

Peranan Antigen NS1 dalam Penegakan Diagnosa Demam Dengue di Indonesia

Mitayani

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Palembang

Abstrak

Diagnosis demam dengue pada hari-hari pertama demam masih sulit ditegakkan karena gejala dan tanda yang kurang spesifik. Saat ini pemeriksaan laboratorium untuk deteksi antigen NS1 (non-structural protein 1) mulai menjadi pilihan untuk menunjang penegakan diagnosis demam dengue pada hari-hari pertama demam dengan sensitivitas 50-80% dan spesifisitas 76,9-100%, bila dibandingkan dengan kadar trombosit darah dan hematokrit yang akurat setelah hari ke-3 demam dan deteksi IgM antidengue yang baru memberikan hasil positif pada hari ke-7 demam. Penggunaan deteksi antigen NS1 pada hari ke-1 sampai 3 demam akan sangat membantu penegakkan diagnosis demam dengue bila dibandingkan dengan pemeriksaan laboratorium lain pada waktu yang sama.

Kata kunci: dengue, antigen NS1

Role of NS1 Antigen Assay for Early Diagnosis of Dengue Fever in Indonesia

Abstract

Dengue fever sometimes is hard to diagnose in early phase of fever because it has unspecific signs and symptoms. Today, NS1 antigen becomes a first choice of diagnostic tools to detect a possibility of early phase in dengue infection with sensitivity 50-80% and specificity 76.9-100% compares to platelet count and hematocrit which give the best result after day 3 and the IgM detection that gives positive result in day 7. The detection of NS1 antigen in day 1 to 3 after onset of fever will help the doctor to diagnose dengue fever compares to another diagnostic test in the same time.

Keywords: dengue, NS1 antigen

Korespondensi= Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang,
Jl. Jend. Ahmad Yani Talang Banten 13 Ulu Palembang Telp. 0711-520045
Fax. 0711-516899. e-mail: mita_inz@yahoo.com

Pendahuluan

Penyakit demam Dengue atau demam berdarah Dengue adalah penyakit tropis yang disebabkan oleh vektor *Aedes aegypti*, dengan gejala khas demam dan disertai gejala-gejala tidak khas lainnya sehingga menyulitkan dokter untuk menegakkan diagnosis pada awal fase demam. Oleh karena itu, penegakan diagnosis yang hanya berdasarkan gejala klinis sulit diandalkan. Konfirmasi awal diagnosis klinik berdasarkan hasil laboratorium dapat berguna karena mungkin menyelamatkan jiwa pada beberapa kasus infeksi Dengue yang progresif.

Selama ini penegakan diagnosis demam Dengue di Indonesia masih mengandalkan pemeriksaan laboratorium hematokrit dan trombosit, padahal nilai trombosit biasanya mengalami penurunan di bawah normal setelah hari kelima panas sehingga sering terjadi keterlambatan dalam menegakkan diagnosis DBD.⁴ Mengingat penyakit DBD ini masih menjadi endemik di Indonesia maka perlulah kiranya suatu alat deteksi DBD yang lebih cepat dan akurat dibandingkan perhitungan nilai trombosit.

Sejak tahun 2009 WHO mengeluarkan *Guidelines For Dengue* yang mencantumkan penggunaan deteksi antigen NS1 sebagai alat deteksi dini karena sifatnya yang spesifik dan sangat sensitif pada hari-hari pertama demam.¹ Penggunaan deteksi antigen NS1 saat ini mulai marak di laboratorium-laboratorium klinik di kota-kota besar di Indonesia, karena

pertimbangan metode yang cepat dan harga cukup terjangkau namun spesifik untuk mendiagnosa demam Dengue sehingga sangat membantu kalangan medis. Namun masih banyak dokter umum yang belum familiar dengan penggunaan antigen NS1 sebagai alat diagnostik untuk demam dengue.

Virus Dengue

Demam Dengue (DD) dan Demam Berdarah Dengue (DBD) disebabkan virus dengue yang termasuk kelompok B *Arthropod Borne Virus* (Arboviruses) yang sekarang dikenal sebagai genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*, dan mempunyai 4 jenis serotipe, yaitu: DEN-1, DEN2, DEN-3, DEN-4. Keempat serotipe virus dengue dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Di Indonesia, pengamatan virus dengue yang dilakukan sejak tahun 1975 di beberapa rumah sakit menunjukkan bahwa keempat serotipe ditemukan dan bersirkulasi sepanjang tahun. Serotipe DEN-3 merupakan serotipe yang dominan dan diasumsikan banyak yang menunjukkan manifestasi klinik yang berat.¹

Virus dengue termasuk genus *Flavivirus* dari famili *Flaviridae*. *Flavivirus* merupakan virus yang diselubungi amplop dan mempunyai RNA rantai tunggal. Genom RNA diperkirakan berukuran 11 kb dan mengode tiga protein structural, yaitu C (*core protein*), M (*membrane protein*), dan E (*envelope protein*). Selain protein structural, ada juga protein nonstructural

(NS) yaitu NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, dan NS5. Protein virus non-struktural 1 (NS1) adalah suatu glikoprotein yang diproduksi oleh semua flavivirus dan juga disekresikan oleh sel mamalia. NS1 menimbulkan respon humoral yang sangat kuat.^{1,2}

NS1 adalah glikoprotein yang tampaknya berperan penting bagi viabilitas virus namun aktivitas biologisnya belum dapat dipastikan. NS1 diproduksi dalam bentuk membrane terasosiasi dan bentuk sekresi. ELISA untuk memeriksa antigen NS1 menunjukkan bahwa antigen ini muncul dengan konsentrasi tinggi dalam serum pasien terinfeksi dengue pada fase awal penyakit.^{2,3}

Banyak penelitian yang merujuk penggunaan deteksi antigen NS1 untuk mendapatkan diagnosis awal infeksi virus dengue. Alat pendeteksi antigen NS1 komersial sekarang sudah mulai banyak tersedia meskipun alat tersebut tidak dapat membedakan dengue penyebab infeksi berdasarkan serotipenya. Performa dan kegunaan alat pendeteksi antigen NS1 tersebut sampai saat ini masih terus dievaluasi oleh laboratorium-laboratorium di dunia.¹

Deteksi Antigen NS1 untuk Menegakkan Diagnosis Demam Dengue

Penegakan diagnosis DBD yang akurat dan efisien sangat penting dalam perawatan klinik (misalnya untuk mendeteksi awal suatu kasus yang berat atau untuk

mengonfirmasi kasus DBD dibandingkan dengan penyakit infeksi lainnya), dalam surveilans, atau penanganan kejadian luar biasa di Indonesia. Pada investigasi kejadian luar biasa (KLB) yang menjadi salah satu prioritas adalah untuk mengidentifikasi agen penyebabnya. Pada KLB yang dicurigai akibat infeksi virus dengue, tes diagnostik dengan kecepatan dan spesifitas yang tinggi (antigen NS1, asam nukleat) adalah lebih penting daripada tes dengan sensitivitas tinggi (IgM, IgG).¹

Menurut WHO, saat ini ada banyak metode diagnosis laboratorium untuk infeksi virus dengue, yaitu deteksi virus, asam nukleat virus, antigen, dan antibodi. Setelah onset penyakit, virus dengue dapat dideteksi dalam serum, plasma, sel darah yang bersirkulasi dan jaringan lain selama 4 – 5 hari. Pada tahap awal penyakit, isolasi virus dan deteksi antigen atau asam nukleat dapat digunakan untuk mendiagnosa infeksi dengue. Namun isolasi virus dan deteksi asam nukleat membutuhkan transportasi spesimen yang rumit karena sifat virus dengue tidak tahan panas, alat yang mahal, serta waktu yang cukup lama untuk mendapatkan hasil (1-2 minggu). Pada akhir fase akut infeksi, metode yang terbaik adalah serologi.¹

Pengembangan baru dari ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) dan *dot blot assay* dalam pendeteksian antigen *envelop* atau membran serta protein NS1 menunjukkan deteksi kedua antigen tersebut dalam bentuk imun kompleks dengan konsentrasi tinggi pada serum pasien

terinfeksi dengue sampai hari kesembilan setelah onset penyakit.¹ Sampel serum pasien yang terinfeksi virus Dengue akan terdeteksi protein NS1 pada ELISA.

Alcon *et al.* (2002) melaporkan bahwa antigen NS1 ditemukan bersirkulasi sejak hari pertama onset demam hingga hari ke-9, level antigen NS1 berkisar 0.04 - 2 $\mu\text{g/ml}$ pada sampel serum fase akut (dari hari ke-0 sampai 7), dan level antigen NS1 untuk sampel serum pada fase konvalesen (hari ke-8 dan setelahnya) adalah 0.04 $\mu\text{g/ml}$. Pada infeksi sekunder, antigen NS1 berkisar antara 0.01 - 2 $\mu\text{g/ml}$ dan tidak dapat dideteksi pada serum fase konvalesen.²

Berdasarkan penelitian Dussart *et al.*, yang dipublikasikan pada tahun 2006, dari 243 sampel yang dinyatakan positif untuk virus dengue dengan RT-PCR dan atau isolasi virus, 212 di antaranya positif untuk virus Dengue dengan *Platelia Dengue NS1 Ag Test*. Empat sampel yang hasilnya equivocal lalu dieksklusi dari kriteria sehingga jumlah sampel tinggal 239 sampel. Total sensitivitas adalah 88,7% (212/239 sampel). Namun tidak ada perbedaan signifikan atas serotype virus dengue yang dapat diteliti dengan alat tersebut. Sensitivitas antigen NS1 terhadap RT-PCR adalah 85% (113/133 sampel) dan terhadap kultur virus sebesar 94,1% (143/152 sampel).

Kemudian pada kelompok control dimana 50 sampel serum dari pasien yang tidak terinfeksi virus dengue dan 20 sampel serum dari pasien yang terkena *yellow fever* ternyata semuanya memberikan hasil negative dengan *Platelia Dengue NS1 Ag*

Test, sehingga spesifitas tes tersebut adalah 100%. Kesimpulan dari penelitian tersebut adalah penggunaan *Platelia Dengue NS1 Ag Test* sangat bermanfaat untuk kondisi pemeriksaan di lapangan terutama untuk sampel dari awal fase akut karena sensitivitas dan spesifitasnya yang tinggi.³

Sebuah penelitian yang kurang lebih serupa di Kamboja mengambil sampel serum pasien-pasien dengan diagnosis klinis infeksi dengue di bangsal anak Rumah Sakit Kampong Cham pada tahun 2006 dan 2007 dan sebagai kelompok kontrol diambil juga sampel serum pasien rawat inap dengan infeksi selain dengue dan pasien non-infeksi. Semua sampel darah diperiksa di laboratorium untuk memastikan diagnosis infeksi dengue dengan lima metode yaitu (1) deteksi anti-dengue virus (DENV)-IgM spesifik, (2) peningkatan titer 4 kali lipat pada tes hemaglutinasi inhibisi (HI), (3) deteksi antigen NS1 dengan alat *Platelia* produksi BioRad, (4) isolasi virus dengue setelah diinokulasikan pada sel nyamuk, dan (5) deteksi RNA virus dengue dengan RT-PCR atau *real time RT-PCR assay*.

Hasil penelitian infeksi dengue di bangsal anak Rumah Sakit Kampong Cham tersebut menunjukkan bahwa dari 260 sampel darah yang terinfeksi dengue, 150 sampel memberikan hasil NS1 positif. Untuk hari ke-1 sampai 3 sejak demam dimulai, sensitivitasnya mencapai 74% dengan spesifitas 100%, sedangkan untuk hari ke-4 sampai 8 demam sensitivitasnya menurun 52,2% namun spesifitas tetap 100%. Apabila deteksi antigen NS1 digabungkan

dengan MAC-ELISA, maka sensitivitasnya sangat meningkat hingga hari ke-8 setelah onset demam.⁵

Berdasarkan penelitian dari Suwandono, *et al.*, di Indonesia, yang membandingkan nilai diagnostik trombosit, leukosit, antigen NS1 dan antibodi IgM antidengue, ternyata antigen NS1 mulai terdeteksi sejak hari pertama panas. Meskipun sensitivitasnya tidak terlalu tinggi, NS1 lebih baik dibandingkan dengan sensitivitas IgM. Antibodi IgM mulai terdeteksi pada hari ke-3 panas dan sensitivitasnya naik hingga mencapai 100% pada specimen hari ke-6 dan 7. Sementara itu sensitivitas antigen NS1 tidak pernah mencapai 70%. Spesifitas NS1 dan IgM sejak hari pertama awitan sama-sama tinggi yaitu mencapai 100%.⁴

Untuk diagnosis dini sejak hari pertama sampai ketiga panas, NS1 menunjukkan sensitivitas yang paling baik (30-50%) dengan spesifitas 100%. Tidak seperti pemeriksaan yang lain, peningkatan sensitivitas NS1 pada specimen yang diambil pada hari-hari selanjutnya, sensitivitas NS1 hanya mencapai 50-60%. Rendahnya angka sensitivitas NS1, meskipun spesifitasnya 100% disebabkan oleh tingginya angka infeksi dengue sekunder atau bahkan tersier di daerah hiperendemik seperti di Indonesia, yaitu kompleks imun yang terjadi akan mengurangi sensitivitas.⁴

Kesimpulan dari penelitian tersebut adalah bahwa pemeriksaan trombosit atau leukosit dapat digunakan untuk membantu

diagnosis infeksi dengue karena mulai hari ke-4 panas menunjukkan sensitivitas dan spesifitas yang cukup baik. Penggunaan NS1 akan sangat membantu terutama pada hari pertama dan kedua panas karena pada saat tersebut parameter lain sensitivitasnya sangat rendah. Namun demikian sensitivitas NS1 tidak terlalu tinggi (50%), sehingga pada hasil negatif dan gejala klinis diduga dengue, pemeriksaan parameter lain pada hari selanjutnya harus dilakukan. Pemeriksaan antigen NS1 dengan gejala klinis dan gambaran hematologi akan meningkatkan akurasi diagnosis dengue.⁴

Pada tahun 2010, sebuah penelitian di Singapore juga menunjukkan bahwa sensitivitas deteksi antigen NS1 pada infeksi dengue mencapai 71,2 - 82,7% pada sampel serum akut yang dikumpulkan selama tiga hari pertama demam. Sensitivitas tersebut tetap tinggi (66,7 - 79,2%) sampai hari ke-6 setelah onset demam. Pada penelitian tersebut, deteksi antigen NS1 dengan alat Platelia™ dibandingkan dengan NS1 *strip assay* dan *dengue early assays*.

Secara keseluruhan, Platelia™ menunjukkan sensitivitas tertinggi dengan nilai > 75% selama delapan hari pertama setelah onset demam, diikuti oleh NS1 strip (> 69,2%) dan *dengue early assay* (>66,3%). Ketiga tes untuk deteksi antigen NS1 tersebut kemudian dicobakan pada 60 sampel negatif dengue pada kelompok kontrol, ternyata tidak ada hasil NS1 positif. Hal ini menunjukkan bahwa spesifitas antigen NS1 untuk infeksi dengue 100%.⁶

Dalam sebuah penelitian di China pada tahun 2006, sebanyak 313 sampel serum berpasangan dari 140 pasien yang sudah dikonfirmasi menderita infeksi DENV1 akut, diperiksa menggunakan DENV1 NS1 ELISA, dengue IgM dan IgG ELISA. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa antigen NS1 terdeteksi dalam serum hari pertama onset penyakit, dengan sensitivitas secara keseluruhan sebesar 89% pada sampel yang diambil selama tujuh hari pertama sakit. NS1 tidak terdeteksi lagi pada serum yang diambil setelah hari ke-14 sakit. Berkebalikan dengan NS1, antibodi IgM dan IgG tidak terdeteksi sebelum hari ke-3 sejak onset penyakit. Berdasarkan pengamatan mereka, akan terdapat *transient window period* bila menggunakan antibodi sebagai tes diagnostik untuk infeksi dengue. Deteksi antigen NS1 akan memperpendek masa *window period* tersebut.⁹

Kesimpulan

Berdasarkan hasil-hasil penelitian di atas, dapat dipastikan bahwa deteksi antigen NS1 dapat berperan dalam penegakan diagnosis dini penyakit demam dengue di Indonesia karena sensitivitasnya yang tinggi pada hari-hari pertama sakit dan spesifik untuk infeksi virus dengue, sehingga akan sangat membantu dokter dalam memutuskan penatalaksanaan terhadap pasien. Diagnosis demam dengue dapat diperkuat dengan pemeriksaan antibodi IgM dan atau IgG setelah fase konvalesen.

Daftar Pustaka

1. WHO. 2009. *Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*: 91-106.
2. Alcon, S., et al. 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol.* [cited 2012 Jan 11]; 40:376-81.
3. Dussart, P., Labeau, B., Lagathu, G., Louis, P., et al. 2006. Evaluation of an Enzyme Immunoassay for Detection of Dengue Virus NS1 Antigen in Human Serum. *Clin Vaccine Immunol.* 13 (11):[1185-9].
4. Suwandono A, Nurhayati PI, Rudiman PIF, Wisaksana R, Kosasih H. 2011. Perbandingan Nilai Diagnostik Trombosit, Leukosit, Antigen NS1 dan Antibodi IgM Antidengue. *J Indon Med Assoc.* 61 (8): 326-31.
5. Duong V, Ly S, Try PL, Tuiskunen A, et al. 2011. Clinical and Virological Factors Influencing the Performance of a NS1 Antigen-Capture Assay and Potential Use as a Marker of Dengue Disease Severity. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011 Jul [cited 2012 Jan 11]; 5(7) : [about 10 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3139664/?tool=pubmed>
6. Pok KY, Lai YL, Sng J, Ng LC. 2010. Evaluation of Nonstructural 1 Antigen

- Assays for the Diagnosis and Surveillance of Dengue in Singapore. *Vector-Borne and Zoonotic Disease*. [cited 2012 Jan 11]; 10(10): [about 8p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2992696/?tool>
7. Arya SC, Agarwal N, Parikh SC, Agarwal S. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2011 November [cited 2012 Jan 12]; 11(4): 470–476. From <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3206749/?tool=pubmed>
 8. Arya SC, Agarwal N, Parikh SC, Agarwal S. 2011. *Sultan Qaboos Univ Med J*. [cited 2012 Jan 12]; 11(4): 470–476. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3206749/?tool=pubmed>.
 9. Lima Mda R, Noqueira RM, Bispo de Filippis AM, dos Santos FB. 2011. *Clin Vaccine Immunol*. [cited 2012 Jan 12]; 18(6): 1031-3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21525305>.
 10. Hu D, Di B, Ding X, Wang Y, Chen Y, Pan Y, *et al*. 2011. Kinetics of non structural protein 1, IgM and IgG antibodies in dengue type 1 primary infection. *Virology*. [cited 2012 Jan 12]; 8(47): [about 4 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21284891>.
 11. Guzman MG *et al*. 2010. Multy Country Evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 Aug 31 [cited 2012 Jan 12]; 4(8); [about 10 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20824173>.