



TINJAUAN PUSTAKA

PEMERIKSAAN ANTIGEN NON STRUKTURAL-1 SEBAGAI DETEKSI DINI INFEKSI AKUT VIRUS DENGUE

Siti Maimunah,¹

ABSTRAK

Pendahuluan: Penegakan diagnosis infeksi dengue sejak dini penting dilakukan agar penanganan infeksi dapat segera dilakukan. Terdapat berbagai pemeriksaan yang dapat menunjang diagnosis infeksi virus dengue diantaranya pemeriksaan trombosit, IgM, dan IgG. Namun, umumnya pemeriksaan tersebut baru menampakkan hasil bermakna setelah hari keempat demam. Deteksi antigen virus dengue dengan teknik RT-PCR juga masih dinilai sulit dilakukan. Saat ini telah dikembangkan suatu pemeriksaan terhadap Ag NS1 yang dapat mendeteksi infeksi dengue sejak hari pertama demam.

Pembahasan: NS1 merupakan glikoprotein non struktural yang dihasilkan oleh semua jenis flavivirus, glikoprotein ini berperan dalam replikasi dan viabilitas virus. Penelitian terbaru menyebutkan bahwa titer Ag NS1 terdeteksi tinggi pada serum pasien selama fase akut infeksi. Antigen ini dapat dideteksi baik pada infeksi primer maupun infeksi sekunder, titer antigen pada infeksi primer lebih tinggi dibanding infeksi sekunder. Ag NS1 dapat dideteksi dalam darah mulai dari hari pertama hingga 9 setelah onset demam. Pada fase tersebut sensitivitas pemeriksaan Ag NS1 lebih baik dibandingkan pemeriksaan antibodi IgM.

Simpulan: Pemeriksaan Ag NS1 dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mendeteksi infeksi akut virus dengue.

Kata kunci: Antigen NS1, Dengue, Diagnosis

ABSTRACT

Introduction: It is important to establish the diagnosis of dengue infection early, in order the treatment for that infection can be started immediately. There are various tests that can support the diagnosis of dengue virus infection including platelet, IgM, and IgG examination. Those tests only show significant results after the fourth day of fever. The detection of dengue virus antigens by RT-PCR technique is also still difficult. Nowadays an examination of NS1 Ag has been developed, it can detect dengue infection from the first day of fever.

Discussion: NS1 is a non-structural glycoprotein produced by all types of flaviviruses, this glycoprotein plays a role in virus replication and viability. Recent research states that NS1 Ag titers is high detected in serum of patients during the acute phase of infection, in both primary and secondary infections. The antigen titer in primary infections is higher than secondary infections. NS1 Ag can be detected in the blood from the first until ninth day after the onset of fever. In this phase the sensitivity of NS1 Ag examination is higher than IgM antibody examination.

Conclusion: NS1 Ag examination can be an alternative test in detecting acute dengue virus infection.

Keywords: NS1 Antigen, Dengue, Diagnostic

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi dengue merupakan salah satu permasalahan kesehatan dunia. Peningkatan frekuensi kejadian infeksi dengue terjadi secara global selama tiga dekade terakhir. Setiap sepuluh tahun, rata-rata kasus infeksi dengue dilaporkan terus meningkat.^[1] Infeksi dengue banyak terjadi di daerah tropis dan subtropis, dimana Asia menduduki peringkat pertama sebagai wilayah dengan jumlah penderita demam berdarah dengue (DBD) terbanyak setiap tahunnya. Sementara itu, *World Health Organization* (WHO) menobatkan Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara sejak tahun 1968 hingga 2009.^[2] Pada tahun 2017 jumlah penderita DBD di Indonesia sebanyak 68.407 kasus dengan jumlah kasus meninggal sebanyak 493 orang dan *Incidence Rate* sebesar 26,12 per 100.000 penduduk. Provinsi dengan angka kesakitan DBD tertinggi yaitu di Bali sebesar 105,95 per 100.000 penduduk. Sedangkan provinsi dengan angka kematian atau CRF (*Case Fatality Rate*) akibat DBD tertinggi adalah Gorontalo (2,18%).^[3]

Infeksi dengue memiliki gejala yang bervariasi dan masih sulit dibedakan dengan penyakit infeksi lain terutama pada fase awal demam. Pemeriksaan trombosit, immunoglobulin M

(IgM) dan G (IgG) anti dengue umumnya baru menampakkan hasil yang bermakna setelah demam hari ke-4, sehingga penanganan infeksi dengue sering kali terlambat. Pemeriksaan lain untuk diagnosis pasti infeksi dengue diperoleh dari isolasi virus dengue ataupun dengan deteksi antigen virus RNA dengue menggunakan teknik RT-PCR (*Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*) namun kedua teknik tersebut cukup rumit untuk dilakukan.^[4]

Dewasa ini, telah dikembangkan jenis pemeriksaan baru terhadap Antigen Non-Struktural 1 (Ag NS1) dengue, yaitu glikoprotein yang dihasilkan oleh semua jenis Flavivirus yang penting untuk replikasi dan kelangsungan hidup virus. Deteksi Ag NS1 dengue yang beredar di sirkulasi pada fase awal demam telah menjadi diagnosis spesifik untuk virus dengue.^[5] Diharapkan bahwa pemeriksaan Ag NS1 dapat dimanfaatkan secara optimal dalam menegakkan diagnosis dini dan akurat yang sangat menunjang keberhasilan penanganan penderita DBD.

PEMBAHASAN

Infeksi Virus Dengue

Demam dengue merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi virus dengue (DENV).

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

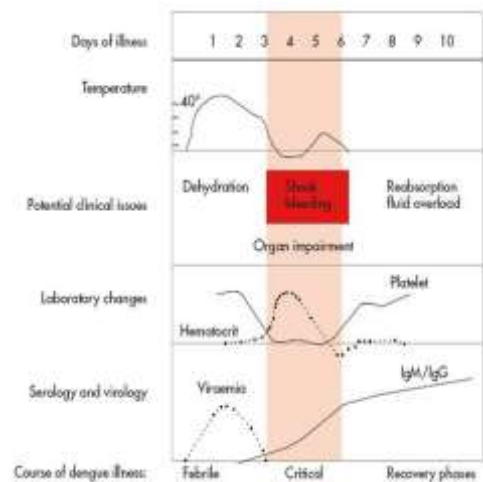
Virus dengue dapat ditransmisikan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* dan *Aedes polynesiensis* sebagai vektor. DENV tergolong ke dalam genus Flavivirus, famili Flaviviridae dan terbagi atas empat serotipe yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4.^[1] Infeksi DENV dapat terjadi dengan intensitas bervariasi, mulai dari asimtomatis hingga disertai gejala parah seperti *Dengue Shock Syndrome* (DSS).^[6]

Virus dengue yang masuk ke dalam tubuh manusia akan menginfeksi endotel. Sistem imun tubuh berperang melawan virus dengue dengan berbagai cara, yaitu aktivasi sistem komplemen, sel NK, dan sistem imun humoral.^[7] Namun, infeksi oleh satu serotipe tidak memberikan kekebalan terhadap infeksi serotipe lainnya.^[8]

Pada tahun 1973, Halstead mengajukan hipotesis *secondary heterologous* yang menyatakan bahwa DBD terjadi bila seseorang terinfeksi ulang oleh virus dengue dengan tipe berbeda. Re-infeksi menyebabkan reaksi *amnestic* antibodi yang mengakibatkan konsentrasi kompleks imun meningkat.^[4]

Hipotesis di atas menyatakan bahwa pasien yang mengalami infeksi kedua kalinya dengan serotipe virus dengue yang heterolog akan memiliki risiko lebih besar untuk menderita Demam Berdarah Dengue dan Sindrom Syok Dengue. Antibodi yang telah ada sebelumnya akan mengenali virus lain yang telah menginfeksi dan selanjutnya membentuk kompleks antigen-antibodi yang kemudian berikatan dengan reseptor dari membran sel leukosit. Hal tersebut membuat antibodi tidak mampu menetralkan virus sehingga virus akan bebas melakukan replikasi dalam sel makrofag. Selain hipotesis di atas, dikenal pula hipotesis mengenai *antibody dependent enhancement* (ADE), yaitu suatu proses yang akan meningkatkan infeksi sekunder pada replikasi virus dengue di dalam sel mononuklear yaitu terbentuknya kompleks imun dengan virus yang berkadar antibodi rendah dan bersifat subnetral dari infeksi primer. Kompleks imun melekat pada reseptor sel mononukleus fagosit (terutama makrofag) untuk mempermudah virus masuk ke sel dan meningkatkan multiplikasi. Kejadian ini menimbulkan viremia menjadi lebih hebat dan semakin banyak sel makrofag yang terinfeksi. Sedangkan respon pada infeksi tersebut terjadi sekresi mediator vasoaktif yang meningkatkan kemungkinan terjadinya keadaan hipovolemia dan syok.^[4]

Infeksi virus dengue merupakan suatu penyakit sistemik yang memiliki spektrum klinik yang luas. Setelah masa inkubasi kemudian diikuti oleh tiga fase penyakit, yaitu fase demam, fase kritis, dan fase penyembuhan. Pada penyakit dengan manifestasi klinik yang kompleks seperti DBD, terapinya relatif sederhana, murah, dan sangat efektif bisa menyelamatkan hidup selama dilakukan terapi yang efektif dan efisien. Kunci keberhasilan dalam terapi adalah mengenal dan memahami gejala dan tanda yang timbul selama fase-fase tersebut, hal ini akan memudahkan dalam memberikan terapi sehingga memberikan hasil terapi yang memuaskan. Pengenalan gejala dan tanda awal pada pasien infeksi dengue merupakan bagian penting yang menentukan keberhasilan terapi pasien tersebut.^[9]



Gambar 1. Fase-Fase Infeksi Dengue.^[9]

Hingga kini, tidak ada terapi spesifik untuk mengobati DBD selain terapi suportif berupa pemberian cairan, antipiretik, dan transfusi darah berdasarkan kondisi pasien pada masa kritis. Apabila masa kritis dapat dilewati, maka risiko terjadinya kasus fatal dapat dihindari.^[10]

Protein Non Struktural-1 (NS 1)

Virus dengue tersusun dari tiga gen protein struktural berupa nukleokapsid atau protein inti (C), *membrane associated protein* (M), protein *envelop* (E), dan tujuh protein nonstruktural (NS) yaitu protein NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5. Dari kedua protein tersebut yang mempunyai sifat antigenik adalah protein E, protein Pr M, dan protein NS1.^[11]

NS1 merupakan glikoprotein non struktural yang dihasilkan oleh semua jenis flavivirus dengan berat molekul 46-50 kD, glikoprotein ini berperan dalam replikasi dan viabilitas virus, namun aktivitas biologinya belum diketahui secara pasti. NS1 diproduksi dalam dua bentuk, yaitu *membrane associated* (mNS1) dan *secreted form* (sNS1). Awalnya NS1 ditranslokasikan ke retikulum endoplasma melalui sekuens sinyal hidrofobik yang dikode di bagian C terminal E dan segera didimerisasi dalam organel-organel intrasel, selanjutnya ditransfer ke membran sitoplasma. Kemudian, NS1 akan dilepaskan dalam bentuk *hexameric solubilized* (sNS1) yang merupakan gabungan dari tiga sub unit dimerik yang dihubungkan secara kovalen. NS1 berkaitan dengan organel-organel intrasel atau ditransfer melalui jalur sekresi ke membran sitoplasma selama proses infeksi. Bentuk yang larut hanya dapat dilepaskan dari sel mamalia yang terinfeksi virus. NS1 sendiri bukan merupakan bagian dari struktur virus tetapi diekspresikan pada permukaan sel yang terinfeksi dan memiliki determinan-determinan dan spesifik grup dan tipe. NS1 yang dihasilkan flavivirus dikenal sebagai imunogen yang penting dan berperan dalam proteksi terhadap penyakit.^[5]

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa NS1 merupakan *tollreceptor 4 agonist* yang akan menstimulasi sel-sel mieloid untuk menghasilkan berbagai sitokin seperti IL-10 yang berkontribusi dalam derajat keparahan infeksi dengue. Selain itu, Ag NS1 dapat merusak sel endotel secara langsung sehingga dapat menyebabkan kebocoran plasma.^[12]

Pemeriksaan NS1

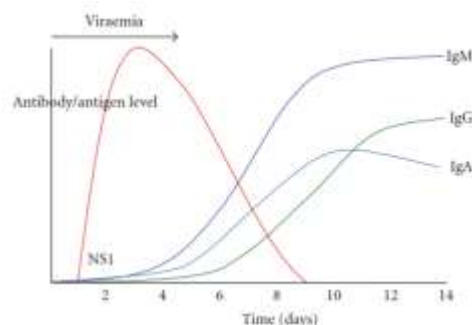
Gold standard untuk mendeteksi virus dengue saat ini adalah kultur virus atau PCR, namun biaya yang besar dan teknis pengerjaan yang sulit masih menjadi kendala pemeriksaan ini. Saat ini telah dikembangkan suatu pemeriksaan terhadap Ag NS1 yang dapat mendeteksi virus dengue dengan lebih awal bahkan pada hari pertama onset demam.^[13]

Sensitivitas pemeriksaan antigen NS1 cukup tinggi berkisar antara 63%-93,4% dengan spesifisitas 100% sama tingginya dengan spesifistas *gold standard* kultur virus. Namun, hasil negatif antigen NS1 belum bisa menyingkirkan adanya infeksi virus dengue.^[4]

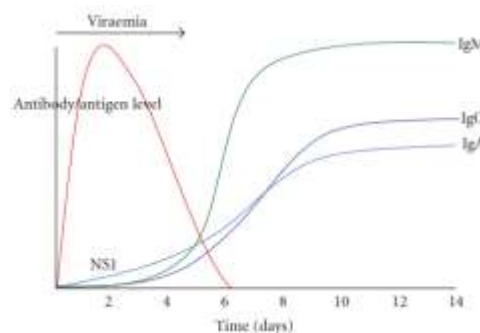
Kumarasamy pada tahun 2007, meneliti sensitivitas dan spesifisitas antigen NS1 pada 554 donor sehat dan 297 pasien terinfeksi virus dengue, diperoleh hasil sensitivitas antigen NS1 sebesar 91,0% dan spesifisitasnya 100% dengan perbedaan yang tidak bermakna antar serotipe DENV.^[14] Sedangkan, Blacksell melakukan penelitian serupa dan mendapatkan hasil sensitivitas pemeriksaan antigen NS1 sebesar 63% dan spesifisitas sebesar 100% dengan memperhatikan adanya perbedaan sekresi yang bervariasi antar serotipe.^[15]

Hubungan sensitivitas pemeriksaan Ag NS1 dengan onset demam telah banyak diteliti sebelumnya, salah satunya adalah penelitian yang dilakukan oleh Ahmed dan Shoba (2014) yang memperoleh hasil bahwa sensitivitas pemeriksaan Ag NS1 tidak begitu tinggi pada hari pertama demam, yaitu sebesar 50%. Sensitivitas tertinggi diperoleh pada hari kedua demam, yaitu sebesar 100%. selanjutnya, sensitivitas menurun yaitu sebesar 71,4% pada hari ketiga demam dan 75% pada hari keempat demam. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Megariani dkk (2014) membandingkan hasil pemeriksaan Ag NS1 pada fase akut dan konvalesen, didapatkan Ag NS1 positif sebanyak 71,42 % pada fase akut, sedangkan pada fase konvalesen Ag NS1 positif hanya sebanyak 6,38%. Sensitivitas pemeriksaan Ag NS1 yang tinggi pada fase awal demam karena protein NS1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut.^[16,17]

Penelitian terbaru menyebutkan bahwa titer Ag NS1 terdeteksi tinggi serum pasien selama pada fase akut infeksi. Antigen ini dapat dideteksi baik pada infeksi primer maupun infeksi sekunder, titer antigen pada infeksi primer lebih tinggi dibanding infeksi sekunder. Ag NS1 dapat dideteksi dalam darah mulai dari hari pertama hingga 9 setelah onset demam.^[18] Pada fase tersebut sensitivitas pemeriksaan Ag NS1 lebih baik dibandingkan pemeriksaan antibodi IgM.^[5]



Gambar 2. Grafik representasi dari Ag NS1, IgM, IgG, dan IgA dengue pada infeksi primer virus dengue^[15]



Gambar 3. Grafik representasi dari Ag NS1, IgM, IgG, dan IgA dengue pada infeksi sekunder virus dengue^[15]

Saat ini, berbagai metode telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi antigen NS1, diantaranya *antigen-capture ELISA*, *lateral flow antigen detection*, dan *rapid diagnostic test* menggunakan kit komersial.^[19,20]

SIMPULAN

Peningkatan frekuensi kejadian infeksi dengue terjadi secara global dalam tiga dekade terakhir. Infeksi dengue banyak terjadi di daerah tropis dan subtropis, dimana Asia menduduki peringkat pertama sebagai wilayah dengan jumlah penderita demam berdarah dengue (DBD) terbanyak setiap tahunnya. Infeksi virus dengue merupakan suatu penyakit sistemik yang memiliki spektrum klinik yang luas. Infeksi dengue memiliki gejala yang bervariasi dan masih sulit dibedakan dengan penyakit infeksi lain terutama pada fase awal demam.

Berbagai pemeriksaan dikembangkan untuk mendeteksi infeksi dengue. Pemeriksaan trombosit, immunoglobulin M (IgM) dan G (IgG) anti-dengue umumnya baru menampakkan hasil yang bermakna setelah demam hari ke-4 sehingga penanganan infeksi dengue sering kali terlambat. Pemeriksaan lain untuk diagnosis pasti infeksi dengue diperoleh dari isolasi virus dengue ataupun dengan deteksi antigen virus RNA dengue menggunakan teknik RT-PCR (*Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*) namun kedua teknik tersebut cukup rumit untuk dilakukan.

Penelitian terbaru menyebutkan bahwa titer Ag NS1 terdeteksi tinggi serum pasien selama pada fase akut infeksi. Antigen ini dapat dideteksi baik pada infeksi primer maupun infeksi sekunder, titer antigen pada infeksi primer lebih tinggi dibanding

infeksi sekunder. Ag NS1 dapat dideteksi dalam darah mulai dari hari pertama hingga 9 setelah onset demam. Pada fase tersebut sensitivitas pemeriksaan Ag NS1 lebih baik dibandingkan pemeriksaan antibodi IgM.

SARAN

Sensitivitas dari pemeriksaan NS1 cukup tinggi terutama dalam mendeteksi infeksi virus dengue pada fase akut. Pemeriksaan NS1 sebaiknya dijadikan pemeriksaan rutin untuk kasus kecurigaan infeksi virus dengue terutama di fasilitas kesehatan primer.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada keluarga dan teman-teman yang membantu penulisan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization. Comprehensive guidelines for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever. India: WHO Regional Publication SEARO; 2011.
- Kementerian Kesehatan RI. Buletin jendela epidemiologi: demam berdarah dengue. 2010; 2(1): 48.
- Infodatin. Situasi penyakit demam berdarah di Indonesia tahun 2017 Hari Demam Berdarah Dengue. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2018.
- Suhendro, Nainggolan L, Chen K, Pohan HT. Demam berdarah dengue. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. Buku ajar ilmu penyakit Jilid I Edisi VII. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
- Alcon S, Talamon A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, & Flamand M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during acute phase of disease in patient experiencing primary or secondary infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2010; 83(3): 690–95.
- Guzman MG, Harris E, Dengue. *The Lancet*. 2015; 385(9966): 453–65.
- Avirutnan P, Fuchs A, Hauhart RE, Somnuk P, Youn S, Diamond MS, et al.. Antagonism of the complement component C4 by flavivirus nonstructural protein NS1. *The Journal of Experimental Medicine*. 2010; 207 (4): 793–806.
- Sellahewa KH. Pathogenesis of dengue haemorrhagic fever and its impact on case management. *ISRN Infectious Diseases*; 2013.
- World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. France: WHO Press; 2009.
- Rajapakse S, Rodrigo C, Rajapakse A. Treatment of dengue fever. *Infection and Drug Resistance*. 2012; 103(1): 103–12.
- Wowor MF. Deteksi dini demam berdarah dengue dengan pemeriksaan antigen NS1. *Journal biomedik*. 2011; 3(1): 1-9.
- Halstead SB. Pathogenesis of dengue: Dawn of a New Era. *F1000Research*. 2015; 28(36): 1385–7.
- Da Costa VG, Marques-Silva AC, & Moreli ML. A meta-analysis of the diagnostic accuracy of two commercial NS1 antigen ELISA tests for early dengue virus detection. *PLoS ONE*. 2014; 9(4): 1-12.
- Kumarasamy V, Chua SK, Hasan Z, Wahab AHA, Chem YK, Mohamad M. Evaluating the sensitivity of commercial dengue NS1 antigen-captured ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. *Singapore Med J*. 2007; 48(1): 669-73.
- Blacksell SD. Commercial dengue rapid diagnostic tests for Point-of-Care Application: Recent evaluations and future needs?. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012; 2012(1): 1-13.
- Ahmed NH & Shobha B. Comparison of NS1 antigen detection ELISA real time RT-PCR and virus isolation for rapid diagnosis of dengue infection in acute phase. *J. Vector Borne Dis*. 2014; 51(1): 194-9.
- Megariani, Mariko R, Alkamar A, & Putra AE. Uji diagnostik pemeriksaan antigen nonstruktural 1 untuk deteksi dini infeksi virus dengue pada anak. *Sari Pediatrik*. 2014; 16(2): 121-7.
- Anand AM, Sistla S, Dhodapkar R, Hamide A, Biswal N, Srinivasan B. Evaluation of NS1 antigen detection for early diagnosis of dengue in a tertiary hospital in Southern India. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2016; 10(4): 1–4.
- Zainah S, Wahab AHA, Mariam M, Fauziah MK, Khairul AH, Roslina I, et al. Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. *Journal of Virological Methods*. 2009; 155(2): 157–60.
- Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Nathan MB, et al. Dengue: a continuing global threat Europe PMC Funders Author Manuscripts. *Nat Rev Microbiol*. 2010; 8(120): 7–16.