

# NILAI DIAGNOSTIK ANTI DENGUE IgA DAN NS1, SERTA IgM/IgG DI INFEKSI VIRUS DENGUE

(The Diagnostic Value of Anti Dengue IgA and Anti Dengue IgM/IgG in Dengue Virus Infection)

Resna<sup>1</sup>, Aryati<sup>1</sup>, Puspa Wardhani<sup>1</sup>, Erwin Triyono<sup>2</sup>

## ABSTRACT

The clinical manifestations of dengue virus infection are varied and thus a specific diagnostic examination is required. Usually anti-dengue IgM is often used, but the presence in the circulation is 3–8 months long. NS1 is sensitive in the detection of primary infection, whereas IgG is more better used in secondary infection. The examination of anti-dengue IgA as a new marker is estimated to be able to detect the acute primary and secondary infection, however the diagnostic value of anti-dengue IgA is not much well known for the Indonesian population. This study was done at the Tropical Infectious Disease Ward of Dr. Soetomo Hospital, Surabaya during February – April 2013. The samples consisted of 37 sera from patients infected by dengue virus and 37 sera from those non one (dengue virus infection patients). The NS1 serum, anti-dengue IgM and anti dengue IgG were examined by ELISA and anti-dengue IgA was examined by an indirect immunochromatography method using Assure<sup>®</sup> Dengue IgA Rapid Test (MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd). The diagnostic value was analyzed by 2x2 table with a confidence interval of (CI) 95%. The used gold standards were from the 1997<sup>th</sup> WHO criteria and one of the positive dengue serological tests by ELISA (NS1/anti dengue IgM/anti dengue IgG). AUC and anti-dengue IgA cut-off were determined by ROC curve. The Diagnostic value of anti-dengue IgA showed a sensitivity and specificity of 83.8% (67.3 to 93.2) and 81.1% (64.3 to 91.4). A positive predictive value of 81.6% (65.1 to 91.7) and a negative predictive value of 83.3% (66.5 to 93.0) was found. The positive likelihood ratio was 4.4 times (2.2 to 8.8) and negative likelihood ratio of only 0.2 times (0.09 to 0.42). The best cut off value of 0.2 was shown by the area under the curve of 83.5%. Based on this study, the diagnostic value of anti-dengue IgA had a good validity for the diagnosis of dengue virus infection.

**Key words:** Dengue virus infection, anti-dengue IgA, diagnostic value, the ROC curve, AUC, cut-off

## ABSTRAK

Manifestasi klinis infeksi virus dengue beragam dan diperlukan pemeriksaan diagnostik yang khusus. Anti dengue IgM digunakan sebagai petanda infeksi akut primer, tetapi tetap berada di edaran darah antara 3–8 bulan. NS1 peka dalam mendeteksi infeksi primer, sedangkan IgG lebih baik digunakan untuk infeksi sekunder. Pemeriksaan anti dengue IgA sebagai petanda baru ditengarai dapat mendeteksi tingkat akut infeksi primer dan sekunder, tetapi belum banyak diketahui nilai diagnostik IgA anti dengue di masyarakat Indonesia. Penelitian dilakukan di Ruang Tropik Infeksi Penyakit Dalam RSUD Dr. Soetomo Surabaya antara bulan Februari–April 2013. Sampel penelitian terdiri dari 37 serum pasien infeksi virus dengue dan 37 infeksi nonvirus dengue. Serum yang diperiksa ialah NS1, IgM dan anti dengue IgG dengan metode ELISA, kemudian anti dengue IgA diperiksa menurut metode indirek imunokromatografi menggunakan Assure<sup>®</sup> Dengue IgA Rapid Test (MP Biomedicals Asia Pasific Pte Ltd). Nilai diagnostik anti dengue IgA dianalisis menggunakan tabel 2x2 dengan selang kepercayaan 95%. Bakuan emas yang dipakai adalah menurut patokan WHO 1997 dan salah satu uji serologis dengue dengan ELISA positif (anti dengue NS1/IgM /IgG). AUC dan *cut off* anti dengue IgA ditentukan dengan kurva ROC. Nilai diagnostik anti dengue IgA menunjukkan kepekaan dan kekhasan 83,8% (67,3-93,2) dan 81,1% (64,3-91,4). Nilai ramal positif 81,6% (65,1-91,7) serta nilai ramal negatif 83,3% (66,5-93,0). Angka banding kemungkinan positif sebesar 4,4 kali (2,2-8,8) dan yang kemungkinan negatif hanya 0,2 kali (0,09-0,42). Nilai *cut off* paling baik 0,2 dengan daerah bawah lengkung sebesar 83,5%. Nilai diagnostik anti dengue IgA bervaliditas yang baik untuk penetapan diagnosis infeksi virus dengue

**Kata kunci:** Infeksi virus dengue, anti dengue IgA, nilai diagnostik, anti dengue IgM/IgG, NS1

## PENDAHULUAN

Infeksi virus dengue adalah penyakit virus yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* dan *Aedes polynesiensis*.<sup>1-3</sup> Masyarakat dunia yang terinfeksi virus dengue menurut WHO 2011 adalah sekitar 50 juta, yang 500.000 pasien memerlukan

perawatan di rumah sakit setiap tahunnya dan sejumlah 25.000 berakibat fatal.<sup>4</sup> Surabaya termasuk daerah endemis yang tinggi dengan angka rerata kejadian pada tahun 2011 adalah 14,23/100.000 penduduk dan rerata kasus kematian sebanyak 1,15%.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Departemen/Instalasi Patologi Klinik Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya. E-mail: resna.lombok@yahoo.com

<sup>2</sup> Departemen/Instalasi Ilmu Penyakit Dalam Universitas Airlangga/RSUD Dr Soetomo Surabaya

Infeksi virus dengue berdasarkan patokan WHO 1997 dibagi menjadi; demam yang tidak dapat dibedakan (*undifferentiated fever*), Demam Dengue (DD) dan Demam Berdarah Dengue (DBD).<sup>6-8</sup> Manifestasi klinis infeksi virus dengue sangat beragam, terutama pada tingkat akut gejalanya serupa dengan infeksi virus pada umumnya.<sup>9,10</sup>

Pemeriksaan diagnostik yang khusus diperlukan untuk membedakan dengan penyakit lain yang bergejala sama, seperti demam tifoid, malaria, leptospirosis, virus hepatitis, *Japanese encephalitis*, influenza atau infeksi *rickettsia*.<sup>10-13</sup>

Pemeriksaan laboratorik untuk infeksi virus dengue meliputi: serologis, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan kultur virus.<sup>14-17</sup> Pemeriksaan serologis dapat mendeteksi antigen berupa: baik yang terkait NSI maupun antibodi seperti: anti dengue IgA, IgM dan IgG menggunakan metode imunokromatografi atau *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).<sup>18-21</sup> Pemeriksaan penguatan infeksi virus dengue adalah dengan PCR dan kultur virus.<sup>22-26</sup>

Deteksi anti dengue IgM sampel tunggal merupakan cara diagnostik yang paling sering digunakan.<sup>27</sup> Keberadaan anti dengue IgM di pasien infeksi virus dengue menandakan kejadian akut primer.<sup>28-30</sup> Anti dengue IgM dapat bertahan hingga tiga (3) bulan bahkan dapat mencapai lebih dari delapan (8) bulan. Di daerah endemik, hal ini dapat menyebabkan hasil positif palsu yang tinggi, karena kemungkinan anti dengue IgM yang timbul disebabkan oleh infeksi delapan (8) bulan sebelumnya. Anti dengue IgM sering tidak terdeteksi di infeksi virus dengue sekunder.<sup>31-33</sup>

Antibodi IgG dihasilkan  $\pm$  dua (2) minggu sesudah infeksi di infeksi virus dengue primer, sedangkan di infeksi virus dengue sekunder tidak sejalan dengan IgG yang meningkat tajam mulai hari ke 3–5 saat kejadian penyakit. Pemeriksaan anti dengue IgG lebih baik digunakan tidak sejalan dengan infeksi virus dengue sekunder dan hasil positif dikaitkan dengannya (infeksi virus dengue sekunder). Kekurangan pemeriksaan ini dapat bertahan antara 1–2 tahun, bahkan dapat bertahan seumur hidup.<sup>34</sup> Kepekaan dan kekhususan IgG ELISA 89,5% dan 93,2%.<sup>35</sup> Pemeriksaan NSI peka untuk mendeteksi infeksi virus dengue primer, tetapi kurang peka untuk mendeteksi infeksi virus dengue sekunder.<sup>28,34</sup> Menurut Tan *et al*<sup>32</sup>, Kepekaan NSI dengan ELISA 89,2% bagi infeksi virus dengue primer, 20% bagi infeksi virus dengue sekunder.<sup>32</sup>

Nawa *et al*<sup>36</sup> dan Talarmin *et al*<sup>37</sup> dalam telitiannya melaporkan bahwa anti dengue IgA meningkat pada waktu yang hampir sama dengan anti dengue IgM di pasien infeksi virus dengue.<sup>36,37</sup> Anti dengue IgA timbul pada hari ke-6 sedangkan yang IgM pada hari ke-5. Namun, keberadaan anti dengue IgA berlangsung lebih singkat dibandingkan dengan anti dengue IgM.<sup>36</sup>

Anti dengue IgA tetap positif sampai pada hari ke-45, sedangkan anti dengue IgM positif sampai hari ke-90.<sup>38</sup> Telitian terbaru Nawa *et al*<sup>36</sup> dan Balmaseda *et al*<sup>39</sup> mendapatkan respons anti dengue IgA lebih tinggi daripada infeksi virus dengue akut sekunder dibandingkan dengan yang primer, sesuai dengan mekanisme perubahan immunoglobulin.<sup>39-44</sup>

Ahmed *et al*<sup>45</sup> dalam telitiannya mendapatkan kepekaan anti dengue IgA jumlah keseluruhan 99,4%.<sup>45</sup> Penelitian Tan *et al*<sup>32</sup> memperkuat telitian tersebut dengan mendapatkan kepekaan anti dengue IgA 92,8% pada infeksi virus dengue sekunder 77,4% di infeksi virus dengue primer dan 86,7% jumlah keseluruhan kepekaan infeksi virus dengue.<sup>31</sup> Balmaseda *et al*<sup>39</sup> melaporkan hasil yang berbeda dengan kepekaan jumlah keseluruhan anti dengue IgA yang diperoleh 69,4%.<sup>46</sup>

Pemeriksaan anti dengue IgA merupakan petanda baru untuk infeksi virus dengue yang telah dilaporkan di berbagai telitian.<sup>31,46</sup> Penentuan nilai diagnostik anti dengue IgA sampai saat ini masih sedikit bagi masyarakat di Indonesia dan perangkat komersial anti dengue IgA telah tersedia. Berdasarkan beberapa uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik anti dengue IgA dan kesesuaiannya dengan NSI dan anti dengue IgM/IgG dalam diagnosis infeksi virus dengue dengan membuktikannya.

## METODE

Jenis penelitian ini adalah uji diagnostik dengan rancangan potong silang. Penelitian dilakukan antara bulan Februari–April 2013 di Ruang Tropik Infeksi Penyakit Dalam RSUD Dr. Soetomo. Untuk pemilihan dan pengambilan sampel darah serta untuk pemeriksaan NSI/IgM/IgG anti dengue dengan metode ELISA, sedangkan yang IgA dengan metode imunokromatografi di Departemen/Instalasi Patologi Klinik FK Unair/RSUD Dr. Soetomo.

Jumlah sampel penelitian dibagi dalam dua (2) kelompok, yaitu yang pertama terdiri dari pasien infeksi virus dengue dengan salah satu hasil (+) uji serologis dengue (NSI/IgM/IgG) dan yang kedua adalah pengidap infeksi nonvirus dengue dengan hasil NSI/IgM/IgG negatif dan secara laboratoris terbukti infeksi nonvirus dengue, yang menjalani rawat inap di Ruang Tropik Infeksi Penyakit Dalam RSUD Dr. Soetomo Surabaya (lihat Gambar 2). Sampel dipilih secara berurutan dengan jumlah setiap kelompok 37 buah.<sup>47</sup> Pasien diabetes melitus, otoimun, HIV AIDS, imunodefisiensi lain, Hepatitis B dan C, kelainan hematologis, gagal ginjal kronis, gagal jantung dan hati, sirosis hepatis dan keganasan tidak masuk sebagai sampel penelitian.

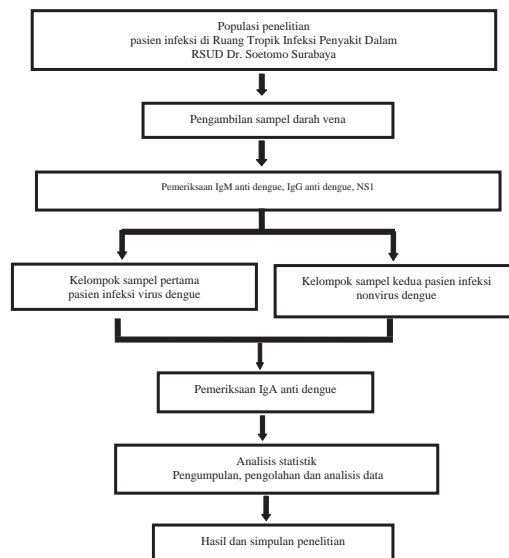
Pemeriksaan anti dengue IgA menggunakan metode imunokromatografi. Antibodi yang berada di sampel (serum, plasma atau darah lengkap) dan antigen berupa virus dengue yang dilekatkan di membran nitroselulosa membentuk kompleks antigen-antibodi. Ikatan tersebut dideteksi dengan *goat anti-human IgA gold conjugate* dan memberikan warna merah muda keunguan. Garis pengendali berisi protein L yang akan menangkap sampel anti dengue IgA dan berikatan dengan *anti-human IgA gold conjugate*. garis pengendali yang timbul merupakan tanda perangkat anti dengue IgA masih cermat. Perangkat anti dengue IgA yang dipakai adalah *Assure® Dengue IgA Rapid Test (MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd)*. Sampel pada penelitian ini menggunakan 25 µL serum.<sup>48</sup>

Hasil memeriksa anti dengue IgA dapat dilihat di intensitas warna yang timbul di garis uji (T) dibandingkan dengan ukuran intensitas yang tersedia di perangkat tersebut. Ukuran dinyatakan positif jika intensitas warna uji  $\geq 0,2$  sampai 3,0. Ukuran dinyatakan positif jika intensitas warna uji  $\geq 0,2$  (lihat Gambar 1).<sup>48</sup> Hasil ditafsirkan oleh tiga orang secara mandiri dan diabsahkan oleh pengawas. Pemeriksaan anti dengue IgM menggunakan metode ELISA dengan hasil memeriksa berupa nilai kuantitatif dan dinyatakan positif bila nilai indeks  $> 1,1$ . Pemeriksaan anti dengue IgG menggunakan metode ELISA dan dinyatakan positif bila nilai indeks  $> 2,2$ . Pemeriksaan antigen NS1 menggunakan metode ELISA dengan hasil positif bila nilai indeks  $> 1,1$ .

Pengumpulan data dilakukan dengan Lembar Pengumpulan Data (LPD) (data tidak ditampilkan). Data yang terkumpul diolah dan disajikan dalam bentuk tabel, diagram atau grafik. Nilai diagnostik IgA anti dengue di infeksi virus dengue dibandingkan dengan patokan WHO 1997 dan salah satu uji serologis dengue positif (anti dengue IgM/IgG/NS1) sebagai bakuan emas. Kepekaan, kekhasan, nilai ramal negatif dan positif, angka banding kemungkinan positif dan yang negatif anti dengue IgA dianalisis menggunakan tabel 2x2 dengan selang kepercayaan 95%. Nilai *cut off* anti dengue IgA di infeksi virus dengue ditentukan dengan kurva *Receiver Operating Characterized (ROC)*. Kesesuaian anti dengue IgA dengan IgM, anti dengue IgG dan NS1 diuji dengan *Chi-Square* (uji kepastian *Fisher*). Alur penelitian dapat dilihat di Gambar 1.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penjaminan mutu periksaan laboratorik penting dilakukan untuk menghasilkan pemeriksaan yang terpercaya dan absah. Penjaminan mutu periksaan anti dengue IgA metode imunokromatografi dilakukan dengan mengawasi keberadaan garis biru sebelum



**Gambar 1.** Alur penelitian

garis diperiksa dan muncul di garis pengendali saat pemeriksaan. Penafsiran dilakukan tiga (3) orang secara *blinded* dan dihitung nilai *kappanya*. Garis biru dan yang di garis pengendali pada penelitian ini tampak di semua periksaan dengan nilai *kappa* sebesar 0,85.

## Ciri Sampel

Jenis infeksi virus dengue yang paling banyak pada penelitian ini adalah yang sekunder. Berdasarkan angka banding anti dengue IgM/IgG menurut WHO, kekerapan infeksi virus dengue sekunder sebesar 73% dibandingkan dengan yang primer hanya 27% (lihat Tabel 1).

Berdasarkan periksaan anti dengue IgM dan IgG menggunakan metode ELISA di infeksi virus dengue sekunder, hasil serologis IgM dan anti dengue IgG positif lebih tinggi dibandingkan dengan yang hanya IgG setingkat. Untuk infeksi virus dengue primer, hanya 10,8% yang menunjukkan hasil serologis IgM anti dengue positif (lihat Tabel 2).

**Tabel 1.** Kekerapan jenis infeksi virus dengue berdasarkan angka banding anti dengue IgM/IgG

| Jenis infeksi virus dengue    | Jumlah (n=37) | Persentase (%) |
|-------------------------------|---------------|----------------|
| Infeksi primer                |               |                |
| Angka banding IgM/IgG $> 1,2$ | 10            | 27             |
| Infeksi sekunder              |               |                |
| Angka banding IgM/IgG $< 1,2$ | 27            | 73             |

**Tabel 2.** Kecepatan jenis infeksi virus dengue berdasarkan hasil anti dengue IgM dan IgG

| Jenis infeksi virus dengue | Jumlah (n=37) | Persentase (%) |
|----------------------------|---------------|----------------|
| Infeksi primer (n=4)       |               |                |
| IgM (+), IgG (-)           | 4             | 10,8           |
| Infeksi sekunder (n= 33)   |               |                |
| IgM (+), IgG (+)           | 24            | 64,9           |
| IgM (-), IgG (+)           | 9             | 24,3           |
| Jumlah keseluruhan         | 33            | 89,2           |

Infeksi virus dengue primer berdasarkan angka banding anti dengue IgM/IgG menurut WHO dengan nilai > 1,2 pada penelitian ini sebesar 27% (10/37) dibandingkan dengan bila digolongkan menurut hasil positif anti dengue IgM dan atau IgG yaitu hanya 10,8% (4/37). Infeksi virus dengue sekunder menurut angka banding didapatkan kecepatan sebesar 72% (27/37) dibandingkan dengan sebesar 82,9% (33/37) bila menggunakan hasil serologis. Penggunaan dua (2) golongan tersebut menjadikan perbedaan hasil. Namun, bila dikaitkan antara jenis infeksi dan kecepatan derajat infeksi virus dengue, golongan berdasarkan angka banding lebih sesuai, yaitu jumlah pasien DD sebanyak 11 dan jumlah keseluruhan DBD adalah 26. Penggunaan angka banding IgM/IgG anti dengue dimungkinkan bila menggunakan pemeriksaan anti dengue IgM dan IgG secara kuantitatif dengan metode ELISA. Metode imunokromatografi tidak dapat digunakan untuk menentukan angka banding anti dengue IgM/IgG. Berdasarkan hal tersebut penggunaan angka banding sangat bermanfaat dan lebih dianjurkan untuk pasien infeksi virus dengue yang khusus menjalani rawat inap, sedangkan metode imunokromatografi dapat digunakan di pasien rawat jalan atau dalam kondisi kegawatdaruratan.

Tujuh (7) pasien infeksi nonvirus dengue memberikan hasil yang positif dengan pemeriksaan anti dengue IgA. Pasien pneumonia, infeksi saluran kemih dan leptospirosis pada penelitian ini tidak ada yang memberikan hasil positif dengan anti dengue IgA (lihat Tabel 3).

**Tabel 3.** Ciri kelompok sampel pasien infeksi nonvirus dengue

| Ciri sampel           | Jumlah Sampel (n = 37) (%) | Jumlah positif IgA anti dengue n (%) |
|-----------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Malaria               | 4 (10,8)                   | 3 (75)                               |
| Demam tifoid          | 8 (21,6)                   | 2 (25)                               |
| Hepatitis A           | 7 (18,9)                   | 2 (28,6)                             |
| Leptospirosis         | 2 (5,5)                    | 0                                    |
| Pneumonia             | 8 (21,6)                   | 0                                    |
| Infeksi saluran kemih | 8 (21,6)                   | 0                                    |

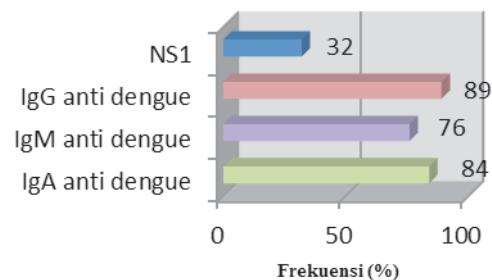
Pasien infeksi nonvirus dengue yang didapatkan adalah pasien: malaria, demam tifoid, hepatitis A, leptospirosis, pneumonia dan infeksi saluran kemih. Hasil anti dengue IgA yang positif terjadi di malaria, demam tifoid dan hepatitis A. Hal ini dapat disebabkan karena sifat kemampuan tinggi membran nitroselulosa pada pemeriksaan dengan imunokromatografi, sehingga lebih mudah menimbulkan reaksi silang dengan infeksi nondengue atau kemungkinan ada kesamaan epitop.<sup>34,49</sup> Hasil positif palsu dengan cara ini sangat dianjurkan untuk dilanjutkan dengan pemeriksaan menggunakan metode ELISA.

### Ciri hasil anti dengue IgA, IgM dan IgG serta NS1 di infeksi virus dengue

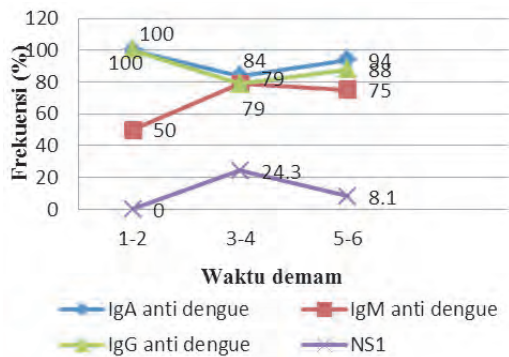
Berdasarkan diagram di Gambar 2 dapat dilihat kecepatan IgA anti dengue dengan hasil positif hampir sama banyak dengan kecepatan IgG anti dengue positif dibandingkan dengan IgM anti dengue yang positif. Kecepatan NS1 yang positif paling kecil yaitu sebesar 32%.

Kecepatan hasil anti dengue IgA yang positif lebih tinggi dibandingkan dengan NS1 dan yang IgM. Indonesia sebagai negara endemis dengue, berbagai serotipe virus dengue tersebar dan beredar dari DEN-1 sampai DEN-4 mengakibatkan infeksi virus dengue sekunder tinggi. Jenis infeksi yang terbanyak pada penelitian ini juga adalah yang infeksi virus dengue sekunder. Infeksi virus dengue sekunder akan merangsang mekanisme perubahan dan sistem imun tubuh untuk menghasilkan IgA dalam kadar yang tinggi melalui sero konversi cepat memori sel yang berasal dari infeksi yang lampau.<sup>34,50</sup>

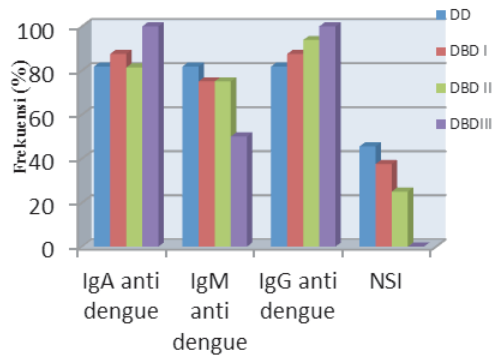
Gambar 3 menunjukkan kecepatan anti dengue IgA positif lebih besar dibandingkan dengan yang IgM kedudukan yang sama dan NS1 positif berdasarkan lama hari demam. Kecepatan hasil yang positif di awal hari demam sebesar 100% dibandingkan dengan anti dengue IgM yang hanya 50% dan NS1 dengan tidak ada hasil yang positif. Pada hari ke 3–4 antara anti dengue IgA dan IgM sama banyaknya, sedangkan NS1 tetap lebih rendah dan pada hari ke 5–6 hasil anti



**Gambar 2.** Kecepatan IgA anti dengue, IgM anti dengue, IgG anti dengue dan NS1 pada infeksi virus dengue



**Gambar 3.** Kecepatan anti dengue IgA, IgM dan IgG serta NS1 di infeksi virus dengue berdasarkan lama hari demam



**Gambar 4.** Kecepatan anti dengue IgA, IgM dan IgG serta NS1 di infeksi virus dengue berdasarkan derajat penyakit terkait

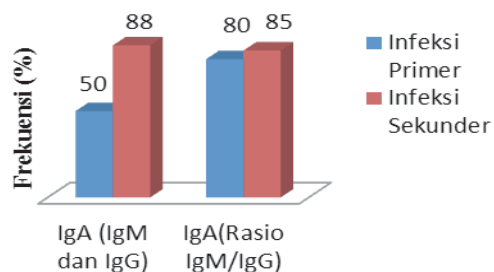
dengue IgA yang positif lebih tinggi dibandingkan dengan yang IgM dan NS1.

Kecepatan anti dengue IgA positif pada awal hari demam sampai hari keenam lebih tinggi dibandingkan dengan NS1 dan IgM. Hal ini dapat disebabkan karena sampel pada penelitian ini sebagian besar termasuk jenis infeksi virus dengue sekunder. Menurut pola serologik di infeksi virus dengue sekunder keberadaan IgA lebih besar pada awal hari demam sampai hari ke-7, sedangkan anti dengue IgM mulai terdeteksi pada hari ke-5, tetapi beberapa kasus baru muncul hingga hari ke-20 bahkan  $\pm$  30% kasus tidak terdeteksi.<sup>18,36-39</sup>

Infeksi virus dengue primer menunjukkan hal yang berbeda anti dengue IgA dan yang IgM menggambarkan pola serologik yang hampir sama. Namun, keberadaan anti dengue IgA di dalam edaran darah lebih singkat dibandingkan dengan yang IgM.<sup>36,37,39</sup> Anti dengue IgM dapat tetap positif sampai hari ke-90, sedangkan anti dengue IgA sampai hari ke-45.<sup>38</sup> Di daerah endemik keberadaan anti dengue IgM yang lama dapat menyebabkan hasil positif palsu yang tinggi.<sup>31,33</sup>

Anti dengue IgA yang timbul pada awal hari demam mungkin disebabkan oleh keterlibatan *Mucosa Associated Lymphoid Tissues* (MALT). Virus dengue bermultiplikasi di sel *Antigen Presenting Cells* (APC) dan merangsang sel imun lokal untuk mengaktifasi sel plasma menghasilkan IgA anti dengue yang akan masuk ke edaran darah melalui *High Endothelial Venules* (HEV).<sup>39</sup> Pasien infeksi virus dengue sebagian besar mengalami ketidaknyamanan lambung dan usus seperti: mual, muntah dan diare. Hal ini menunjukkan ada keterlibatan *Gut Associated Lymphoid Tissues* (GALT) pula.<sup>48</sup>

Gambar 4 menunjukkan kecepatan anti dengue IgA yang positif di DD dan DBD lebih tinggi dibandingkan dengan anti dengue IgM dan NS1, tetapi hampir sama banyak dengan anti dengue IgG.



**Gambar 5.** Kecepatan anti dengue IgA berdasarkan jenis infeksi virus dengue

Kecepatan anti dengue IgA yang positif di DD dan DBD lebih tinggi dibandingkan dengan anti dengue IgM dan NS1 serta berpola hasil yang hampir sama banyak dengan anti dengue IgG. Kesamaan hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh mekanisme perubahan di infeksi virus dengue sekunder.<sup>50</sup>

Berdasarkan Gambar 5 kecepatan anti dengue IgA positif lebih rendah daripada infeksi virus dengue primer dibandingkan dengan yang sekunder, menggunakan angka banding anti dengue IgM/ IgG maupun hasil yang IgM dan IgG.

Kecepatan anti dengue IgA positif lebih rendah di infeksi virus dengue primer dibandingkan dengan infeksi virus dengue sekunder, berangka-banding anti dengue IgM/IgG maupun hasil masing-masing (anti dengue IgM dan IgG). Kadar anti dengue IgG dan IgA lebih besar daripada di infeksi virus dengue sekunder dibandingkan dengan yang IgM dan mendapatkan 92,8% anti dengue IgA positif di infeksi virus dengue sekunder dibandingkan dengan yang di primer sebesar 77,4%.<sup>31</sup>

Hal ini dapat disebabkan karena ada sel memori IgA yang terbentuk, sebab infeksi virus dengue NS1. *Tan et al*<sup>31</sup> dalam telitian yang dilakukannya sebelumnya dan perubahan IgM menjadi IgG dan IgA di penyakit infeksi virus dengue sekunder.<sup>34,50</sup>

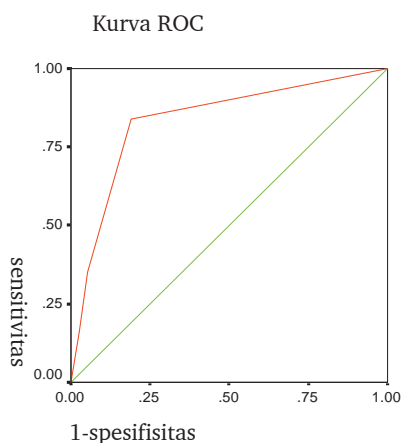
Kadar anti dengue IgA dan IgG yang tinggi menyebabkan kekerapan peluang untuk menimbulkan hasil positif pada pemeriksaan menjadi lebih besar. Nawa *et al*<sup>36</sup> mendapatkan respons anti dengue IgA lebih tinggi di infeksi virus dengue sekunder daripada yang primer.<sup>39-42,44</sup>

### Nilai diagnostik anti dengue IgA di infeksi virus dengue

Nilai diagnostik anti dengue IgA menunjukkan kepekaan dan kekhasan diagnostik 83,8% dan 81,1%. Angka banding kemungkinan positif sebesar 4,4 kali dan yang negatif hanya 0,2 kali.

Kepekaan dan kekhasan diagnostik, nilai ramal positif dan yang negatif anti dengue IgA termasuk peringkat yang baik dengan hasil > 80%. Kepekaan diagnostik anti dengue IgA sebesar 83,8% (67,3-93,2 selang kepercayaan 95%), kekhasan diagnostik 81,1% (64,3-91,4 selang kepercayaan 95%), nilai ramal positif 81,6% (65,1-91,7 selang kepercayaan 95%) dan yang negatif sebesar 83,3% (66,5-93,0 CI 95%). Hasil ini hampir sama dengan yang didapatkan Tan *et al*<sup>31</sup> dengan kepekaan diagnostik anti dengue IgA 92,86% di infeksi virus dengue sekunder, sebesar 77,42% di infeksi virus dengue primer dan 86,70% seluruh jumlah penyakit terkait (infeksi virus dengue).<sup>31</sup> Balmaseda *et al* melaporkan terdapat hasil yang berbeda dengan kepekaan diagnostik anti dengue IgA sebesar 69,4% dan kekhasan diagnostik 93,3%.<sup>39</sup> Hal tersebut dapat terjadi karena sampel yang didapatkan di telitian oleh Balmaseda sebagian besar adalah pasien infeksi virus dengue primer.<sup>46</sup>

*Cut off* anti dengue IgA berdasarkan Gambar 6 yang paling baik kepekaan dan kekhasannya adalah 0,2 dengan nilai 83,8% dan 81,1% berturut-turut. Daerah bawah lengkung anti dengue IgA sebesar 83,5%.



**Gambar 6.** Nilai *cut off* anti dengue IgA di infeksi virus dengue

Daerah bawah lengkung yang dihasilkan kurva ROC adalah sebesar 83,5% dan termasuk peringkat yang baik berdasarkan tingkatan AUC menurut NESUG 2010. Patokan NESUG 2010 menunjukkan bila AUC > 0,9-1,0 adalah termasuk peringkat sangat baik, yang (AUC) > 0,8-0,9 baik, > 0,7-0,8 kurang baik dan AUC > 0,6-0,7 termasuk yang tidak baik.<sup>51</sup>

Kurva ROC menunjukkan *cut off* 0,2 menghasilkan kepekaan dan kekhasan diagnostik yang paling baik yaitu sebesar 83,8% dan 81,1%. Indonesia sebagai salah satu negara endemis infeksi virus dengue memerlukan alat diagnostik dengan kepekaan dan kepekaan yang tinggi. Nilai *cut off* 0,2 dapat dikatakan terbaik untuk membedakan pasien infeksi virus dengue dan nonvirus dengue.

### Kesesuaian hasil anti dengue IgA dengan yang IgM dan IgG serta NSI di infeksi virus dengue

Kesesuaian hasil antara IgA anti dengue dan yang IgM sebesar 70,2%. Menggunakan uji *Chi-Square* (uji kepastian *Fisher*) dengan tingkat kesalahan 5% diperoleh nilai kemaknaan 0,62, yang berarti tidak ada perbedaan hasil anti dengue IgA dengan IgM.

Kesesuaian hasil antara anti dengue IgA dan IgG 83,8%. Menggunakan uji *Chi-Square* (uji kepastian *Fisher*) dengan tingkat kesalahan 5% diperoleh nilai kemaknaan 0,115, yang berarti tidak ada perbedaan hasil anti dengue IgA dengan yang IgG.

Kesesuaian hasil anti dengue IgA dan NSI 43,2%. Menggunakan uji *Chi-Square* (uji kepastian *Fisher*) dengan tingkat kesalahan 5% diperoleh nilai kemaknaan 0,64. Hal tersebut berarti tidak ada perbedaan hasil anti dengue IgA dengan NSI.

Kesesuaian hasil yang baik ditunjukkan antara anti dengue IgA, IgG dan IgM. Namun bila dianalisis dengan koefisien gabungan ketiganya tidak menunjukkan perbedaan. Hal ini dapat dianggap bahwa ketiga pemeriksaan tersebut dapat saling menggantikan, tetapi perlu diteliti lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan komposisi jenis infeksi virus dengue yang sebanding.

Penentuan pemilihan alat diagnostik dapat ditinjau dari nilai kepekaannya, kekhasan, nilai ramal positif dan negatifnya.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah karena hanya menggunakan anti dengue IgA metode imunokromatografi dengan hasil semikuantitatif dan pengambilan sampel hanya dilakukan satu kali yaitu pada saat penyakit tingkat akut, sedangkan pada tahap pemulihan tidak diperiksa.

## SIMPULAN DAN SARAN

Ciri hasil anti dengue IgA yaitu terdapat kekerapan hasilnya yang positif (84%) lebih tinggi dibandingkan dengan anti dengue IgM (76%) dan NS1 (32%), kekerapan anti dengue IgA positif di awal hari demam, yaitu hari yang antara ke 1–2 lebih besar (100%) dibandingkan dengan anti dengue IgM (50%) dan NS1 (0%), kekerapan hasil positif anti dengue IgA tinggi pada setiap derajat infeksi virus dengue, kekerapan anti dengue IgA positif lebih banyak terjadi di infeksi virus dengue sekunder dibandingkan primer.

Nilai diagnostik anti dengue IgA untuk mendiagnosis infeksi virus dengue termasuk peringkat baik berdasarkan patokan NESUG 2010 dengan AUC 83,5%. Kepekaan diagnostik anti dengue IgA sebesar 83,8% (67,3-93,2 selang kepercayaan 95%), kekhasan diagnostik 81,1% (64,3-91,4 selang kepercayaan 95%), nilai ramal positif 81,6 (65,1-91,7 selang kepercayaan 95%), nilai ramal negatif 83,3% (66,5-93,0 selang kepercayaan 95%), angka banding kemungkinan positif 4,4(2,2-8,8 selang kepercayaan 95%) dan yang kemungkinan negatif 0,2(0,09-0,42 selang kepercayaan 95%). Nilai *cut off* anti dengue IgA yang memberikan hasil kepekaan dan kekhasan paling baik adalah 0,2. Kesesuaian hasil anti dengue IgA dengan yang IgM maupun yang IgG baik yaitu 70,2% dan 83,8% berturut-turut dengan koefisien gabungan 0,62 dan 0,115.

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada penelitian ini, maka dianjurkan pemeriksaan anti dengue IgA secara kuantitatif menggunakan metode ELISA untuk dapat mengetahui *cut off* dengan tepat dan dapat menghitung angka banding anti dengue IgA terhadap yang IgM atau yang IgG. Pemeriksaan anti dengue IgA sebaiknya dilakukan pada tahap akut dan pemulihan untuk mendapatkan kinetika (pola serologis) anti dengue IgA dikaitkan dengan derajat keparahan dan jenis infeksi virus dengue.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada PT. Diastika atas dukungannya dalam penyediaan perangkat anti dengue IgA metode imunokromatografi dan dr. Yolanda Probahoosodo, SpPK(K) untuk pengulasan isi abstrak dalam bahasa Inggris.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Aryati, Wardhani P, Yohan B, Aksono EB, Sasmono RT. Distribusi serotipe dengue di Surabaya tahun 2012. Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory (IJCP &ML) 2012; 19 (1): 41–4.
2. Balmaseda A, Standish K, Mercado JC, Matuta JC, Tellez Y, Saberfe S, et al. Trends in patterns of dengue transmission over 4 years in a pediatric cohort study in Nicaragua. Nicaraguan Pediatric Dengue Cohort Study 2010; 201: 5–13.
3. Porter KR, Beckett CG, Kosasih H, Tan RI, Alisjahbana B, Budiman PIF, et al. Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever in a cohort of adults living in Bandung, West Java, Indonesia. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene 2005; 72 (1): 60–6.
4. World Health Organization. Comprehensive guidelines for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever. New Delhi, World Health Organization Regional Office for South-East Asia, 2011; 1.
5. Profil Data Kesehatan Indonesia tahun 2011. Jakarta, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2012; 109.
6. Ong SW. Molecular epidemiology of dengue viruses from complete genome sequences. Disertasi, Basel, 2010; 2.
7. World Health Organization. Guidelines for treatment of dengue fever/dengue haemorrhagic fever in small hospitals. New Delhi, World Health Organization Regional Office for South-East Asia, 1999; 1.
8. Soegijanto S. Bahaya yang mengintai endemisitas DBD di Indonesia. Dalam: Soegijanto S, editor. Demam berdarah dengue. Ed kedua., Surabaya, Airlangga University Press, 2006; 25–41.
9. Libraty DH, Endy TP, Hough HS, Green S, Kalayanarooj S, Suntayakorn S, et al. Differing influences of virus burden and immune activation on disease severity in secondary Dengue-3 Virus infections. The Journal of Infectious Disease Society of America 2002; 185 (1): 1213-21.
10. Simmons CP, Farrar JJ, Chau NV, Wills B. Current concepts dengue. The New England Journal of Medicine 2012; 366 (15): 1423–30.
11. Smith AW, Schwartz E. Current concepts dengue in travelers. The New England Journal of Medicine 2005; 353 (9): 924–31.
12. Shu PY, Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 2004; 11 (4): 642–8.
13. Guerdan BR. Dengue fever/dengue hemorrhagic fever. American Journal of Clinical Medicine 2010; 7 (2): 51–3.
14. Henchal EA, Putnak JR. The dengue viruses. Clinical Microbiology Reviews 1990; 3 (4): 376–96.
15. Malavige GN, Fernando S, Fernando DJ, Seneviratne. Dengue viral infections. Postgrad Medicine 2004; 80 (1): 588–601.
16. Siregar AR, Wibawa T, Wijayanti N. Early detection and serotyping of dengue viruses by using reverse transcription polymerase chain reaction (RT PCR) 2 primers. Indonesian Journal of Biotechnology 2011; 16 (2): 71–5.
17. Suwanwong Y, Moungkote T, Wiwanitkit V, Soogarun S. Detection of dengue viruses by simple RT PCR using universal degenerate primers observation from a preliminary study. Archives of Hellenic Medicine 2010; 27 (5): 818–21.
18. Suhendro, Nainggolan L, Chen K, Pohan HT. Demam berdarah dengue. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Setiati S, editor. Ilmu Penyakit Dalam. Ed IV., Jakarta, Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas UI, 2006; 1709–13.
19. Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, et al. High circulating levels of dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. The Journal of Infectious Disease 2002; 186 (10): 1165–8.
20. Chaterji S, Allien JC, Chow A, Leo YS, Ooi EE. Evaluation of the NS1 rapid test and the WHO dengue classification schemes for use as bedside diagnosis of acute dengue fever in adults. American Journal of Tropical Medicine Hygiene 2011; 84 (2): 224–8.
21. Sekaran SD, Ew CL, Subramaniam G, Kanthesh BM. Sensitivity of dengue virus NS1 detection in primary and secondary

- infections. *African Journal of Microbiology Research* 2009; 3 (3): 105–20.
22. Lai YL, Chung YK, Tan HC, Yap HF, Yap G, Ooi EE, et al. Cost effective real time reverse transcriptase PCR (RT-PCR) to screen for dengue virus followed by rapid single tube multiplex RT-PCR for serotyping of the virus. *Journal of Clinical Microbiology* 2007; 45 (1): 935–40.
  23. Sangasang A, Wibulwattanakij S, Chanama S, Orapinpatipat A, Anuegoonpipat A, Anantapreecha S, et al. Evaluation of RT-PCR as a tool for diagnosis of secondary dengue virus infection. *Japan Journal Infectious Disease* 2003; 56 (11): 205–9.
  24. Peeling RW, Artsob H, Pelegrino JL, Buchy P, Cardoso MJ, Devi S, et al. Evaluation of diagnostic tests: Dengue. *Nature Reviews Microbiology* 2010; 8: 530–7.
  25. Laue T, Emmerich P, Schmitz H. Detecton of dengue virus RNA in patients after primary or secondary dengue infections by using the Taqman automated amplification system. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37 (8): 2543–7.
  26. Lemmer K, Mantke OD, Bae HG, Groen J, Drosten C, Niedrig M. External quality control assessment in PCR diagnostics of dengue virus infections. *Journal of Clinical Virology* 2004; 30 (11): 291–6.
  27. Soegijanto S, Sustini F, Wirahjanto A. Epidemiologi demam berdarah dengue. Dalam: Soegijanto, editor. *Demam berdarah dengue*. Ed kedua., Surabaya, Airlangga University Press, 2006; 1–10.
  28. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, Huang JX, et al. The diagnostic sensitivity of dengue rapid test assays is significantly enhanced by using a combined antigen and antibody testing approach. *PLOS Neglected Tropical Disease* 2011; 5 (6): 1–7.
  29. Gore MM. Need for constant monitoring of dengue infections. *Indian Journal Medicine Research* 2005; 121 (1): 9–12.
  30. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *The Journal of Infectious Diseases* 1997; 176 (8): 322–30.
  31. Tan YY, Sekaran SD, Wang SM, Ahmed F, Hossain A, Sil BK. Development of ASSURE dengue IgA rapid test for the detection of anti dengue IgA from dengue infected patients. *Journal of Global Infectious Diseases* 2011; 3 (3): 233–40.
  32. Depaula SO, Defonseca BAL. Dengue; a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2004; 8 (6): 390–6.
  33. Blacksell SD. Commercial dengue rapid diagnostic test for point of care application: recent evaluations and future needs?. *Journal of Biomedical and Biotechnology* 2012; 2012 (2): 1–12.
  34. Aryati. *Demam berdarah dengue (tinjauan laboratoris)*. Jilid 1. Surabaya, Global Persada Press, 2011; 9–23.
  35. Yap G, Sil BK, Ng LC. Use of saliva for early dengue diagnosis. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2011; 5 (5): 1–6.
  36. Nawa M, Takasaki T, Ito M, Inoue S, Morita K, Kurane I. Immunoglobulin A antibody responses in dengue patients: a useful marker for serodiagnosis of dengue virus infection. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2005; 12 (10): 1235–7.
  37. Talarmin A, Labeau B, Lelarge J, Sarthou JL. Immunoglobulin A specific capture enzyme linked immunosorbent assay for diagnosis of dengue fever. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36 (5): 1189–92.
  38. Ng LC. Laboratory based dengue surveillance and risk stratification. WHO Collaborating Centre for Reference and Research of Arbovirus and their Associated Vectors. ppt. 2012
  39. Balmaseda A, Guzman MG, Hammond S, Robieto G, Flores C, Tellez Y, et al. Diagnosis of dengue virus infection by detection of specific immunoglobulin M (IgM) and IgA antibodies in serum and saliva. *Clinical and Vaccine Immunology* 2003; 10 (2): 317–22.
  40. Cordeiro M, Neto UB, Nogueira MR, Marques ETA. Reliable classifier to differentiate primary and secondary acute dengue infection based on IgG ELISA. *PLOS One* 2009; 4 (4): e4945.
  41. Cuzzubo AJ, Vaughn DW, Nisalak A, Suntayakorn SS, Aaskov J, Devine PL. Detection of specific antibodies in saliva during dengue infection. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36 (12): 3737–9.
  42. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *The Journal of Infectious Diseases* 2000; 181 (12): 2–9.
  43. Ibelgauts H. Isotype switching. *Cytokines & Cells Online Pafinder Encyclopedia*. [on line] 2013 [cited 2103 Apr 16]. Available from: URL: <http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?>
  44. Nawa M, Pan CY, Tsai WH, Chan CD, Machida S, Takasaki T, et al. Evaluation of Immunoglobulin a capture enzyme linked immunosorbent assay for serodiagnosis of dengue virus infection. *Dengue Bulletin* 2006; 30: 157–61.
  45. Ahmed F, Mursalin H, Alam MT, Amin R, Sekaran SD, Wang SM, et al. Evaluation of ASSURE dengue IgA rapid test using dengue positif and dengue negative samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2010; 68: 339–44.
  46. Balmaseda A, Saborio S, Tellez Y, Mercado JC, Perez L, Hammond SN, et al. Evaluation of immunological markers in serum, filter paper blood spots and saliva for dengue diagnosis and epidemiological studies. *Journal of Clinical Virology* 2008; 43 (7): 289–91.
  47. Lemeshow S, Hosmer DW. *Besar sampel dalam penelitian kesehatan*. Jogjakarta, Gadjahmada University Press; 1997; 1–264
  48. MP diagnostics ASSURE® Dengue IgA Rapid Test Instructions for Use MDV0011-2.
  49. Handojo I. *Pengantar imunoasai dasar*. Surabaya, Airlangga University Press, 2003; 122–5, 181–201.
  50. Ceruti A. The regulation of IgA class switching. *Natural Reviews Immunology* 2008; 8 (6): 421–34.
  51. Zhu W, Zeng N, Wang N. Sensitivity, specificity, accuracy, associated confidence interval and ROC analysis with practical SAS implementations. *Health Care and Life Sciences NESUG* 2010; 4.