

# DETEKSI DINI DEMAM BERDARAH DENGUE DENGAN PEMERIKSAAN ANTIGEN NS1

**Mayer F. Wowor**

Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado  
Email: mayerwowor@gmail.com

**Abstract:** Efficient and accurate diagnosis of dengue is of primary importance for clinical care, surveillance activities, outbreak control, pathogenesis, academic research, vaccine development, and clinical trials. Laboratory diagnostic methods for confirming dengue virus infection may involve detection of the viruses, viral nucleic acids, antigens and antibodies, or a combination of these techniques. After the onset of illness, the virus can be detected in serum, plasma, circulating blood cells, and other tissues for 4–5 days. During the early stage of the disease, virus isolation and the detection of viral nucleic acids or antigens, can be used to confirm the diagnosis of dengue infection. NS1 antigen appears as early as day 1 after the onset of fever, and declines to undetectable levels after day 5–6. At the end of the acute phase of infection, a serological test is the method of choice for diagnosis. A range of laboratory diagnostic methods has been developed to support patient management and disease control. The choice of diagnostic method depends on the purpose for which the test is done, available laboratory facilities and technical expertise, costs, and the time of sample collection.

**Keywords:** laboratory diagnostic methods, acute phase, NS1 antigen

**Abstrak:** Diagnosis dengue yang efisien dan akurat adalah hal yang paling penting untuk proses perawatan di klinik, aktivitas surveilans, kontrol penularan penyakit, patogenesis, penelitian akademik, pengembangan vaksin dan percobaan-percobaan klinis. Metode diagnosis laboratorium untuk mengonfirmasi adanya infeksi virus dengue dapat meliputi deteksi virus dengue, asam nukleat virus, antigen dan antibodi, atau kombinasi dari teknik-teknik tersebut. Setelah serangan penyakit, virus dapat dideteksi dalam serum, plasma, sel-sel darah yang bersirkulasi, dan di jaringan lain dalam waktu 4-5 hari. Selama tahap awal dari penyakit, isolasi virus, asam nukleat virus, atau deteksi antigen dapat digunakan untuk diagnosis infeksi. Antigen NS1 muncul pada hari pertama setelah serangan demam dan menurun ke tingkat tidak terdeteksi setelah 5-6 hari. Pada akhir fase akut infeksi, serologi adalah metode pilihan untuk diagnosis. Metode diagnosis laboratorium telah berkembang untuk menunjang penanganan pasien dan kontrol penyakit. Pilihan untuk metode diagnosis bergantung pada tujuan tes dilakukan, fasilitas laboratorium dan tenaga ahli yang tersedia, biaya, dan saat sampel dikumpulkan.

**Kata kunci:** metode diagnosis laboratorium, fase akut, antigen NS1

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue dengan manifestasi klinis demam, nyeri otot dan atau nyeri sendi yang disertai dengan leukopenia, ruam, limfadenopati, trombositopenia dan diatesis hemoragik. Pada DBD terjadi perembesan plasma yang ditandai oleh adanya hemokonsentrasi (pe-

ningkatan hematokrit) atau penumpukan cairan di rongga tubuh.<sup>1</sup>

Agen penyebab DBD yaitu virus dengue merupakan virus RNA untai tunggal, genus flavivirus, yang terdiri dari empat serotipe yaitu D1, D2, D3 dan D4.2 Keempat serotipe virus ini terdapat di Indonesia dan dilaporkan bahwa serotipe virus DEN-3

yang paling sering menimbulkan wabah.<sup>3</sup> Struktur antigen dari keempat serotipe ini sangat mirip satu dengan yang lain, namun antibodi terhadap masing-masing serotipe tidak dapat memberikan perlindungan silang.<sup>2</sup>

Gambaran klinis penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dengue ini sering tidak khas, dapat menyerupai penyakit-penyakit lain, seperti: flu, demam tifoid, demam chikungunya, leptospirosis, malaria dan berbagai penyakit lainnya. Manifestasi klinis akibat infeksi virus dengue ini dapat menyebabkan keadaan yang beraneka ragam, mulai dari tanpa gejala (asimtomatik), demam ringan yang tidak spesifik (*undifferentiated febrile illness*), demam dengue (DD), atau bentuk yang lebih berat yaitu demam berdarah dengue (DBD) dan sindrom syok dengue (SSD).<sup>3,4</sup>

Diagnosis DBD ditegakkan dengan menggunakan kriteria WHO tahun 1997, yaitu kriteria klinis dan kriteria laboratorik berupa trombositopenia kurang dari 100.000/ $\mu$ l atau peningkatan hematokrit  $\geq 20\%$ . Untuk menentukan peningkatan hematokrit sebesar  $\geq 20\%$  secara tepat masih sulit dilakukan, mengingat belum ada nilai standar hematokrit untuk orang Indonesia baik anak-anak maupun dewasa. Hal yang tak kalah penting adalah memahami kelemahan pemeriksaan laboratorium tersebut. Selain itu, pemeriksaan hemoglobin, leukosit, hitung jenis, hapusan darah tepi maupun enzim hati seperti SGOT dan SGPT, juga diperlukan untuk mendapatkan informasi lebih akurat dalam menunjang diagnosis DBD.<sup>3,4</sup>

Untuk mengantisipasi agar diagnosis DBD dapat ditegakkan dengan tepat dan segera, diperlukan pemahaman imunopatogenesis penyakit ini, pemeriksaan laboratorium yang tepat dan interpretasi yang cermat dari hasil laboratorium untuk melengkapi gejala klinis yang ada. Permasalahan sering timbul akibat kurangnya komunikasi antara klinisi, pihak laboratorium (dokter spesialis patologi klinik, analis dan teknisi) dan pasien, di samping tahapan pra-analitik, analitik dan pasca-analitik.<sup>3,4</sup>

Dewasa ini pemeriksaan antigen NS1

telah dikembangkan untuk mendeteksi adanya infeksi virus dengue pada fase akut, dimana pada berbagai penelitian menunjukkan bahwa NS1 lebih unggul sensitivitasnya dibandingkan kultur virus dan pemeriksaan polymerase chain reaction (PCR) maupun antibodi IgM dan IgG antidengue. Spesifitas antigen NS1 100% sama tingginya seperti pada standar emas kultur virus maupun PCR.<sup>3</sup> Diharapkan bahwa pemeriksaan antigen NS1 dapat dimanfaatkan secara optimal dalam menegakkan diagnosis dini dan akurat yang sangat menunjang keberhasilan penanganan penerima DBD.

## **PENYEBARAN DBD DAN TRANSMISI VIRUS DENGUE**

DBD tersebar di wilayah Asia Tenggara, Pasifik Barat dan Karibia. Indonesia merupakan wilayah endemis dengan sebaran di seluruh wilayah tanah air. Insiden DBD di Indonesia antara 6 hingga 15 per 100.000 penduduk (1989 hingga 1995), dan pernah meningkat tajam saat kejadian luar biasa hingga 35 per 100.000 penduduk pada tahun 1998, sedangkan mortalitas DBD cenderung menurun hingga mencapai 2% pada tahun 1999.<sup>5</sup>

Beberapa faktor diketahui berhubungan dengan peningkatan transmisi virus dengue yaitu:<sup>1,5</sup>

1. Vektor: perkembangbiakan, kebiasaan menggigit, kepadatan dalam lingkungan, jenis serotipe, transportasi dari satu tempat ke tempat lain.
2. Pejamu: terdapat penderita di lingkungan keluarga, paparan terhadap nyamuk, status gizi, usia ( $> 12$  tahun cenderung untuk DBD) dan jenis kelamin (perempuan lebih rentan dari pada laki-laki).
3. Lingkungan: curah hujan, suhu, sanitasi, dan kepadatan penduduk.

Penularan infeksi virus dengue terjadi melalui vektor nyamuk genus *Aedes* (*Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*). Dari kedua nyamuk ini yang paling dominan sebagai vektor adalah *A. aegypti*. Setelah mengisap darah, nyamuk ini akan membawa virus dari penderita dalam kelenjar ludahnya, sehing-

ga virus dengue dapat dengan mudah ditularkan jika nyamuk tersebut mengisap darah orang lain. Sebelumnya virus telah bereplikasi dalam kelenjar ludah nyamuk selama 8-12 hari. Selain itu nyamuk *Aedes* memiliki waktu hidup yang cukup panjang yaitu sekitar 15-65 hari sehingga penularan masih bisa terjadi. Setelah virus masuk dalam tubuh pejamu, virus akan memasuki periode inkubasi selama 3-14 hari. Selama itu virus akan bereplikasi di dalam sel target yaitu sel dendritik dan belum menunjukkan serangan. Infeksi pada sel target seperti sel dendritik, hepatosit, dan sel endotel, mengakibatkan pembentukan respon imun seluler dan humoral terhadap infeksi virus pertama dan berikutnya.<sup>5,6</sup>

## VIRUS DENGUE

Virus dengue merupakan virus RNA untai tunggal, genus flavivirus, yang terdiri dari empat serotipe yaitu D1, D2, D3 dan D4.2 Menurut Soegiyanto,<sup>3</sup> keempat serotipe virus ini terdapat di Indonesia dan dilaporkan bahwa serotipe virus DEN-3 yang paling sering menimbulkan wabah, sedangkan di Thailand penyebab wabah yang dominan adalah virus DEN-2. Dominasi serotipe di Indonesia pada kurun waktu tahun 2003-2005 adalah DEN-2, diikuti oleh DEN-3, DEN-4 dan DEN-1.3 Struktur antigen dari keempat serotipe ini sangat mirip satu dengan yang lain, namun antibodi terhadap masing-masing serotipe tidak dapat memberikan perlindungan silang.<sup>2</sup> Menurut Yao,<sup>3</sup> virus dengue terdiri dari 10.700 basa di dalam genomnya dan terdiri dari single-stranded positive sense RNA (ssRNA sense +). Di dalam genomnya terdapat sebuah *single Open Reading Frame* (ORF) yang mengkode dua macam protein yaitu protein struktural dan protein non-struktural. Protein struktural terdiri dari protein inti (*capsid/core/C*), protein membran, termasuk preMembran (M) dan protein *envelope* (E). Protein nonstruktural terdiri dari tujuh jenis, yaitu NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 yang ditandai oleh sebuah 5' dan 3' *nontranslated region* (NTR) pada kedua ujungnya.<sup>3</sup>

## PATOGENESIS

Patogenesis terjadinya DBD hingga saat ini masih diperdebatkan. Terdapat bukti yang kuat bahwa mekanisme imunopatologis berperan dalam terjadinya DBD dan SSD. Respon imun yang diketahui berperan dalam patogenesis DBD adalah:<sup>1,5</sup>

1. Respon humoral berupa pembentukan antibodi yang berperan dalam proses netralisasi virus, sitolisis yang dimediasi komplemen dan sitotoksitas yang dimediasi antibodi. Antibodi terhadap virus dengue berperan dalam mempercepat replikasi virus pada monosit atau makrofag. Hipotesis ini disebut *antibody dependent enhancement* (ADE).
2. Limfosit T baik T-helper (CD4) dan T-sitotoksik (CD8) berperan dalam respon imun seluler terhadap virus dengue. Diferensiasi T-helper yaitu TH 1 akan memproduksi interferon  $\gamma$ , interleukin-2 (IL-2) dan limfokin, sedangkan TH 2 memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10.
3. Monosit dan makrofag berperan dalam fagositosis virus dengan opsonisasi antibodi, namun proses fagositosis ini menyebabkan peningkatan replikasi virus dan sekresi sitokin oleh makrofag.
4. Aktivasi komplemen oleh kompleks imun menyebabkan terbentuknya C3a dan C5a.

Halstead (1973),<sup>5</sup> mengajukan hipotesis *secondary heterologous infection* yang menyatakan bahwa DBD terjadi bila seseorang terinfeksi ulang virus dengue dengan tipe yang berbeda. Re-infeksi menyebabkan reaksi amnestik antibodi sehingga mengakibatkan konsentrasi kompleks imun yang tinggi.<sup>5</sup>

Kurane dan Ennis pada tahun 1994,<sup>5</sup> merangkum pendapat Halstead dan peneliti lain, dan menyatakan bahwa infeksi virus dengue menyebabkan aktivasi makrofag yang memfagositosis kompleks virus-antibodi non netralisasi sehingga virus bereplikasi di dalam makrofag. Terjadinya infeksi makrofag oleh virus dengue menyebabkan aktivasi T-helper dan T-sitotoksik sehingga memproduksi limfokin dan interferon  $\gamma$ .

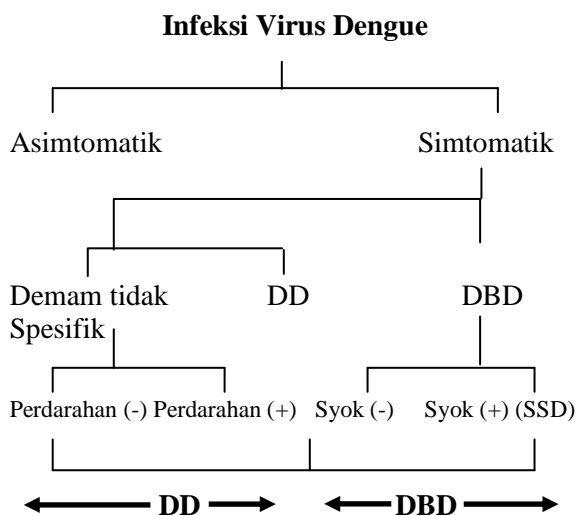
Selanjutnya interferon  $\gamma$  akan mengaktivasi monosit sehingga menyekresi berbagai mediator inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, *platelet activating factor* (PAF), IL-6 dan histamin yang mengakibatkan terjadinya disfungsi sel endotel dan terjadi perembesan plasma. Peningkatan C3a dan C5a terjadi melalui aktivasi oleh kompleks virus-antibodi yang juga mengakibatkan terjadinya perembesan plasma.<sup>5</sup>

Pemahaman patogenesis virus dengue ini masih sangatlah kurang disebabkan tidak adanya model *in vitro* dan *in vivo* yang dapat digunakan untuk pembuktian penyakit akibat infeksi virus dengue ini. Leitmeyer,<sup>3</sup> membentangkan sekuens genom virus dengue dikaitkan dengan kejadian DD maupun DBD. Ia mendapatkan perbedaan determinan DBD terletak pada protein E, bagian 5'UTR, 3'UTR, NS4b dan NS5.<sup>3</sup>

Saat ini patogenesis DBD ini tidak berhenti sampai level serotipe, namun sampai genotip/subtipenya. Telah dikemukakan bahwa serotipe virus DEN-1 dikategorikan ke dalam 3-5 macam genotip, DEN-2 dikategorikan ke dalam 5-6 macam genotip, DEN-3 ke dalam 4-5 macam genotip sedangkan DEN-4 dikategorikan ke dalam dua macam genotip.<sup>3</sup>

## MANIFESTASI KLINIS

Manifestasi klinis infeksi virus dengue



**Gambar 1.** Spektrum klinis infeksi virus dengue. Sumber: WHO, 1997.<sup>4</sup>

dapat bersifat asimtomatik, atau dapat berupa demam yang tidak khas, DD, DBD atau SSD.

Pada umumnya pasien mengalami fase demam selama 2-7 hari, yang diikuti oleh fase kritis selama 2-3 hari. Pada waktu fase ini pasien sudah tidak demam, akan tetapi mempunyai risiko untuk terjadi renjatan jika tidak mendapat pengobatan adekuat.<sup>1</sup>

Manifestasi klinis infeksi virus dengue dapat dilihat pada Gambar 1.

## DIAGNOSIS

Berdasarkan kriteria WHO 1997 diagnosis DBD ditegakkan bila semua hal di bawah ini dipenuhi:<sup>4</sup>

1. Demam atau riwayat demam akut, antara 2-7 hari, biasanya bifasik.
2. Terdapat minimal satu dari manifestasi perdarahan berikut:
  - a) uji bendung positif.
  - b) petekie, ekimosis, atau purpura.
  - c) perdarahan mukosa (tersering epistaksis atau perdarahan gusi), atau perdarahan dari tempat lain.
  - d) hematemesis atau melena.
3. Trombositopenia (jumlah trombosit < 100.000/ $\mu$ L).
4. Terdapat minimal satu atau tanda-tanda perembesan plasma sebagai berikut :
  - a) Peningkatan hematokrit > 20% dibandingkan standar sesuai dengan umur dan jenis kelamin.
  - b) Penurunan hematokrit > 20% setelah mendapat terapi cairan, dibandingkan dengan nilai hematokrit sebelumnya.
  - c) Tanda perembesan plasma seperti efusi pleura, asites atau hipoproteinemia.

## METODE DIAGNOSTIK LABORATORIUM

### Identifikasi dan isolasi Virus

Pada tahap awal infeksi, identifikasi dan isolasi virus dengue secara tradisional adalah satu-satunya cara untuk mendiagnosis infeksi dengue saat ini. Dalam teknik

ini, serum dari pasien dipaparkan pada sel nyamuk. Setelah amplifikasi virus pada sel yang terinfeksi, serotipe tersebut diidentifikasi dengan menggunakan antibodi monoklonal spesifik untuk setiap serotipe dengue. Teknik ini hanya sensitif ketika ada partikel menular yang relatif tinggi di dalam serum. Viremia untuk dengue berlangsung singkat, biasanya dimulai dua atau tiga hari sebelum serangan demam dan berlangsung sampai empat atau lima hari waktu sakit. Sebagai pilihan dalam mendeteksi virus untuk diagnosis rutin adalah sampel serum penderita, walaupun virus dengue dapat juga dideteksi dalam plasma, leukosit dan dalam beberapa jaringan yang diperoleh dari otopsi.<sup>7,8</sup>

Inokulasi intratoraks nyamuk (*A. aegypti*, *A. albopictus*, *Toxorhynchites splendens*, *T. amboinensis*) adalah sistem yang paling sensitif untuk isolasi virus dengue, tetapi karena diperlukan ketrampilan teknis tertentu dan fasilitas khusus untuk inokulasi langsung nyamuk, maka kultur sel lebih baik untuk diagnosis rutin. Baris sel nyamuk C6/36 (klon diperoleh dari *A. albopictus*) telah menjadi sel inang pilihan untuk isolasi rutin virus dengue, meskipun baris sel *A. pseudoscutellaris* AP61 juga telah digunakan dengan cukup berhasil.<sup>7</sup>

Sampai saat ini identifikasi virus dengue umumnya dicapai dengan teknik imunofluoresens yang menggunakan serotipe spesifik monoklonal antibodi anti dengue di kepala nyamuk yang hancur atau sel yang terinfeksi. Kenyataannya beberapa strain tidak mudah diidentifikasi karena konsentrasi yang rendah dari virus. *Plaque assay* adalah metode standar emas untuk kuantifikasi virus dengue. Menurut Payne *et al.*,<sup>7</sup> suatu imunofluoresens tidak langsung telah diusulkan sebagai alternatif untuk tes ini. Aliran *cytometry* baru-baru ini dilaporkan sebagai metode yang berguna untuk identifikasi virus dengue 1 (DEN-1), dan memungkinkan virus untuk diidentifikasi 10 jam lebih awal daripada dengan uji imunofluoresens, dengan menggunakan antibodi monoklonal anti-nonstruktural glikoprotein (NS1).<sup>7</sup>

### Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) dari serum atau plasma

RT-PCR dapat dilakukan dengan cara *one-step, nested* RT-PCR atau *nucleic acid sequence-based amplification* (NASBA). Dewasa ini di luar negeri telah banyak dilakukan pemeriksaan RT-PCR dengan menggunakan alat *real-time* PCR, dimana hasil yang didapat lebih cepat dan bersifat kuantitatif. Keberhasilan PCR juga tergantung dari tahapan pengambilan serum dan variabilitas yang luas antar laboratorium dimana masih dibutuhkan standarisasi yang lebih baik. Hasil positif akan didapatkan lebih banyak pada keadaan viremia.<sup>3</sup>

### Deteksi Antigen

Produk gen NS1 merupakan glikoprotein yang dihasilkan oleh semua flavivirus dan penting untuk replikasi dan viabilitas virus. Selama replikasi virus, NS1 terlokalisasi dalam organel sel. Protein NS1 disekresikan oleh sel mamalia, tetapi tidak oleh sel-sel serangga. Bentuk protein sekresi berupa heksamer, yang terdiri dari subunit dimer. Glikosilasi protein ini diyakini penting untuk sekresi. Antigen NS1 muncul awal pada hari pertama setelah serangan demam dan menurun ke tingkat tidak terdeteksi setelah 5-6 hari. Protein NS1 merupakan antigen yang memperbaiki dan saling melengkapi, serta juga menghasilkan respon humoral yang sangat kuat. Penelitian telah banyak didedikasikan untuk kegunaan NS1 sebagai alat diagnosis infeksi virus dengue, karena disekresikannya protein ini.<sup>7,8</sup>

Dalam enam tahun terakhir terdapat beberapa studi yang menyikapi penggunaan antigen NS1 dan antibodi anti-NS1 sebagai alat untuk diagnosis demam berdarah. Tes *antigen-capture* ELISA telah dilakukan dengan sensitivitas berkisar antara 4 sampai 1 ng/mL. Penelitian-penelitian ini mengidentifikasi hubungan antara keparahan penyakit dan jumlah antigen NS1 dalam serum, namun penelitian lain tidak menemukan hubungan ini dan pada kenyataannya tidak bisa membedakan antara infeksi

primer dan sekunder. Dewasa ini, suatu antibodi monoklonal serotipe spesifik berbasis *antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) NS1 yang menunjukkan spesifisitas serotipe yang baik telah dikembangkan. Shu *et al.*,<sup>7</sup> memiliki sebuah standar IgG NS1 serotipe spesifik ELISA tidak langsung untuk membedakan infeksi virus dengue primer dan sekunder dan menunjukkan korelasi yang baik antara anti-IgG NS1 serotipe spesifik (ditentukan oleh ELISA) dan hasil dari *plaque reduction and neutralization test* (PRNT). Protein NS1 serotipe spesifik IgG ELISA bekerja handal untuk serotipe virus dengue dalam serum fase konvalesen dari pasien dengan infeksi primer dan dalam serum fase akut dari pasien dengan infeksi sekunder (yang akan mendeteksi serotipe yang menyebabkan infeksi pertama), tapi tidak demikian dengan serum pasien pada fase penyembuhan dengan infeksi sekunder. Hasil studi yang bervariasi berhubungan dengan hasil tes IgM dan IgG, serta keparahan penyakit dan prediktor viremia. Oleh karena itu evaluasi lanjut dari tes ini harus dilakukan untuk menentukan perbedaan utama antara studi masing-masing.<sup>7</sup>

Menurut Mackenzie,<sup>3</sup> antigen NS1 merupakan glikoprotein tersekresi 48 kDa yang tidak terdapat pada partikel virus yang terinfeksi namun terakumulasi di dalam supernatan dan membran plasma sel selama proses infeksi. Protein NS1 merupakan gen esensial di dalam sel yang terinfeksi dimana fungsinya sebagai ko-faktor untuk replikasi virus, yang terdapat bersama di dalam bentuk replikasi RNA *double-stranded*. *Immune recognition* dari permukaan sel NS1 pada sel endotel dihipotesiskan berperan dalam mekanisme perembesan plasma yang terjadi selama infeksi virus dengue yang berat. Sampai saat ini, bagaimana NS1 berhubungan dengan membran plasma, yang tidak berisi motif sekuens *membrane-spanning* masih belum jelas.<sup>3</sup>

Protein NS1 terikat secara langsung pada permukaan berbagai tipe sel epitel dan sel mesensim, juga menempel secara kurang lekat pada berbagai sel darah tepi. Lebih

lanjut, NS1 juga terikat pada biakan sel endotel mikrovaskuler manusia lebih baik daripada sel endotel aorta atau *umbilical cord*. Spesifisitas ikatan ini sudah dibuktikan terdapat pada ikatan NS1 pada endotel paru dan hati, namun tidak pada usus atau otak tikus.<sup>3,9</sup> Menurut Dussart,<sup>3</sup> protein NS1 merupakan glikoprotein yang *highly conserved* tampaknya merupakan regio penting dalam viabilitas virus namun tidak memiliki aktivitas biologis. Tidak seperti glikoprotein virus yang lain, NS1 diproduksi baik dalam bentuk yang berhubungan dengan membran maupun dalam bentuk yang disekresikan.<sup>3</sup> Alcon,<sup>3</sup> mengemukakan bahwa antigen NS1 terdapat baik pada infeksi primer maupun sekunder dan dapat dideteksi dalam sembilan hari pertama demam, baik pada serotip DEN-1 (terbanyak), DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Kumarasamy,<sup>3</sup> meneliti sensitivitas dan spesifisitas NS1 pada 554 donor sehat dan 297 pasien terinfeksi virus dengue, dimana 157 pasien dengan PCR positif diperiksa juga IgM dan IgG antidengue. Ia mendapatkan spesifisitas 100% dan sensitivitas 91,0 % dari 157 sampel tersebut dengan perbedaan yang tidak bermakna untuk ke empat serotip. Blacksell,<sup>3</sup> meneliti NS1 dan mendapatkan sensitivitas NS1 63% dan spesifisitas 100% dengan memperhatikan adanya perbedaan sekresi yang bervariasi antar serotipe.

Kit komersial untuk mendeteksi antigen NS1 dalam sampel serum telah tersedia. Pengujian ini tidak membedakan antar serotipe. Antigen NS1 muncul di awal infeksi dan sebelum munculnya antibodi. Tes tersebut berguna untuk deteksi dini kasus dan untuk investigasi wabah. Evaluasi dari pemeriksaan-pemeriksaan ini seharusnya dilakukan untuk menilai kegunaan dan efektivitas biaya.<sup>7,10</sup>

Terdapat dua macam kit pemeriksaan antigen NS1 di Indonesia, yaitu dari Panbio dan BioRad, keduanya memakai prinsip metode ELISA. Saat ini juga sudah terdapat reagen NS1 dalam bentuk *rapid test* yang menggunakan metode *Immuno chromatography* (ICT).<sup>3</sup>

## Uji serologik

### Mac ELISA

Mac ELISA merupakan uji serologik klasik untuk dengue dengan menggunakan antigen spesifik dengue dari seluruh serotip (DEN 1-4) untuk menangkap antibodi IgM spesifik antidengue pada sampel serum. Sebagian besar antigen yang digunakan untuk pengujian ini berasal dari protein *envelope* virus dengue. Keterbatasan uji ini termasuk kekhususan dari antigen dan reaktivitas silang dengan flavivirus yang lainnya. Keterbatasan ini harus dipertimbangkan ketika bekerja di daerah di mana terdapat beberapa jenis flavivirus. Deteksi IgM tidak berguna untuk penentuan serotipe dengue karena reaktivitas silang antibodi, bahkan selama infeksi primer.<sup>7</sup>

### IgG ELISA

Pemeriksaan IgG ELISA klasik digunakan untuk mendeteksi infeksi dengue sebelumnya yaitu dengan menggunakan antigen, sama halnya dengan Mac ELISA. Pengujian biasanya dilakukan dengan pengenceran berulang dari serum, diuji untuk menentukan titik akhir pengenceran. Uji ini berkorelasi dengan tes hemaglutinasi yang digunakan di masa lalu. Semakin tinggi pengenceran pada titik akhir, respon yang diperoleh lebih kuat setelah infeksi. Secara umum, IgG ELISA tidak memiliki kekhususan dalam kelompok-kelompok sero-kompleks flavivirus, namun Cardosa *et al.*,<sup>7</sup> menunjukkan bahwa respon IgG untuk premembran dari protein adalah spesifik untuk individu yang terinfeksi flavivirus. Tidak ada reaksi silang dapat diamati ketika serum diuji dari individu yang terinfeksi dengan virus dengue.<sup>7</sup> Suatu kekhususan yang sangat baik dari IgG spesifik anti dengue diperoleh Baretto Dos Santos *et al.*,<sup>7</sup> pada uji menggunakan polipeptida rekombinan yang terletak di bagian N-terminal dari protein *envelope*. Meskipun deteksi IgG spesifik telah digantikan dalam diagnosis infeksi akut, studi sero-epidemiologis yang terbaik dengan menggunakan ELISA untuk mendeteksi IgG spesifik. Aviditas IgG ELISA dapat digunakan untuk menentukan apakah suatu infeksi pri-

mer atau sekunder, dan dapat lebih berguna dibandingkan dengan uji hemaglutinasi inhibisi untuk tujuan ini.<sup>7</sup>

### IgM/IgG Ratio (Rasio IgG/IgM)

Pemeriksaan ini digunakan untuk membedakan infeksi primer dan sekunder DBD. Infeksi virus dengue ditetapkan sebagai primer jika rasio IgM/IgG lebih besar dari 1,2, atau sekunder jika rasio kurang dari 1,2. Sistem pengujian rasio ini telah diadopsi oleh vendor komersial seperti PanBio. Falconar *et al.*,<sup>7</sup> ini menunjukkan bahwa rasio ini bervariasi, tergantung pada apakah pasien memiliki infeksi serologik dengue klasik atau non-klasik. Mereka kemudian merevisi rasio tersebut dengan mempertimbangkan empat sub kelompok klasik dengan infeksi dengue. Rasio yang disesuaikan adalah jika  $> 2,6$  secara pasti dikategorikan 100% infeksi demam berdarah serologik klasik, sedangkan jika  $< 2,6$  menunjukkan 90% infeksi serologik non klasik.<sup>7</sup>

### Plaque reduction and neutralization test (PRNT) dan microneutralization assay

Merupakan alat uji serologik yang paling spesifik untuk penentuan antibodi dengue dan digunakan untuk menentukan infeksi serotipe pada serum penderita yang sudah sembuh. Uji ini mengukur titer antibodi penetralisir dalam serum individu terinfeksi dan menentukan tingkat perlindungan individu itu terhadap virus yang menginfeksi. Uji ini didasarkan pada prinsip interaksi virus dan antibodi, yang mengakibatkan inaktivasi virus sedemikian rupa sehingga tidak lagi dapat menginfeksi dan bereplikasi dalam kultur sel. Beberapa variabilitas yang ditemukan dalam pengujian ini disebabkan perbedaan interpretasi hasil.<sup>7</sup>

### Haemagglutination-inhibition(HI) test

Uji HI merupakan uji serologik yang dianjurkan menurut standar WHO,<sup>2</sup> dan dapat mendeteksi antibodi anti dengue, baik IgM maupun IgG dalam serum. Infeksi virus dengue akut ditandai dengan terdapatnya peningkatan titer empat kali atau lebih antara sepasang sera yaitu serum akut dan

serum konvalesen.<sup>2</sup> Akhir-akhir ini IgM maupun IgG anti-dengue telah dapat didekteksi dengan menggunakan pemeriksaan *Dengue Blot/Dengue Stick/Dot immunoassay Dengue*. Uji ini merupakan salah satu uji pilihan untuk diagnosis infeksi dengue akut, baik primer ataupun sekunder, dengan melihat terdeteksinya kadar IgM anti-dengue pada serum tunggal. Terdeteksinya IgG anti-dengue dapat dipakai untuk melihat apakah infeksi tersebut primer atau sekunder, tergantung dari standardisasi masing-masing reagen yang telah ditetapkan setara dengan berapa kadar HI-nya.<sup>2</sup>

### **Pemeriksaan hematology**

Nilai hematokrit dan trombosit biasanya teratur selama fase akut dari infeksi dengue. Keduanya harus diperiksa dengan hati-hati menggunakan protokol, reagen dan peralatan standar. Penurunan nilai trombosit dibawah 100.000/ $\mu$ L mungkin dapat dilihat pada DD tetapi ciri-ciri trombositopenia dibawah 100.000/ $\mu$ L yang terus menerus, ditemukan pada DBD. Trombositopenia biasanya terdapat antara hari ketiga sampai hari kedelapan selama perjalanan penyakit.<sup>11</sup>

Dengan dikemukakannya berbagi pemeriksaan laboratorium yang tersedia serta keunggulan masing-masing, maka pemilihan jenis pemeriksaan harus didasarkan atas pemahaman imunopatogenesis yang cermat dan fase penyakit penderita.

### **SIMPULAN**

Diagnosis infeksi virus dengue ditegakkan berdasarkan pemahaman imunopatogenesis serta uji laboratorium yang tepat. Pemeriksaan antigen NS1 dianjurkan pada awal demam sampai hari ke delapan. Sensitivitas antigen NS1 berkisar 63- 93,4% dengan spesifisitas 100%, sama tingginya dengan spesifisitas standar emas kultur virus. Walaupun demikian hasil negatif antigen NS1 tidak menyingkirkan adanya infeksi virus dengue; hal ini diduga berkaitan dengan serotip virus dengue yang menginfeksi. Oeh karena itu pemeriksaan antigen NS1 pada fase akut sebaiknya tetap disertai

dengan pemeriksaan laboratorium lainnya (sesuai kebutuhan) sebagai penentu infeksi primer ataupun sekunder, sekaligus untuk mengatasi kemungkinan hasil negatif palsu pada pemeriksaan antigen NS1.

### **DAFTAR PUSTAKA**

1. **Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata KM, Setiati S.** Demam berdarah dengue. In: Ilmu Penyakit Dalam (Fifth Edition). Jakarta: Interna Publishing, 2009; p. 2773-9.
2. **Aryati.** Manfaat tes dengue stick IgM dan IgG pada demam berdarah dengue [homepage on the Internet]. c2010 [updated 2010 Jan 04; cited 2010 Jul 14]. Available from: URL: [itd.unair.ac.id/2010/01/08/MANFAAT%20TES%20DENGUE%20IGGIGM%20pada%20DBD](http://itd.unair.ac.id/2010/01/08/MANFAAT%20TES%20DENGUE%20IGGIGM%20pada%20DBD)
3. **Aryati.** The Role of dengue NS1 antigen as diagnostic tool [homepage on the Internet]. c2010 [updated 2010 Feb 01; cited 2010 Aug 14]. Available from: URL: [itd.unair.ac.id/2010/02/01/THE%20ROLE%20of%20DENGUE%20NS1%20ANTIGEN%20AS%20DENGUE](http://itd.unair.ac.id/2010/02/01/THE%20ROLE%20of%20DENGUE%20NS1%20ANTIGEN%20AS%20DENGUE)
4. **Kumala FD.** Demam berdarah dengue [homepage on the Internet]. c2010 [updated 2010 May 04 ; cited 2010 Aug 19]. Available from: URL: [fransisca.blogspot.Com/2010/05/DBD.html](http://fransisca.blogspot.Com/2010/05/DBD.html)
5. **Nadesul H.** Cara mudah mengalahkan demam berdarah. Jakarta: Pt Kompas Media Nusantara; 2001.p. 1-97
6. World Health Organization (WHO). Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention, and control. 2<sup>nd</sup> edition. Geneva, 1997; p. 1-84.
7. **Buchy P, Yoksan S, Peeling RW, Hunsperger E.** Laboratory tests for the diagnosis of dengue virus infection, 2007 [homepage on the Internet]. [cited 2011 Feb 02]. Available from: [http://www.who.int/tdr/publications/publications/swg\\_dengue\\_2.htm](http://www.who.int/tdr/publications/publications/swg_dengue_2.htm)
8. **Sekaran SD, Lan EC, Maheswarappa KB, Appanna R, Subramaniam G.** Sensitivity of dengue virus NS1-detection in primary and secondary infections. African Journal of Microbiology Research Vol. 3 [serial online]. 2009 [cited 2011 Feb 02]; (3):105-110. Available from: <http://>



- www.academicjournals.org/ajmr
9. **Nielsen DG.** The relationship of interacting immunological components in dengue pathogenesis. *Virology Journal* [homepage on the Internet]. c2011 [updated 2009 Nov 27; cited 2011 Feb 03]. Available from: <http://www.virologyj.com/content/6/1/211>
  10. **Tricou V, Vu HTT, Quynh NVN, Nguyen CVV, Tran HT, Farrar J et al.** Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. [homepage on the Internet]. c2011 [updated 2010 Mei 28; cited 2011 Feb 03]. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/10/142>
  11. **World Health Organization (WHO).** Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New Edition. [serial online]. 2009 [cited 2011 Feb 02]. p. 91-107.