

PEMERIKSAAN IMMUNOGLOBULIN M ANTI SALMONELLA DALAM DIAGNOSIS DEMAM TIFOID

I Kadek Septiawan, Sianny Herawati, I Wayan Putu Sutirta Yasa
Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar

ABSTRAK

Demam tifoid adalah suatu penyakit infeksi akut sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* yang dapat di temukan di seluruh dunia. Menurut data *World Health Organization (WHO)* tahun 2003, diperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun. Penegakan diagnosis demam tifoid dilakukan secara klinis dan melalui pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium dapat berupa pemeriksaan darah tepi, uji serologis, dan kultur atau biakan. Pemeriksaan Immunoglobulin M (IgM) anti *Salmonella* (tes TUBEX[®]) merupakan salah satu dari uji serologis baru yang lebih cepat dan akurat dalam mendiagnosis demam tifoid. Pemeriksaan ini merupakan tes aglutinasi kompetitif semi kuantitatif yang sederhana, cepat dan akurat dalam diagnosis infeksi akut demam tifoid karena hanya mendeteksi adanya antibodi IgM Anti-*Salmonella* dalam waktu beberapa menit.

Kata Kunci: Demam tifoid, pemeriksaan IgM anti *Salmonella*

EXAMINATION OF THE IMMUNOGLOBULIN M ANTI SALMONELLA IN DIAGNOSIS OF THYPOID FEVER

I Kadek Septiawan, Sianny Herawati, I Wayan Putu Sutirta Yasa
Departement of Clinical Pathology, Medical School, Udayana University/Sanglah Hospital Denpasar

ABSTRACT

Typhoid fever is an acute systemic infectious disease caused by *Salmonella typhi*, that can be found all over the world. According to the world health organization (WHO) 2003, is predicted there are about 17 million cases of typhoid fever in the entire world with incidence 600,000 cases of deaths every year. The diagnosis of typhoid fever is done clinically and by laboratory examination. Laboratory examination can be an examination of the blood test, serological test, and culture. Examination of the IgM anti *Salmonella* (TUBEX[®] test) is one of the new serological test which more quickly and accurately in diagnose typhoid fever. This examination is competitive agglutination test, semi quantitative, simple, quick and very accurate in the diagnosis acute infection of typhoid fever as it only detects the antibodies IgM Anti-*Salmonella* in a few minutes.

Keyword: typhoid fever, examination of the IgM anti *Salmonella*

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan suatu penyakit infeksi akut sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang masih dijumpai secara luas di berbagai negara berkembang terutama di daerah tropis dan subtropis. Penyakit ini juga merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar higiene industri pengolahan makanan yang masih rendah.¹

Demam tifoid merupakan masalah kesehatan yang global. Besarnya angka pasti kasus demam tifoid di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini mempunyai gejala klinis yang membingungkan dengan penyakit demam infeksi yang lainnya. Menurut data WHO tahun 2003, diprediksikan sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan angka insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun.² Di Indonesia kasus demam tifoid masih merupakan penyakit endemik.^{3,4} Penyakit ini jarang ditemukan secara epidemik, lebih bersifat sporadik yang terpencar-pencar di suatu daerah.⁴ Frekuensi kejadian demam tifoid di Indonesia pada tahun 1990 sebesar 9,2 dan pada tahun 1994 terjadi peningkatan menjadi 15,4 per 10.000 penduduk. Insiden demam tifoid di Indonesia bervariasi di tiap daerah dan biasanya terkait dengan sanitasi lingkungan. Pada daerah pedesaan (Jawa Barat) insidennya sekitar 157 kasus per 100.000 penduduk, sedangkan di daerah perkotaan ditemukan 760-810 kasus per 100.000 penduduk per tahun.³ Umur penderita yang terkena di Indonesia dilaporkan antara 3-19 tahun pada 91% kasus demam tifoid.^{1,2}

Penegakan diagnosis demam tifoid saat ini dilakukan secara klinis dan melalui pemeriksaan laboratorium.^{1,3} Gejala-gejala klinis yang timbul sangat bervariasi dari ringan sampai berat dan ada yang disertai dengan komplikasi. Pada minggu pertama, keluhan dan gejala serupa dengan penyakit infeksi akut pada umumnya, yaitu demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi dan atau diare, perasaan tidak enak di perut, batuk, dan epistaksis. Pada pemeriksaan fisik hanya didapatkan peningkatan suhu badan. Dalam minggu kedua gejala-gejala menjadi lebih jelas berupa demam, bradikardi relatif, lidah tifoid (kotor di tengah, tepi dan ujung merah serta tremor), hepatomegali, splenomegali, gangguan kesadaran berupa somnolen, stupor, koma, delirium, atau psikosis.^{3,4}

Pemeriksaan laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dapat berupa pemeriksaan darah tepi, uji serologis, dan kultur atau biakan. Uji serologis digunakan

untuk membantu menegakkan diagnosis demam tifoid dengan mendeteksi antibodi spesifik terhadap komponen antigen *Salmonella typhi* maupun mendeteksi antigen itu sendiri. Beberapa uji serologis yang dapat digunakan pada demam tifoid ini meliputi uji Widal, tes TUBEX[®], metode *enzyme immunoassay* (EIA), metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), dan pemeriksaan dipstik.^{1,2}

Penegakan diagnosis demam tifoid harus dilakukan dengan cepat dan akurat agar penanganannya menjadi lebih efektif.⁵ Diagnosis pasti demam tifoid ditegakkan bila ditemukan bakteri *Salmonella typhi* dalam biakan darah, urin, feses, atau sumsum tulang. Masalahnya pemeriksaan kultur memerlukan tenaga yang banyak dan waktu yang lama.⁶ Uji serologis sekarang rutin dan luas digunakan dalam mendiagnosis demam tifoid sejak diperkenalkannya uji widal pada tahun 1896. Uji widal masih menjadi uji serologis rutin di berbagai daerah endemik, namun uji ini memiliki banyak kelemahan seperti rendahnya sensitivitas dan spesifisitas serta manfaatnya masih diperdebatkan dan sulit dijadikan pegangan karena belum ada kesepakatan akan nilai standar aglutinasi (*cut-off point*).^{1,5,6} Akhir-akhir ini sudah banyak ditemukan uji-uji serologis baru yang lebih cepat dan akurat dalam mendiagnosis demam tifoid. Pemeriksaan IgM anti *Salmonella* (tes TUBEX[®]) merupakan salah satu dari uji serologis tersebut yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik daripada uji Widal. Tes ini dapat menjadi pemeriksaan yang ideal dan dapat digunakan untuk pemeriksaan secara rutin karena cepat, lebih akurat, mudah dan sederhana.^{1,6,7}

PEMERIKSAAN IgM ANTI SALMONELLA

Banyak cara pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan untuk menegakkan diagnosis demam tifoid. Salah satu cara dalam penegakan diagnosis demam tifoid adalah pemeriksaan IgM Anti *Salmonella*. Pada jurnal ini akan dibahas tentang tes TUBEX[®] yang merupakan nama produk dari pemeriksaan IgM Anti *Salmonella*. Tes TUBEX[®] merupakan tes aglutinasi kompetitif semi kuantitatif yang sederhana, cepat (kurang lebih 5 menit) dan sangat akurat dalam diagnosis infeksi akut demam tifoid karena hanya mendeteksi adanya antibodi IgM Anti-*Salmonella* dan tidak mendeteksi antibodi IgG dalam waktu beberapa menit.^{1,2,8} Tes TUBEX[®] yang diproduksi oleh IDL *Biotech, Sollentuna, Sweden* mengeksplorasi kemudahan dan kepraktisan seperti uji widal tetapi tes ini menggunakan partikel yang berwarna untuk meningkatkan sensitivitas.^{1,5,6} Spesifisitas ditingkatkan dengan menggunakan antigen O9 yang benar-benar spesifik yang hanya ditemukan pada *Salmonella* serogrup D.^{1,2}

Sampel

Pemeriksaan IgM Anti *Salmonella* atau tes TUBEX[®] merupakan pemeriksaan serologis. Oleh karena itu sampel yang digunakan dalam pemeriksaan tersebut biasanya berupa serum. Serum diperoleh dari darah utuh yang dipisahkan setelah mengalami proses pemusingan. Serum disimpan pada suhu -20^oC sampai dilakukan analisis. Darah utuh diambil sebanyak 3 ml melalui *venapuncture* pada pasien yang dicurigai menderita demam tifoid.^{9,10}

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang diperlukan untuk pemeriksaan antara lain:

- a. Satu set tabung yang berbentuk V dengan model khusus yang dapat menampung enam sampel dalam satu set tabung tersebut
- b. TUBEX[®] *Color Scale* yang berisi skala warna sebagai panduan interpretasi hasil
- c. Mikropipet
- d. *Brown reagent* yang mengandung partikel-partikel magnetik yang dilapisi dengan antigen (*Salmonella Typhi O9 lipopolysaccharide[LPS]*)
- e. *Blue reagent* yang mengandung partikel-partikel indikator yang berwarna biru dilapisi dengan monoklonal antibodi (mAb) spesifik terhadap antigen *Salmonella Typhi O9 LPS*.^{2,6,8}

Prosedur Pemeriksaan

Prosedur pengujian antibodi dari tes ini sesuai dengan instruksi pabrikannya (*IDL Biotech*) yaitu sebagai berikut:

- a. Penetesan *Brown reagent* sebanyak 25 µl pada tabung reaksi yang berbentuk V dengan jumlah dalam satu set terdapat enam tabung V identik.
- b. Penetesan sampel serum yang di uji ke dalam tabung tersebut sebanyak 25 µl atau sekitar satu tetes.
- c. Pencampuran selama 2 menit.
- d. Penetesan *Blue reagent* sebanyak 50 µl atau dua tetes.
- e. Pencampuran selama 2 menit.
- f. Meletakkan campuran reaksi tersebut pada penyangga magnet yang sudah tersedia untuk memisahkan partikel indikator warna yang berikatan dengan partikel magnetik dari partikel-partikel indikator yang tidak berikatan.
- g. Pembacaan hasil.^{2,6,8}

Interpretasi Hasil

Pembacaan hasil tes TUBEX[®] berdasarkan atas warna yang terlihat setelah reaksi pencampuran tersebut. Rentang warna yang muncul bisa dari merah hingga biru tua. Pada penyangga magnet sudah tercantum skala warna sebagai panduan pembacaan hasil. Terdapat 0 sampai 10 skor, skor 0 menunjukkan semakin merah warna yang terlihat dan semakin negatif hasil yang didapat, sedangkan skor 10 menunjukkan semakin biru warna yang muncul dan semakin positif hasilnya (Gambar 1). Kalau di spesifikkan angkanya, skor 0-2 menunjukkan hasil yang negatif dan skor 3-10 menunjukkan hasil yang positif.^{2,6,8}

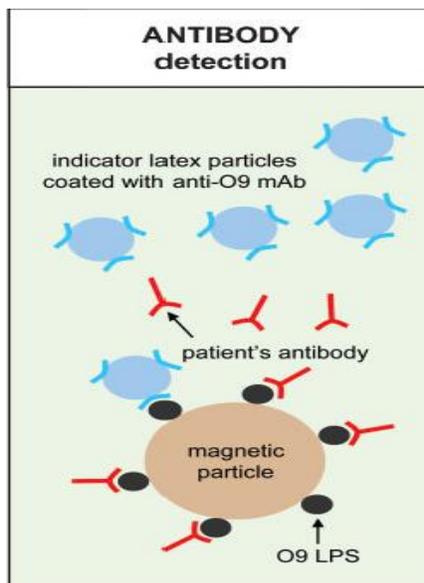
Tes TUBEX[®] mendeteksi adanya antibodi terhadap *Salmonella* O9 dari serum pasien dengan kemampuan dari antibodi tersebut untuk menghambat ikatan antara partikel indikator yang dilapisi monoklonal antibodi dengan partikel magnetik yang dilapisi antigen (*Salmonella Typhi* LPS) tersebut (Gambar 2).^{6,8}

Mungkin timbul pertanyaan mengapa pada tes ini muncul warna merah untuk hasil yang negatif dan biru untuk hasil yang positif. Dasar pemikirannya berdasarkan atas prinsip dari tes TUBEX[®] tersebut yaitu sebagai berikut. Jika seandainya serum sampel negatif terhadap antibodi *Salmonella* O9, partikel-partikel indikator yang dilapisi antibodi monoklonal akan berikatan dengan partikel-partikel magnetik yang dilapisi dengan antigen. Ketika diletakkan pada penyangga magnet, partikel-partikel magnetik mengendap pada bagian bawah tabung karena adanya reaksi magnetik antara partikel magnetik dengan penyangga magnet. Partikel-partikel indikator biru yang terikat dengan partikel magnetik juga ikut mengendap. Maka dari itu yang tersisa hanyalah warna merah yang merupakan latar belakang dari larutan tersebut. Latar belakang yang berwarna merah disebabkan karena adanya *microspheres* merah yang *inert*. Jika sebaliknya serum pasien mengandung antibodi *Salmonella* O9, antibodi tersebut akan berikatan dengan partikel magnetik dan mencegah partikel indikator berikatan dengan partikel magnetik. Partikel-partikel indikator biru yang tidak berikatan tersebut masih melayang-layang sehingga menimbulkan warna biru pada larutan tersebut. Rentang warnanya dari biru kemerah-merahan jika konsentrasi antibodi rendah, sampai biru tua jika konsentrasi antibodi tinggi (Gambar 3).^{2,8}



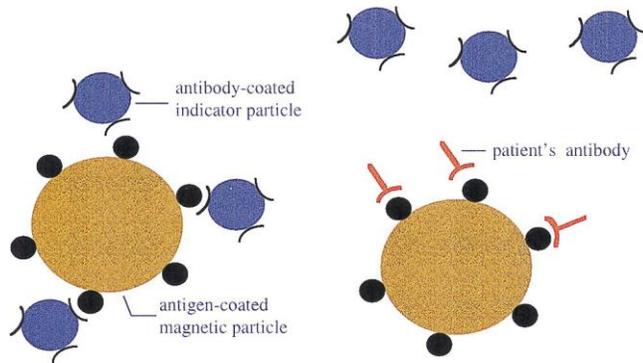
Gambar 1. Tes TUBEX[®]

Gambar 1 menunjukkan tabung reaksi yang berbentuk V dengan penyangga magnet di bawahnya serta skala warna. Gambar tersebut memperlihatkan kemungkinan hasil yang muncul, yang dapat dibaca pada skala warna.⁶



Gambar 2. Ilustrasi Tes TUBEX[®].

Ilustrasi bagaimana tes TUBEX[®] bekerja dalam mendeteksi antibodi terhadap *Salmonella Typhi* O9. Gambar 2 menunjukkan bahwa partikel indikator yang dilapisi monoklonal antibodi (mAb) dan partikel magnetik yang dilapisi antigen (O9 LPS) yang dihambat ikatannya oleh antibodi pasien.⁶



Gambar 3. Prinsip kerja tes TUBEX®.

Gambar 3 kiri menunjukkan hasil tes yang negatif. Partikel indikator yang dilapisi antibodi monoklonal akan berikatan dengan partikel magnetik yang dilapisi dengan antigen. Gambar 3 kanan menunjukkan hasil tes yang positif. Antibodi pasien akan berikatan dengan partikel magnetik yang dilapisi dengan antigen dan mencegah partikel indikator berikatan dengan partikel magnetik.¹⁰

Kelemahan

Setiap tes pasti memiliki kelemahan dan keuntungan. Kelemahan dari tes TUBEX® adalah sebagai berikut.

- a. Hasil tes bersifat subjektif karena hasil tes tersebut dibaca dengan mata telanjang. Pada reaksi yang kuat (skor 5 atau lebih tinggi) mungkin tidak menimbulkan masalah dalam pembacaan hasil tes karena interpretasi hasilnya pasti positif. Sedangkan pada reaksi yang lemah (skor 3 atau 4) memerlukan beberapa pertimbangan dalam menginterpretasikan hasilnya.
- b. Kesulitan dalam menginterpretasikan hasil pada spesimen hemolisis karena interpretasi hasil pada tes TUBEX® berdasarkan atas perubahan warna.
- c. Tes TUBEX® mungkin menghasilkan positif palsu pada orang yang terinfeksi *Salmonella enterica serotype Enteritidis* sehingga hasil ini menyebabkan penanganannya menjadi tidak tepat terutama dalam pemberian antibiotik. Hal ini disebabkan karena *Salmonella Enteritidis* yang merupakan *group D non-typhoidal Salmonella* memiliki kemiripan dengan *Salmonella Typhi* pada antigen O9. Akan tetapi, hal ini masih perlu penelitian lebih lanjut.^{8,9,11}

Keuntungan

Keuntungan dari tes ini adalah sebagai berikut.

- a. Mendeteksi secara dini infeksi akut akibat *Salmonella typhi*, karena antibodi IgM muncul pada hari ke 3 terjadinya demam.

- b. Pemeriksaannya sangat mudah, karena menggunakan satu langkah yang sederhana dan mudah dikerjakan.
- c. Hasil dapat diperoleh lebih cepat. Menurut penelitian Razel dkk (2006) di Filipina didapatkan hasil tes TUBEX[®] menjadi tes serologi yang paling cepat dibandingkan dengan tes serologi lainnya yaitu TUBEX[®] (5 menit) > *SD Bioline* (15 sampai 30 menit) > *Mega Salmonella* (2,5 sampai 3,0 jam) > *Typhidot* (2,5 jam).
- d. Sampel darah yang dibutuhkan hanya sedikit.
- e. *Reliable* (dapat dipercaya), karena menggunakan antigen O9-LPS yang dikenal sangat spesifik. Antigen O9 yang digunakan sangat spesifik karena *immunodominant epitope* pada antigen tersebut mengandung *dideoxyhexose sugar* yang sangat jarang terdapat di alam.
- f. *Flexible*, karena dirancang sangat cocok baik untuk penelitian maupun penggunaan laboratorium rutin diagnosis demam tifoid.
- g. Mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi *Salmonella typhi*. Penelitian Razel dkk (2006) di Filipina mendapatkan hasil tes TUBEX[®] menjadi tes serologis yang paling bagus dalam mendiagnosis demam tifoid dibandingkan dengan tes serologis lainnya seperti *Typhidot*, *SD Bioline*, dan *Mega Salmonella*. Hal ini disebabkan karena tes TUBEX[®] memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang paling tinggi yaitu sebesar 94,7% dan 80,4%.⁷ Sedangkan penelitian oleh Sonja dkk (2004) di Vietnam Selatan mendapatkan hasil sensitivitas sebesar 78% (CI/*Confidence interval* = 65 sampai 88) dan spesifisitas sebesar 94% (CI = 71 sampai 100) dengan *positive predictive value* (PPV) = 98% (CI = 87-100) dan *negative predictive value* (NPV) = 59% (CI = 39-76).⁹ Adapun penelitian yang terdahulu (Pak-Leong dkk,1998) pernah mendapatkan bahwa sensitivitas dan spesifisitas tes ini mencapai 100%.^{2,7,9,10}

RINGKASAN

Pemeriksaan IgM Anti *Salmonella* (tes TUBEX[®]) merupakan tes aglutinasi kompetitif semi kuantitatif yang sederhana, cepat dan sangat akurat dalam diagnosis infeksi akut demam tifoid. Tes TUBEX[®] mendeteksi adanya antibodi terhadap *Salmonella* O9 dari serum pasien dengan kemampuan dari antibodi tersebut untuk menghambat ikatan antara partikel indikator yang dilapisi monoklonal antibodi dengan partikel magnetik yang dilapisi antigen.

Sampel yang digunakan pada tes TUBEX[®] ini adalah serum. Pada pemeriksaan ini diperlukan satu set tabung yang berbentuk V, TUBEX[®] *Color Scale*, pipet, *Brown reagent*, dan

Blue reagent. Prosedur pengujian antibodi dari tes ini sangat sederhana. Pembacaan hasil tes TUBEX[®] berdasarkan atas warna yang terlihat setelah reaksi pencampuran. Skor 0 menunjukkan semakin merah warna yang terlihat dan semakin negatif hasil yang didapat, sedangkan skor 10 menunjukkan semakin biru warna yang muncul dan semakin positif hasilnya. Hasil negatif jika skor 0-2 dan positif jika skor 3-10.

Kelemahan dari tes TUBEX[®] ini adalah hasil tes bersifat subjektif, kesulitan dalam menginterpretasikan hasil pada spesimen hemolisis, dan mungkin menghasilkan positif palsu pada orang yang terinfeksi *Salmonella enterica serotype enteritidis*. Sedangkan keuntungan dari tes ini adalah mendeteksi secara dini infeksi akut akibat *Salmonella typhi*, pemeriksaannya sangat mudah, hasilnya diperoleh lebih cepat, sampel darah yang dibutuhkan hanya sedikit, *reliable, flexible*, dan mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi *Salmonella typhi*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Prasetyo RV, Ismoedijanto. Metode Diagnostik Demam Tifoid Pada Anak. Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo. Surabaya. Available from: URL: <http://www.pediatrik.com/buletin/06224114418-f53zji.pdf>. Accessed 11 januari 2011.
2. WHO. Diagnosis of typhoid fever. Background document : The diagnosis, treatment, and prevention of typhoid fever. World Health Organization, 2003;7-18. Available from: URL : http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_V%26B_03.07.pdf. Accessed 12 januari 2011.
3. Widodo D. Demam Tifoid. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I (eds). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. 4th ed. Jakarta : Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2006.p.1752-57.
4. Demam Tifoid. In: Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W (eds). Kapita Selekta Kedokteran. 3th ed. Jakarta : Media Aesculapius FKUI; 2001.p.421-425.
5. Mitra R, Kumar N, Trigunayat A, Bhan S. New advances in the rapid diagnosis of typhoid fever. African Journal of Microbiology Research. 2010; 4(16): 1676-1677. Available from: URL : www.academicjournals.org/ajmr/PDF/Pdf2010/18Aug/Mitra%20et%20al.pdf. Accessed 12 januari 2011.

6. Tam FCH, Ling TWK, Wong KT, Leung DTM, Chan RCY, Lim PK. The TUBEX test detects not only typhoid-specific antibodies but also soluble antigens and whole bacteria. *Journal of Medical Microbiology*. 2008;57:316-323. Available from: URL : <http://jmm.sgmjournals.org/cgi/reprint/57/3/316.pdf>. Accessed 12 januari 2011.
7. Kawano RL, Leano SA, Agdamag DMA. Comparison of serological test kits for diagnosis of typhoid fever in the Philippines. *Journal of Clinical Microbiology*.2007;45(1):246-247. Available from: URL : <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/JCM.01403-06v1.pdf>. Accessed 12 januari 2011.
8. Tam FCH, Leung DTM, Ma CH, Lim PL. Modification of the TUBEX typhoid test to detect antibodies directly from haemolytic serum and whole blood. *Journal of Medical Microbiology*.2008;57:1349-1353. Available from: URL : <http://jmm.sgmjournals.org/cgi/reprint/57/11/1349.pdf>. Accessed 12 januari 2011.
9. Olsen SJ, Pruckler J, Bibb W, Thanh NT, Trinh TM, Minh NT, Gupta A, Sivapalasingam S, Phuong PT, Chinh NT, Chau NV, Cam PD, Mintz ED. Evaluation of rapid diagnosis tests for typhoid fever. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004;42(5):1885-1889. Available from: URL : <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/42/5/1885.pdf>. Accessed 13 januari 2011.
10. Lim PL, Tam FCH, Cheong YM, Jegathesan M. One-step 2-minutes test to detect typhoid-specific antibodies based on particle separation in tubes. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998;36:2271-2278. Available from: URL : <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/36/8/2271.pdf>. Accessed 13 januari 2011.
11. Oracz G, Feleszko W, Golicka D, Maksymiuk J, Klonowska A, Szajewska H. Rapid diagnosis of acute salmonella gastrointestinal infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;36:112-115. Available from: URL : <http://cid.oxfordjournals.org/content/36/1/112.full.pdf>. Accessed 14 januari 2011.