

KETERKAITAN ANTIGEN NS1 INFEKSI VIRUS DENGUE DENGAN SEROTIPE VIRUS DENGUE

(NS1 Antigen Dengue Virus Infection Associated with Serotypes of Dengue Virus)

Roudhotul Ismaillya Noor¹, Aryati², Puspa Wardhani²

ABSTRACT

Dengue virus infection (DVI) currently is detected by using dengue virus NS1 antigen (NS1 Ag). The sensitivity of NS1 Ag is 27.8%–93.4%, but recent study of Kumarasamy the sensitivity of NS1 Ag is better than the virus isolation and polymerase chain reaction (PCR). This study is focussed on the evaluation of the validity of Panbio Dengue Early Rapid for the diagnosis of DVI and the NS1 Ag sensitivity associated with dengue virus serotypes. The sera was obtained from 65 DVI patients which diagnosed by the clinicians. The resulted diagnosis was found by serology tests (positive IgM/IgG antidengue/NS1 Ag ELISA) and 1997 WHO criteria as the gold standard, and which also found 35 non DVI patients (typhoid fever, HAV, malaria, UTI, tuberculosis and bronchopneumonia). The samples were examined by Panbio Dengue Early Rapid. PCR was performed on each positive serological test result to determine the dengue virus serotypes. The sensitivity and specificity of Panbio Dengue Early Rapid was 49.2% and 100%. The PCR results of 65 sera showed positive PCR in 49.2% (positive NS1 Ag was 62.5%). Meanwhile, and negative PCR in 50.8% (positive NS1 Ag was 36.4%). The predominance of serotypes (positive NS1 Ag) were DEN-3 (37.5%), DEN-4 (28.1%), DEN-1 (21.9%) and DEN-2 (12.5%). The Panbio Dengue Early Rapid can be used as early detection of DVI, although it should be used in conjunction with other dengue serological tests as well. Unfortunately there is still not enough evidence about the NS1 Ag sensitivity associated with the dengue virus serotypes.

Key words: Dengue virus infection, NS1 antigen, dengue virus serotypes

ABSTRAK

Diagnosis infeksi virus dengue (IVD) dapat ditetapkan dengan pemeriksaan antigen virus dengue (Ag NS1). Pemeriksaan antigen NS1 memiliki kepekaan 27,8%–93,4%, tetapi berdasarkan penelitian terbaru Kumarasamy bahwa kepekaan Ag NS1 lebih unggul dibandingkan dengan biakan virus dan polymerase chain reaction (PCR). Penelitian ini bertujuan menilai kesahihan uji Panbio Dengue Early Rapid (Ag NS1) sebagai penunjang diagnosis IVD terkait serotipe virus dengue terhadap kepekaan diagnostik. Serum 65 penderita terdiagnosis IVD oleh peklinik (patokan WHO 1997), sebagai baku emas digunakan patokan WHO 1997 dan pemeriksaan serologik IgM/IgG antidengue/Ag NS1 ELISA yang positif, dan kelompok nondengue yaitu 35 penderita yang terbukti demam penyakit lain (demam tifoid, hepatitis A, malaria, ISK, tuberkulosis dan bronchopneumonia). Semua sampel diperiksa dengan Panbio Dengue Early Rapid. PCR dilakukan untuk mengetahui serotipe virus dengue apabila salah satu pemeriksaan serologisnya positif. Kepekaan dan kekhasan Panbio Dengue Early Rapid adalah 49,2% dan 100%. Hasil PCR 65 sampel didapatkan PCR positif 49,2% (Ag NS1 positif 62,5%). Hal yang menarik, dari PCR negatif 50,8% dijumpai 36,4% Ag NS1 positif. Dominasi serotipe dengan Ag NS1 positif adalah DEN-3 (37,5%), DEN-4 (28,1%), DEN-1 (21,9%) dan DEN-2 (12,5%). Pemeriksaan Panbio Dengue Early Rapid dapat digunakan sebagai temuan dini pemeriksaan IVD, namun karena kepekaan rendah maka sebaiknya digabungkan dengan uji serologik lain. Penelitian ini menunjukkan bahwa belum cukup terbukti keterkaitan pengaruh serotipe virus dengue terhadap kepekaan diagnostiknya.

Kata kunci: Infeksi virus dengue, antigen NS1, serotipe virus dengue

PENDAHULUAN

Infeksi virus dengue (IVD) saat ini merupakan penyakit yang menjadi endemis di dunia dan secara mendunia terjadi peningkatan kejadian 30 kali dalam 50 tahun terakhir.¹ IVD menyebabkan masalah besar bagi kesehatan masyarakat karena diperkirakan setiap tahun menyebabkan 100.000.000 kasus demam dengue dan 250.000–500.000 *Dengue Hemoragic Fever (DHF)/Dengue Shock Syndrome (DSS)*.^{2,3} Berdasarkan macam infeksi virus dengue terdapat dua (2) jenis yaitu

infeksi primer dan sekunder. Kekebalan seumur hidup terhadap serotipe homologous muncul setelah infeksi primer. Di daerah endemik seperti Indonesia, umumnya terjadi infeksi dengue sekunder. Kajian epidemiologik di Asia Tenggara menunjukkan bahwa DSS banyak terjadi selama infeksi sekunder oleh serotipe virus yang berbeda dari penyebab infeksi primer.⁸

Infeksi dengue merupakan infeksi yang disebabkan oleh *flavivirus* famili *flaviviridae* yang ditularkan melalui gigitan transmisi nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* pembawa (*vector*) yang banyak terdapat

¹ Departemen Patologi Klinik FK. UNAIR/RSUD Dr. Soetomo Surabaya. E-mail: noor_007@yahoo.com

² Departemen Patologi Klinik FK. UNAIR-RSUD Dr. Soetomo Surabaya/Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga

di seluruh pelosok Indonesia.³ Virus dengue terdiri dari empat (4) serotipe yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Serotipe virus DEN-3 dilaporkan sering menimbulkan wabah, sedangkan di Thailand penyebab wabah utama adalah serotipe virus DEN-2. Menurut Aryati¹⁰, di Indonesia didapatkan terutama serotipe DEN-2 diikuti oleh DEN-3.¹⁰

Virus dengue merupakan virus RNA dengan panjang 11 kb dan terdiri atas tiga (3) struktural protein yaitu protein inti (*core*) atau nukleokapsid atau inti (C), protein membrana (M), protein penyalubung/*envelope* (E) dan 7 protein nonstruktural (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, dan NS5). Protein nonstruktural terlibat dalam replikasi virus RNA.⁴

Salah satu protein nonstruktural (NS) virus dengue yaitu protein NS1. Protein NS1 merupakan glikoprotein dengan BM 44.000–49.000 Da dan dibuat di retikulum endoplasmik yang kasar sebagai monomer yang menarik air (hidrofilik), dalam alat (*apparatus*) golgi akan mengalami penguraian gula (glikosilasi) menjadi homodimer yang lebih tidak menarik air (hidrofobik) dan diangkut ke membran plasma serta sekresi keluar sel, beredar di peredaran darah selama tahap akut, sehingga dapat ditemukan di serum penderita. Oleh karena itu pemeriksaan antigen (Ag) NS1 diperlukan untuk menemukan adanya IVD di tahap akut. Penemuan dan pengukuran Ag NS1 yang bebas di peredaran darah menjadi diagnosis khas untuk virus dengue dan dapat meramalkan keparahan penyakit lebih awal dibandingkan uji serologik yang ada. Berbagai telitian menunjukkan bahwa temuan Ag NS1 lebih unggul kepekaannya dibandingkan dengan biakan virus dan pemeriksaan *polymerase chain reaction* (PCR) maupun antibodi IgM dan IgG antidengue. Kekhasan Ag NS1 100% sama tingginya seperti baku emas biakan virus maupun PCR.^{4,5}

Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai kesahihan reagen Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* sebagai penunjang diagnosis IVD dan keterkaitan kepekaan diagnostik dengan serotipe virus dengue.

METODE

Metode meneliti ini adalah amatan potong silang. Sampel penelitian adalah serum penderita yang terdiagnosis IVD oleh peklinik yang memenuhi patokan WHO¹ sebagai baku emas dan dirawat di berbagai rumah sakit di wilayah Indonesia (Jakarta, Bali, dan Medan). Pemeriksaan serologis IgM/IgG antidengue atau NS1 Ag ELISA yang positif juga dengan patokan WHO 1997. Pengambilan sampel dilakukan pada saat hari pertama masuk rumah sakit (MRS) sebanyak

65 buah dan untuk kelompok nondengue diambil dari penderita yang demam terbukti akibat penyakit lain (demam tifoid, hepatitis A, malaria, ISK, tuberkulosis dan bronchopneumonia) sebanyak 35 sampel. Semua sampel diperiksa dengan Panbio *Dengue Early Rapid* dan bila hasilnya positif di salah satu pemeriksaan tersebut (IgM/IgG antidengue atau NS1 Ag ELISA) dilakukan PCR untuk mengetahui serotipe virus dengue atau yang dikenal dengan istilah *serotyping*. Penelitian dilakukan mulai Desember 2010 sampai dengan Maret 2011.



Cara kerja

1. 50 μ L serum ditambahkan di tabung uji.
2. 25 μ L dapar berturut-turut (*running buffer*) ditambahkan di tabung uji.
3. 25 μ L penghubung emas (*gold conjugate*) ditambahkan di tabung uji.
4. *Gold Conjugate* harus tercampur rata dengan membolak-balikkan botol beberapa kali sebelum ditambahkan.
5. Semua reagen dicampur dengan menggoyangkan tabung uji.
6. Tongkat celup (*dipstick*) diletakkan ke dalam tabung uji sampai menyentuh dasar tabung.
7. Penghitung waktu (*timer*) dihidupkan.
8. Hasil dibaca tepat 15 menit setelah *dipstick* diletakkan dalam tabung uji.

Gambar 1. Cara kerja pemeriksaan antigen NS1 Panbio *Dengue Early Rapid*.⁶

Uji Panbio cepat dengue dini (*Dengue Early Rapid*)⁶

Asas kerja yang digunakan oleh Panbio *Dengue Early Rapid* adalah uji imunokromatografi cepat (*immunochromatography rapid test*) untuk pemeriksaan menurut mutu Ag NS1 serum penderita sebagai penunjang pemeriksaan laboratorik untuk diagnosis IVD dalam penelitian ini. Hasil yang didapatkan harus ditafsirkan oleh tiga orang secara bebas dan dapat dinyatakan sah bila dua dari tiga orang menyatakan hal yang sama (positif atau negatif).



Pembacaan dan Penafsiran hasil ujian Positif:
Tampak dua (2) garis merah muda di daerah uji (T) dan kontrol (C).

▪ Negatif:
Tampak satu (1) garis merah muda di daerah kontrol (C).

▪ Invalid:
Tidak muncul garis merah muda pada area kontrol (C), tes harus diulang.

Gambar 2. Pembacaan dan penafsiran hasil uji antigen NS1 Panbio *Dengue Early Rapid*.⁶

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan serum 65 penderita IVD dan didapatkan hasil antigen (Ag) NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* positif di 32 sampel dan negatif di 33 sampel lainnya. Sementara serum 35 penderita non IVD, semuanya memberikan hasil Ag NS1 negatif.

Hasil uji diagnostik di 100 sampel penderita IVD dan non IVD tercantum di berbagai tabel di bawah ini, yang menunjukkan kepekaan dan kekhasan Panbio *Dengue Early Rapid* adalah sebesar 49,2% dan 100%.

Tabel 1. Uji diagnostik Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* terhadap sampel penderita IVD dan non-IVD

Jenis uji	Kepekaan	Kekhasan	PPV	NPV
<i>Dengue Early Rapid</i>	49,2% (32/65)	100% (35/35)	100% (32/32)	51,5% (35/68)

PPV: Positive Predictive Value; NPV : Negative Predictive Value

Tabel 2. Uji diagnostik Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* terkait jenis infeksi virus dengue

Jenis infeksi	Ag NS1 <i>Dengue Early Rapid</i>	
	Positif	Negatif
Infeksi primer	72,2% (13/18)	27,8% (5/18)
Infeksi sekunder	33,3% (11/33)	66,7% (22/33)

Hasil pemeriksaan Ag NS1 jenis infeksi primer dengue didapatkan 72,2% dan yang sekunder dengue 33,3%. Hal ini sesuai dengan telitian yang lebih dulu bahwa

Ag NS1 dihasilkan mulai hari pertama (ke-1) demam hingga hari ke-9, tetapi biasanya tidak lebih dari 1 minggu. Walaupun kemungkinan beberapa penderita dapat ditemukan hingga setelah masa hilangnya demam (*defervescence*), temuan Ag NS1 kurang peka terutama bagi infeksi sekunder.⁹

Tabel 3. Uji diagnostik PCR dan Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* terkait sampel penderita IVD

PCR	Ag NS1 <i>Dengue Early Rapid</i>	
	Positif	Negatif
Positif	62,5% (20/32)	37,5% (12/32)
Negatif	36,4% (12/33)	63,6% (21/33)

Hasil PCR dari 65 sampel didapatkan PCR yang positif 49,2% (32/65) dengan Ag NS1 positif 62,5%. Hal yang menarik dapat dilihat di tabel 3, dari PCR negatif sebanyak 50,8% (33/65) dijumpai 36,4% Ag NS1 positif. Hal ini mendukung bahwa temuan Ag NS1 lebih unggul kepekaannya dibandingkan dengan biakan virus dan pemeriksaan PCR maupun antibodi IgM serta IgG antidengue. Kekhasan Ag NS1 100% sama tinggi dengan baku emas biakan virus maupun PCR.^{4,5}

Tabel 4. Hasil pemeriksaan Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* terkait serotipe virus dengue sampel penderita IVD

<i>Dengue Early Rapid</i>	DEN-1	DEN-2	DEN-3	DEN-4
Positif (20/62,5%)	5 (25%)	4 (20%)	8 (40%)	3 (15%)
Negatif (12/37,5%)	2 (16,7%)	-	4 (33,3%)	6 (50%)

Pemeriksaan serotipe virus dengue yang PCR positif 49,2% (32/65) didapatkan hasil dengan Ag NS1 positif lebih banyak daripada serotipe DEN-3, sedangkan hasil dengan Ag NS1 negatif lebih banyak di serotipe DEN-4.

Tabel 5. Hasil pemeriksaan Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* terkait hari demam bagi sampel penderita IVD

Hari Demam	Ag NS1 <i>Dengue Early Rapid</i>	
	Positif	Negatif
1 (1)	1 (2,4%)	-
2 (1)	1 (2,4%)	-
3 (3)	1 (2,4%)	2 (4,9%)
4 (14)	8 (19,5%)	6 (14,6%)
5 (17)	10 (24,4%)	7 (17,1%)
6 (2)	-	2 (4,9%)
7 (2)	-	2 (4,9%)
8 (1)	1 (2,4%)	-

Dari 65 sampel penderita IVD terdapat 41 buah yang berdata hari demam. Hasil pemeriksaan Ag NS1 positif paling banyak dijumpai pada demam hari ke-4 (19,5%)

dan ke-5 (24,4%). Hal yang menarik adalah didapatkan satu (1) sampel dengan Ag NS1 positif pada hari ke-8 demam yang terdiagnosis demam dengue.

Tabel 6. Ciri sampel IVD

Diagnosis	Jumlah sampel	Jumlah sampel positif Ag NS1 Dengue Early Rapid
Dengue fever	18	5 (27,8%)
Dengue haemorrhagic fever	47	27 (57,4%)
Jumlah keseluruhan	65	32

Dari 65 sampel penderita IVD (tabel 6) didapatkan 18 sampel dengan *dengue fever* yang menunjukkan hasil Ag NS1 positif 27,8%; sedangkan 47 sampel dengan *dengue haemorrhagic fever* yang menunjukkan hasil Ag NS1 positif 57,4%.

Tabel 7. Ciri sampel non IVD

Diagnosis	Jumlah sampel
Malaria	10
Typhoid fever	6
Hepatitis A	3
Tuberkulosis	7
Bronkopneumonia	5
Infeksi saluran kemih	4
Jumlah keseluruhan	35

Dari 35 sampel penderita non infeksi virus dengue, semuanya menunjukkan hasil Ag NS1 negatif (100%).

Sebaran geografis, *global emergence* dan *re-emergence* epidemi dengue, keparahan penyakit, menjadikan dengue merupakan masalah kesehatan dunia, terutama di wilayah urban dan peri-urban negara tropis dan subtropis. Namun, dengan penanganan baik di rumah sakit maupun pengobatan penunjang, terutama pengobatan pengganti cairan (*fluid replacement therapy*) dan pengelolaan pemantauan penderita, angka kematian dapat diturunkan hingga kurang dari 1%.¹

Demam dengue ditandai dengan: demam, sakit kepala, nyeri otot dan sendi, bintik kemerahan dan adakalanya timbul gejala perdarahan. Gejala klinis yang tidak khas, mengharuskan uji diagnostik khas untuk membedakan dengue dengan penyakit lain, yang menunjukkan gejala yang sama, seperti: penyakit Weil (*leptospirosis*), *rubella*, influenza, atau infeksi demam tungau (*rickettsia*).^{2,3} Trombositopenia sering terjadi di demam dengue dan selalu terjadi di demam berdarah dengue. Diduga virus dengue menekan sumsum tulang, sehingga terjadi gangguan pembuatan trombosit. Diagnosis dini sangat diperlukan untuk penatalaksanaan penderita. Angka kesakitan dan kematian dapat diturunkan dengan penanganan sejak

dini dengan merawat lebih awal penderita di rumah sakit dan memberikan perawatan penunjang yang terbaik.⁴

IVD menyebabkan berbagai tingkatan penunjukkan klinis yang berbeda, yaitu asimtomatis, demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD) dan sindroma syok dengue (SSD) dengan segala komplikasi perdarahan, penyakit otak (*ensefalopati*) maupun gangguan faal hati yang berat. Hal ini diduga berkaitan dengan teori peningkatan ketergantungan antibodi (*antibody dependent enhancement/ADE*) maupun teori virulensi virus yang masih banyak dianut sampai saat ini. Angka kesakitan penyakit DBD menyebar di berbagai negara tropis dan subtropis.¹¹

Sekresi NS1 keluar sel dan kadar yang tinggi dalam darah pada tahap akutlah yang menjadi dugaan imunopatogenesis NS1 infeksi dengue. Jalannya penyakit IVD belum sepenuhnya diketahui, tetapi beberapa penelitian epidemiologik menunjukkan respons imun seseorang terkait infeksi sekunder. Yaitu penyakit yang disebabkan oleh virus dengue yang berbeda serotipenya dalam meningkatkan bahaya kejadian DHF dan DSS.¹ NS1 berperan dalam morfogenesis virion dan replikasi virus yang terpajan di membran plasma dan dirembihkan keluar sel, dianggap berperan dalam proses infeksi secara imunopatologik. Di antara protein non struktural NS1 bersifat paling imunogenik, ditemukan dengan kadar yang tinggi dalam serum penderita tahap akut, sedangkan protein NS lainnya lebih berperan dalam proses replikasi virus.⁵

Kepekaan uji Panbio *Dengue Early Rapid* pada penelitian ini adalah 49,2%. Rendahnya kepekaan Ag NS1 pada penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Andayani, Widijatmoko, Rini, dan Tambunan¹² di Surabaya, yang menemukan bahwa kepekaan NS1 ELISA beragam antara 27,8%–52,2%. Hal ini berbeda dibandingkan dengan hasil telitian di luar negeri, Blacksell *et al.*,² di Laos (63%), Lapphra *et al.*,² di Thailand (63%), Kumarasamy,⁵ di Malaysia (90%), dan Hang, *et al.*,⁸ di Vietnam (83%) serta William,⁸ di Australia (88,7%).¹⁰

Perbedaan hasil kepekaan ini kemungkinan karena dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain adalah: (1) waktu pengambilan darah sampel yang tidak sama hari mulai demamnya; menurut Tambunan¹² bahwa kadar tertinggi Ag NS1 terutama dijumpai saat demam hari ketiga.¹² (2) jenis infeksi dengue yang terjadi karena infeksi primer kadar Ag NS1 lebih stabil dibandingkan dengan infeksi sekunder yang lebih cepat menurun, terutama setelah melewati demam hari ketiga; (3) serotipe virus dengue yang menginfeksi penderita yaitu infeksi primer yang memiliki kadar lebih tinggi daripada yang sekunder.¹¹

Dalam penelitian ini Ag NS1 lebih unggul daripada PCR karena dari 33 sampel PCR negatif didapatkan

hasil Ag NS1 positif 36,4%. Kepekaan Ag NS1 Panbio *Dengue Early Rapid* walaupun rendah, tetapi bila dijumpai hasil yang positif maka dapat dipastikan penderita mengidap IVD. Meskipun belum tentu ia mengidap demam berdarah dengue, tetapi bila hasil pemeriksaannya negatif tidak menyangsikan IVD yang terjadi. Dengan demikian hasil pemeriksaan PCR positif tidak menjamin bahwa Ag NS1 positif dan PCR negatif ternyata juga tidak menjamin Ag NS1 negatif.

Temuan NS1 di penderita semakin menurun dari hari ke hari sejak timbul gejala. Hal tersebut kemungkinan karena anti-NS1 yang berikatan dengan NS1 timbul, sehingga jumlah NS1 bebas semakin menurun.^{7,8} Oleh karena itu penetapan diagnosis adanya IVD tidak cukup hanya dengan pemeriksaan NS1 saja, tetapi sebaiknya dilakukan bersama pemeriksaan serologis lainnya yaitu antidengue IgM dan IgG.⁶

Epidemiologi molekuler banyak dikembangkan untuk mencari berbagai faktor yang diduga menjadi penyebab jumlah penderita penyakit IVD masih meningkat di seluruh belahan dunia. Menurut Igarashi,⁹ serotipe dan subtipe virus dengue dapat menentukan virulensi virus dengue. Di setiap negara, serotipe yang dominan berbeda-beda. Di Indonesia dan juga di Surabaya (pada tahun 2005) didapatkan dominasi serotipe DEN-2 (80%) diikuti DEN-3 (16%) dan hanya 1 DEN-4 (4%), tetapi tidak ada satu pun DEN-1. Berbeda dengan telitian ini (Jakarta, Bali, dan Medan) yang berpengaruh adalah serotipe virus dengue DEN-3 (37,5%), DEN-4 (28,1%), DEN-1 (21,9%) dan DEN-2 (12,5%). Hal ini menunjukkan terdapat sirkulasi serotipe yang disebabkan kemungkinan ada pembawa penyakit antar kota atau sirkulasi internal. Di samping itu harus lebih berhati-hati terhadap bahaya infeksi sekunder oleh serotipe yang berbeda karena dapat menyebabkan manifestasi klinis yang lebih berat.¹¹

SIMPULAN

Didasari hasil telitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut: Pemeriksaan Panbio *Dengue Early Rapid* dapat digunakan sebagai penemu dini pemeriksaan IVD, tetapi karena kepekaan yang rendah, maka sebaiknya

ditambah dengan uji serologik lain untuk menunjang diagnosis IVD. Belum cukup terbukti ada keterkaitan pengaruh serotipe virus dengue terhadap kepekaan diagnostik sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dan cakupan yang lebih luas untuk mendukung perkembangan ilmu pengetahuan.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Dengue Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition WHO and TDR, Geneva. 2009.
2. De Rivera IL, Parham L, Murillo W, Moncada W, Vazquez S. Humoral Immune Response of Dengue Hemorrhagic Fever Cases in Children from Tegucigalpa, Honduras. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2008; 79(2): 262-266.
3. Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with development of dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis*, 2002; 186: 1165-68.
4. Dussart P, Labeau B, Lagathu GI, Louis P, Nunes MRT, Rodrigues SG. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. *Clin Vac Immunol*, 2006; 13: 1185-9.
5. Kumarasamy V, Chua SK, Hasan Z, Wahab AHA, Chem YK, Mohamad M. Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen-captured ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. *Singapore Med J*, 2007; 48: 669-73.
6. Panbio *Dengue Early Rapid* catalogue No. R-DEN01P
7. Aryati. The Role of Dengue NS1 Antigen as Diagnostic Tool. *Simposium Nasional: Emerging and Re-emerging Infectious Diseases Update 1*, 2008.
8. Dutra. The Laboratory Diagnosis of Dengue: Application and Implications. *Journal of Global Infectious Disease*, 2009; 1: 38-44.
9. Alcon S. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Specific to Dengue Virus Type 1 Nonstructural Protein NS1 Reveals Circulation of Antigen in the Blood during the Acute Phase of Disease in Patients Experiencing Primary or Secondary Infections. *J.Clin.Microb*, 2002; 40: 376-381.
10. Aryati, Soetjipto, Soedjoko Hariadhi, Fedik Rantam, Soegeng Soegijanto. Profil serotipe virus dengue di Indonesia tahun 2003-2005. *Majalah Kedokteran Tropis Indonesia (MKTI)*, 2006; 17(1): 72-80.
11. Aryati, Puspa Wardhani. Profil virus dengue di Surabaya tahun 2008-2009. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 2010; 17(1): 21-24.
12. Tambunan BA, Aryati, D Husada. Nilai batas antigen NS1 dengue kuantitatif sebagai prediktor keparahan infeksi virus dengue anak. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 2010; 17(1): 32-36.