

Rapid Test Diagnostic for Dengue, Tifoid, Malaria and Leptospirosis

Agnes R Indrati

Clinical Pathology dept, Hasan Sadikin hospital/ University of Padjadjaran Bandung



Presented in

2rd Bandung Infectious Diseases Symposia
Delivering Better Access and Quality to Control and Care of Infectious Disease

November 11-13, 2010 Aston Tropicana Hotel-Bandung

Rapid Test Diagnostic for Dengue, Typhoid, Malaria and Leptospirosis

Agnes R Indrati

Clinical Pathology dept, Hasan Sadikin hospital/ University of Padjadjaran Bandung

Penyakit infeksi sampai saat ini masih merupakan masalah di negara berkembang. Salah satu faktor penting dalam penatalaksanaan penyakit infeksi adalah kurangnya pemeriksaan diagnostik yang dapat dilaksanakan di tempat dengan infrastruktur terbatas yang melayani sebagian besar populasi dengan penyakit infeksi. Pemeriksaan di tempat perawatan (Point of Care Testing/ POCT) berpotensi untuk dapat memberikan hasil lebih cepat untuk dapat membantu penegakan diagnosis yang tepat, mempercepat manajemen pasien dan memberikan pengobatan yang adekuat bila diperlukan. Tetapi penggunaan POCT ini terkendala masalah realibilitas, performa, kualitas, biaya, regulasi perijinan, dokumentasi dan konektivitas. Di tempat dengan sarana terbatas, uji cepat memiliki berbagai kelebihan.

Malaria

Terdapat 300-500 juta kasus malaria dalam setahun di seluruh dunia yang mencerminkan masih besarnya masalah yang diakibatkan malaria. Pemeriksaan untuk diagnosis malaria yang akurat disertai penatalaksanaan yang baik merupakan strategi untuk mengurangi kasus malaria. Diagnosis klinis kurang dapat diandalkan tetapi sampai saat ini masih merupakan dasar terapi ketika laboratorium tidak dapat diandalkan, terutama pada daerah endemis. Misinterpretasi pada diagnosis akan menentukan penentuan terapi, pencatatan epidemiologis atau studi klinis. Diagnosis malaria dapat ditegakkan dengan mendeteksi antigen parasit dari spesimen darah darah dari ujung jari dengan pemeriksaan mikroskopik apus darah yang merupakan metode yang paling cost-effective untuk mendiagnosis malaria. Pemeriksaan mikroskopis malaria memiliki beberapa keterbatasan, termasuk tidak dapat menentukan parasitemia kuantitatif atau membedakan spesies malaria. Rapid test malaria memiliki sensitivitas dan nilai duga negatif yang tinggi untuk *Plasmodium falciparum* terutama pada infeksi akut. Penggunaan uji

cepat untuk deteksi antigen sangat bermanfaat dalam diagnosis malaria di tempat dimana sulit menjaga kualitas pemeriksaan mikroskopis. Uji cepat malaria dapat dikerjakan dengan volume darah 5-15 μ L dan hasil dapat dibaca dalam waktu 5-20 menit. Metode pemeriksaan uji cepat tidak memerlukan listrik, mudah dikerjakan dan tidak sulit dalam interpretasi. Sebagian besar alat uji cepat malaria dapat mendeteksi *Plasmodium falciparum*.

Dengue

Dengue merupakan masalah kesehatan utama di negara-negara tropik dan subtropik. Demam dengue dan bentuk yang lebih berat seperti demam berdarah dengue (DHF) serta sindrom syok dengue (DSS) menjadi topik utama dalam kesehatan masyarakat. Lebih dari 3 dekade terjadi peningkatan secara dramatis demam dengue, DHF dan DSS. Dengue dapat ditemukan di seluruh negara tropis dan subtropis seluruh dunia, terutama di area urban dan sub-urban. Penyakit ini disebabkan virus dari keluarga Flaviviridae yang disebarkan oleh nyamuk *Aedes*. Terdapat 4 serotipe virus Dengue (DEN1-4) dan seluruh serotipe ini bersirkulasi di Asia, Afrika dan Amerika.

Virus Dengue merupakan bagian dari genus Flavivirus dan keluarga Flaviviridae. Virus ini memiliki ukuran 50nm yang mengandung genom RNA untai tunggal. Virion terdiri dari nukleokapsid dengan envelop lipoprotein berbentuk kubus yang simetris. Genom virus Dengue memiliki panjang 11.644 nukleotida dan terdiri dari 3 gen yang mengkode protein struktural yaitu protein core (C), protein terasosiasi membran (M), protein envelop (E) dan 7 gen yang mengkode protein non struktural (NS). Diantara protein non-struktural, glikoprotein pada envelop yaitu NS1, ditemukan sangat berperan dalam patologi penyakit dan diagnostik penyakit. Protein ini memiliki ukuran 45kDa dan berperan dalam aktivitas hemaglutinasi dan netralisasi virus. Tidak terdapat penatalaksanaan yang spesifik untuk dengue, tetapi perawatan medis yang tepat dapat menyelamatkan pasien dengan demam berdarah dengue yang fatal. Cara paling efektif untuk mencegah transmisi virus Dengue adalah dengan memberantas nyamuk pembawa virus. Diagnosis Dengue yang cepat dan akurat dapat membantu:

- a. surveilans epidemiologi
- b. penatalaksanaan klinis

- c. penelitian
- d. uji coba vaksin

Surveilans epidemiologis membutuhkan penentuan virus Dengue selama outbreak untuk tindakan terhadap kebijakan kesehatan masyarakat untuk mengontrol dan mendeteksi genotip serta serotip selama periode inter-epidemi untuk memperkirakan kejadian outbreak berikutnya. Penatalaksanaan klinis membutuhkan diagnosis dini, konfirmasi diagnosis dini dan diagnosis banding terhadap flavivirus lain atau agen infeksius lain.

Berikut adalah pemeriksaan laboratoris yang tersedia untuk diagnosis demam Dengue dan DHF:

- isolasi virus
- karakteristik serotipe/ genotip—deteksi asam nukleat virus
- deteksi antigen virus
- pemeriksaan berdasarkan respon imun
- pemeriksaan antibodi IgM dan IgG
- parameter hematologis

Saat ini ada dua jenis tes cepat yang digunakan dalam dengue pemeriksaan rapid untuk antigen dan antibodi. Pemeriksaan antibodi Dengue menggunakan tes imunokromatografi (ICT) untuk mendeteksi antibodi IgM atau IgG atau IgM / IgG. Deteksi antigen Dengue dengan metode imunokromatografi yang merupakan pemeriksaan untuk deteksi NS1. Beberapa tes menggabungkan kedua antigen dan antibodi dalam test kit yang sama . Tes antigen / antibodi gabungan ini bertujuan untuk mendeteksi infeksi dengue baik pada tahap awal (ketika virus yang beredar) dan tahap berikutnya (ketika antibodi muncul) . Banyak tes cepat dengue yang tersedia secara komersial dan telah diuji oleh WHO dan CDC . Tes cepat yang merupakan pemeriksaan yang mudah digunakan , memberikan hasil dalam waktu kurang dari satu jam .

Typhoid

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi* , yang merupakan bakteri Gram - negatif . Penyakit tifoid merupakan penyakit pada saluran pencernaan dan mirip penyakit lain yang

disebabkan oleh *Salmonella paratyphi* serotipe A. Terdapat dua pandangan utama pada nomenklatur dari *Salmonella* genus telah dibahas. Terdapat dua spesies harus diakui sebagai penyebab demam tifoid, yaitu: *Salmonella bongori* dan *Salmonella enterica*. *S. enterica* termasuk enam subspecies, yang subspecies I (satu) berisi semua patogen dari hewan berdarah panas. *S. typhi* adalah serotype dalam subspecies I: *Salmonella enterica* subspecies I serotipe typh

Diagnosis definitif demam tifoid tergantung pada isolasi *S. typhi* dari darah, sumsum tulang atau lesi anatomis tertentu. Adanya gejala klinis khas demam tifoid atau deteksi respon antibodi spesifik adalah sugestif demam tifoid tetapi tidak definitif. Kultur darah adalah andalan diagnosis penyakit ini.

Salmonella dapat dicirikan oleh somatik mereka (O) dan flagellar (H) antigen, yang terakhir yang ada di beberapa serotipe di fase 1 dan 2. Beberapa *salmonella* juga memiliki antigen menyelimuti disebut Vi (virulensi). The *salmonella* yang menyebabkan demam demam tifoid dan paratifoid memiliki komposisi antigenik berikut dan milik serogrup ditunjukkan.

Diagnostik tifoid yang telah digunakan sejak seabad adalah tes Widal, dikembangkan pada tahun 1896, dengan metode aglutinasi; Sel *S. Typhi* digunakan untuk mendeteksi antibodi dalam darah. *S. Typhi* adalah patogen sehingga antigenik variasi relatif invarian per se tidak harus menjadi perancu signifikan. Keterbatasan Widal adalah karena berbagi antigen antara *Enterobacteriaceae*. *S. Typhi* adalah anggota dari *Enterobacteriaceae* yang menginduksi antibodi yang cross-reaktif. Banyak orang di daerah endemik memiliki antibodi lintas-reaktif meskipun mereka tidak memiliki catatan klinis tifus. Masalah ini juga terlihat dalam tes cepat komersial serologis.

Leptospirosis

Leptospirosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh spirochetes patogen dari genus *Leptospira*. Pada tahun 1907, Stimson menemukan mikro-organisme dalam tubulus ginjal dari pasien yang meninggal karena penyakit yang disebut demam kuning. Spirochete yang pertama

kali diisolasi di Jepang oleh Inada dkk pada tahun 1915, hampir 30 tahun setelah Weil menggambarkan penyakit klinis pada tahun 1886. Genus *Leptospira* terdiri dari strain patogen dan non patogen, merupakan yang disebabkan oleh spirochetes dari genus *Leptospira*, dan terdistribusi di seluruh dunia.

Diagnosis pasti leptospirosis tergantung pada:

- (I) Isolasi organisme
- (ii) tes serologis
- (iii) Deteksi DNA tertentu

Diagnosis biasanya dibuat dengan cara tes serologi, yang beberapa tersedia.

(I) tes aglutinasi (mikroskopik, menggunakan organisme hidup, dan makroskopik, menggunakan membunuh antigen) menjadi positif setelah 7-10 hari sakit, puncak pada 3-4 minggu, dan dapat bertahan pada tingkat tinggi selama bertahun-tahun. Dengan demikian, untuk membuat diagnosis, kenaikan empat kali lipat atau lebih dalam titer harus didokumentasikan. Tes aglutinasi yang rumit untuk melakukan dan memerlukan tenaga terlatih.

(ii) ELISA IgM dan tes aglutinasi slide (SAT) juga tersedia. Sebagai ELISA IgM dan tes aglutinasi Slide (SAT) yang sederhana, tes sensitif yang mengukur antibodi IgM, mereka digunakan untuk mendiagnosis leptospirosis saat pada tahap yang sangat awal dan satu sampel memadai. Pemeriksaan IgM ELISA sangat berguna dalam penegakan diagnosis dini, karena hasil positif sedini 2 hari ke sakit, saat manifestasi klinis mungkin tidak spesifik. Hal itu ditemukan 100% sensitif dan 93% spesifik dalam satu studi. Dot-ELISA dan metode dip-stick untuk mendeteksi antibodi IgM metode skrining yang lebih baru.

(iii) metode uji PCR PCR (saat diteliti) tampak sensitif, spesifik, positif pada awal penyakit, dan mampu mendeteksi DNA leptospiral dalam darah, urin, cairan serebrospinal (CSF) dan aqueous humor. Saat Kerugian utama dengan tes ini adalah bahwa ini adalah genus spesifik, tidak serovar spesifik.

Diagnosis laboratorium definitif leptospirosis membutuhkan deteksi organisme dalam spesimen klinis atau peningkatan empat kali lipat atau lebih dalam tes aglutinasi mikroskopis (MAT) titer

dalam pengaturan sindrom klinis yang tepat. Yang paling sering digunakan pendekatan diagnostik untuk leptospirosis telah bahwa dari serologi. Evaluasi lapangan menunjukkan bahwa tes ini ditandai dengan kepekaan rendah selama akut - penyakit fase, tetapi tes cepat memiliki perjanjian baik dengan metode MAT.

Kepustakaan:

1. The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever, World Health Organization Communicable Disease Surveillance and Response Vaccines and Biologicals, World Health Organization 2003
2. Current concepts in the diagnosis and treatment of typhoid fever Zulfiqar A Bhutta, Husein Lalji Dewraj professor, *BMJ* 2006;333:78
3. Nature Reviews Microbiology , S30-S37| doi:10.1038/nrmicro2459 Evaluation of diagnostic tests: dengue Rosanna W. Peeling, Harvey Artsob, Jose Luis Pelegriño, Philippe Buchy, Mary J. Cardoso, Shamala Devi, Delia A. Enria, Jeremy Farrar, Duane J. Gubler, Maria G. Guzman, Scott B. Halstead, Elizabeth Hunsperger, Susie Kliks, Harold S. Margolis, Carl M. Nathanson, Vinh Chau Nguyen, Nidia Rizzo, Susana Vázquez & Sutee Yoksan
4. Dengue Haemorrhagic Fever Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever Revised and expanded edition, India, World Health Organization 2011
5. Leptospirosis – An Overview TK Dutta, M Christopher. *JAPI*, VOL 53, JUNE 2005, 545-51
6. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and control, World Health Organization 2003
7. Ko AI. Leptospirosis. In: Goldman L, Ausiello D, eds. *Cecil Medicine*. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2007:chap 344.
8. A Review of Malaria Diagnostic Tools: Microscopy and Rapid Diagnostic Test (RDT), Chansuda Wongsrichanalai,* Mazie J. Barcus, Sinuon Muth, Awalludin Sutamihardja, and Walther H. Wernsdorfer *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 77(Suppl 6), 2007, pp. 119–127

9. Rapid Diagnosis of Malaria. Clinton K. Murray and Jason W. Bennett, Hindawi Publishing Corporation Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases Volume 2009, Article ID 415953, 7 pages