1016/j.ijid.2011.09.026
14. 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. doi:10.1590/s1020-49891999000600003
 15. Guzmán MG, Alvarez M, Rodríguez R, Rosario D, Vázquez S, Vald s L, et al. Fatal dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1997. *Int J Infect Dis.* 1999;3(3):130-5. doi:10.1016/S1201-9712(99)90033-4
 16. Alvarez M, Rodríguez-Roche R, Bernardo L, Vázquez S, Morier L, Gonzalez 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.
 17. Morens DM. Antibody-dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease. *Clin Infect Dis.* 1994;19(3):500-12. doi:10.1093/clinids/19.3.500
 18. St. John AL, Rathore APS. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(4):218-30. doi:10.1038/s41577-019-0123-x
 19. Rothman AL. Immunity to dengue virus: A tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(8):532-43. doi:10.1038/nri3014
 20. Kurane I, Hebblewaite D, Brandt WE, Ennis FA. Lysis of dengue virus-infected cells by natural cell-mediated cytotoxicity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *J Virol.* 1984;52(1):223-30. doi:10.1128/jvi.52.1.223-230.1984
 21. World Health Organization. Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses [Internet]. 2007. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69687>.
 22. Sirivichayakul C, Sabchareon A, Limkittikul K, Yoksan S. Plaque reduction neutralization antibody test does not accurately predict protection against dengue infection in Ratchaburi cohort, Thailand. *Virol J.* 2014;11(1):1-5. doi:10.1186/1743-422X-11-48
 23. Bourgeois MA, Oaks JL. Ch. 12 - laboratory diagnosis of viral infections. In: Sellon DC, Long MTBT-EID. 2nd ed. St. Louis: WB Saunders; 2014:132-140.e2. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0891-8.00012-9>
 24. Lukman N, Salim G, Kosasih H, Susanto NH, Parwati I, Fitri S, et al. Comparison of the hemagglutination inhibition test and IgG ELISA in categorizing primary and secondary dengue infections based on the plaque reduction neutralization test. *Biomed Res Int.* 2016;2016:5-9. doi:10.1155/2016/5253842
 25. Blacksell SD. Commercial dengue rapid diagnostic tests for point-of-care application: Recent evaluations and future needs? *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012(1):151967. doi:10.1155/2012/151967
 26. Martina BEE, Koraka P, Osterhaus ADME. Dengue virus pathogenesis: An integrated view. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(4):564-81. doi:10.1128/CMR.00035-09
 27. Zhang B, Salieb-Beugelaar GB, Nigo MM, Weidmann M, Hunziker P. Diagnosing dengue virus infection: Rapid tests and the role of micro/nanotechnologies. Vol 11. Elsevier B.V.; 2015. doi:10.1016/j.nano.2015.05.009
 28. Falconar AKI, Plata E De, Romero-vivas CME. Altered enzyme-linked immunosorbent assay immunoglobulin M (IgM)/ IgG optical density ratios can correctly classify all primary or secondary dengue virus infections 1 day after the onset of symptoms, when all of the viruses can be isolated. 2006;13(9):1044-51. doi:10.1128/CVI.00105-06
 29. Soo KM, Khalid B, Ching SM, Chee HY. Meta-analysis of dengue severity during infection by different dengue virus serotypes in primary and secondary infections. *PLoS One.* 2016;11(5):4-14. doi:10.1371/journal.pone.0154760
 30. Centers for Disease Control and Prevention. Vaccine safety & efficacy data | Dengue | [Internet]. 2021 [cited 2022 Aug 20]. Available from: <https://www.cdc.gov/dengue/vaccine/hcp/safety-efficacy.html>.
 31. Schaefer TJ, Panda PK, Wolford RW. Dengue fever. *BMJ Best Pract* [Internet]. 2022 April [cited 2022 Aug 15]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430732/>.
 32. Tsheten T, Clements ACA, Gray DJ, Adhikary RK, Furuya-Kanamori L, Wangdi K. Clinical predictors of severe dengue: A systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty.* 2021;10(1):123. doi:10.1186/s40249-021-00908-2
 33. Sam SS, Omar SFS, Teoh BT, Abd-Jamil J, AbuBakar S. Review of dengue hemorrhagic fever fatal cases seen among adults: A retrospective study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(5):1-8. doi:10.1371/journal.pntd.0002194
 34. Kidwai AA, Jamal Q, Saher, Mehrunnisa, Farooqi F ur R, Saleem-Ullah. Serodiagnosis of dengue infection using rapid immunochromatography test in patients with probable dengue infection. *J Pak Med Assoc.* 2010;60(11):936-9.