

Uji diagnostik limfosit pironinofilik pada demam berdarah dengue pada anak

Setya Wandita, Sumadiono, Sutaryo, Sunarto

Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/
RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta

ABSTRACT

Setya Wandita, Sumadiono, Sutaryo, Sunarto - *Diagnostic value of pyroninophilic lymphocyte in dengue haemorrhage fever in children*

Background: Dengue hemorrhagic fever (DHF) is still a problem in Indonesia. Early diagnosis is important in the management. The cytoplasm of activated lymphocytes in dengue infection contains ribonucleic acid (RNA). RNA can be specifically shown by pyronin staining.

Objective: To know the diagnostic value of lymphocyte pyroninophilic in DHF in children.

Methods: Subjects were patients hospitalized in the Pediatric Department of Faculty of Medicine/Pediatric Ward Sardjito General Hospital, from September 1995 to December 1996, with 2-7 days of fever, positive tourniquet test, and 0-14 years of age. Clinical diagnosis of DHF was based on WHO 1986 criteria. Hemagglutination inhibition (HI) test and/or antibody antidengue were used to confirm the diagnosis of DHF. Peripheral blood smear was stained with pyronin stain according to Sutaryo modification. Lymphocyte percentage was counted per 100 leukocyte under light microscope.

Results: Means of pyroninophilic lymphocyte numbers were increased from day-3 to day-5 of fever and then decreased. There were significant difference between the means in non-dengue infection and in dengue infection from day-3 to day-7 of fever, between dengue fever (DF) and DHF from day-3 to day-6 of fever, and between non shock (DHF-I and DHF-II) and shock cases (DHF-III and DHF-IV) from day-3 to day-9 of fever. The number of pyroninophilic lymphocytes correlated with the degree of DHF. Using cut-off point of ≥ 4 at day-5 of fever, the sensitivity was 86,2%, specificity was 84,3%, positiv predictive value was 92,6%, and negative predictive value was 65,1%.

Conclusion: Pyroninophilic lymphocyte has a high diagnostic value in DHF in children.

Key words: Dengue hemorrhage fever - ribonucleic acid - pyroninophilic lymphocyte - diagnosis

ABSTRAK

Setya Wandita, Sumadiono, Sutaryo, Sunarto - *Uji diagnostik limfosit pironinofilik pada demam berdarah dengue pada anak*

Latar belakang penelitian: Diagnosis dini pada demam berdarah dengue (DBD) penting untuk pengelolaan. Pada infeksi dengue ditemukan limfosit yang teraktivasi, yang banyak mengandung ribonucleic acid (RNA) dalam sitoplasmanya. Pironin merupakan cat khusus untuk RNA.

Tujuan penelitian: Untuk mengetahui nilai diagnostik limfosit pironinofilik pada DBD anak.

Bahan dan cara penelitian: Subjek penelitian adalah pasien rawat inap di Bagian Anak FK-UGM/IRNA II RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta, dari bulan September 1995 sampai Desember 1996 dengan kriteria inklusi demam 2-7 hari, uji tourniquet positif, umur 0-14 tahun. Diagnosis klinis DBD didasarkan atas kriteria WHO 1986. Preparat apus darah tepi dicat dengan cat pironin menurut modifikasi Sutaryo. Persentase limfosit dihitung per 100 leukosit. Konfirmasi diagnosis dengan uji *hemagglutination inhibition* (HI) dan atau antibodi anti dengue.

Hasil penelitian: Rerata persentase limfosit pironinofilik pada infeksi dengue meningkat sampai hari ke-5 demam, kemudian turun sampai hari ke-9 demam. Ada perbedaan persentase yang bermakna antara bukan infeksi dengue dan infeksi dengue mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-7 demam, antara demam dengue (DD) dan DBD mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-6 demam, dan antara kasus tidak syok (DBD-I dan DBD-II)

dan syok (DBD-III dan DBD-IV) mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-9 demam. Limfosit pironinofilik berkorelasi positif dengan derajat keparahan dengue. Sensitivitas 86,2%, spesifisitas 84,3%, nilai ramal positif 92,6% dan nilai ramal negatif 65,1% pada hari ke-5 demam dengan titik potong ≥ 4 , yaitu pada hari ke-5 demam.

Simpulan: Limfosit pironinofilik mempunyai nilai sensitivitas dan spesifisitas tinggi untuk menunjang diagnosis DBD pada anak.

(B.I.Ked. Vo. 31, No. 4:233-241, Desember 1991)

PENGANTAR

Infeksi dengue, khususnya dalam bentuk demam berdarah, mengakibatkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi, terutama pada anak berumur 5-14 tahun, dan membuat kepanikan di masyarakat, khusus pada *outbrake*.^{1,2,3} Di Indonesia, sejak dilaporkan pertama kali pada tahun 1968, insidensi infeksi dengue terus meningkat dari 0,05 pada tahun 1968 menjadi 23,22 pada tahun 1996 setiap 100.000 penduduk. Meskipun angka kematian kasus menurun dari 41,3% pada akhir tahun 1960-an menjadi 2,7% pada tahun 1991, tetapi daerah yang terkena infeksi dengue meluas, dan sekarang semua Propinsi dan 227 Daerah Tingkat II sudah terkena.³ Masalah dengue di Indonesia diperkirakan akan meningkat terus pada masa yang akan datang. Lagi pula sampai sekarang belum ada vaksin penangkal penyakit, dana yang terbatas, dan diagnosis dini yang sukar.⁴

Salah satu faktor penting dalam upaya pemberantasan dan pengelolaan penyakit adalah diagnosis dini. Kebanyakan kematian disebabkan oleh syok, perdarahan gastrointestinal dan ensefalopati.⁵ Kejadian ini dapat dicegah dengan diagnosis dini dan perawatan yang memadai.^{2,4,6,7} Kriteria diagnosis demam berdarah dengue (DBD) yang pada dasarnya mengacu kriteria WHO (1986)⁸ tidak sesuai untuk tujuan mendiagnosis pada fase akut, karena kriteria WHO ini dibuat tidak berdasarkan uji diagnostik yang sesungguhnya.⁹ Perbedaan demam dengue (DD) dari DBD menurut kriteria WHO adalah berdasarkan adanya hemokonsentrasi dan trombositopenia (trombosit $<100.000/\text{mm}^3$). Trombositopenia juga terdapat pada DD sedangkan hemokonsentrasi pada DBD yang patogenetis terjadi akibat kebocoran plasma, secara klinis sulit dijadikan dasar terapan karena: i) kita tidak tahu hematokrit (Hct) penderita sebelum sakit, sehingga untuk memastikan hemokonsentrasi kita

harus menunggu periode konvalesen. ii) harus cukup banyak terjadi kebocoran plasma; Lagi pula, nilai Hct dipengaruhi oleh pemberian cairan (infus, transfusi plasma, transfusi darah) dan perdarahan⁹ bahkan oleh pemberian cairan oral yang banyak selama sakit.

Di samping kesulitan membuktikan hemokonsentrasi akibat kebocoran plasma yang dipandang patognomonik untuk DBD terdapat kecenderungan perubahan manifestasi klinis. Syok yang biasanya terjadi pada hari kelima sampai ketujuh demam dapat terjadi pada hari kedua dan sesudah hari ketujuh demam,⁶ sehingga kriteria WHO (1986) sulit digunakan.^{10,11} Infeksi riketsia ternyata mempunyai gejala klinis dan laboratoris mirip dengan DBD.¹² Pada bayi umur kurang dari satu tahun secara klinis DBD berbeda dengan pada anak.¹³

Diagnosis infeksi dengue dapat ditegakkan secara serologik, virologik dan molekular. Banyak kendala untuk mendiagnosis (secara dini) infeksi dengue dengan cara-cara tersebut.⁹

Pada infeksi dengue ditemukan limfosit yang banyak mengandung *ribonucleic acid* (RNA) di sitoplasmanya, yaitu limfosit yang teraktivasi, dan memberi hasil positif pada pemulasan pironin.¹⁴ Warna biru pada limfosit plasma biru (LPB) terjadi akibat kenaikan ribosom pada sitoplasma limfosit. Ribosom ini mengandung RNA.⁴ RNA dapat diwarnai dengan pironin. Warna sel yang jumlah RNA-nya meningkat berubah menjadi merah.¹⁵ Penelitian di Jepang¹⁶ menunjukkan bahwa cat pironin dapat mendeteksi limfosit yang teraktivasi.

Sampai saat ini belum ada penelitian pemulasan limfosit pada infeksi dengue dengan menggunakan cat pironin, dan nilai diagnostiknya pada infeksi dengue. Pemulasan limfosit untuk uji diagnostik infeksi dengue yang sudah diteliti adalah dengan cat May Grunwald, Giemsa, dan Wright.⁴

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik limfosit pironinofilik pada DBD pada anak.

BAHAN DAN CARA

Penelitian dilakukan dari tanggal 1 September 1995 sampai 31 Desember 1996, di Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UGM/IRNA II RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. Sampel penelitian adalah semua pasien rawat inap yang memenuhi kriteria inklusi, yaitu demam tinggi 2-7 hari, uji tourniquet positif, umur 0-14 tahun. Orang tua subjek yang memenuhi kriteria inklusi dimintai persetujuan untuk mengikuti penelitian dan diminta menandatangani formulir *informed consent*.

Pada semua pasien yang masuk penelitian dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan laboratorium. Anamnesis meliputi gejala demam, sefalgalia, artralgia, nyeri perut, perdarahan, gejala syok. Pemeriksaan fisik meliputi tanda-tanda vital, hepatomegali, tanda perdarahan, dan komplikasi infeksi dengue. Pemeriksaan laboratorium setiap hari dari saat masuk sampai sembuh atau pulang meliputi darah rutin (hematokrit, Hb, hitung leukosit, jumlah trombosit), dan persentase limfosit pironinofilik terhadap jumlah leukosit. Konfirmasi diagnosis didasarkan atas uji HI dan antibodi anti-dengue. Pembagian derajat keparahan infeksi dengue berdasarkan WHO (1986).⁸

Pemulasan limfosit pironinofilik menggunakan metode Sutaryo (1995) dengan komposisi cat: *pyronin aquosa* 5% 17,5 ml, *methyl green aquosa* 2% 120 ml. Cat *methyl green* dengan nama dagang Certistain, produksi Merck (nomor katalog: 15.944) cat *pyronin* dengan nama dagang Pyronin Y, produksi Wako Pure Chemical Industries LTD (nomor katalog: 164-11581).

Langkah-langkah pemulasan limfosit pironinofilik tersebut adalah sebagai berikut: i) preparat apus tipis darah tepi penderita dibuat setiap hari dua preparat; ii) fiksasi dengan metanol pekat selama 5 menit; iii) cuci dengan air mengalir; iv) digenangi dengan cat *methyl green pyronin* selama 30 menit dalam keadaan lembab; v) dikeringkan; vi) dihitung persentase limfosit pironinofilik dalam 100 leukosit.

Limfosit pironinofilik adalah limfosit dengan ukuran lebih besar daripada normal, sitoplasma

lebar dan berwarna merah, inti berwarna hijau kebiruan. Pemeriksaan dilakukan oleh 2 orang yang terlatih dan tidak mengetahui pasien.

Analisis statistik uji diagnostik dilakukan untuk mencari nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif, dan nilai ramal negatif. Kurva *Receiver Operator Characteristic (ROC)* untuk menentukan titik potong persentase limfosit pironinofilik yang mempunyai nilai diagnostik yang paling baik. Dicari hubungan antara keparahan DBD dengan persentase limfosit pironinofilik. Perbedaan persentase limfosit pironinofilik antara bukan infeksi dengue dan infeksi dengue, antara DD dan DBD, dan antar derajat keparahan DBD dengan uji t. Uji Kappa untuk menganalisis kesepakatan antara 2 orang pemeriksa limfosit pironinofilik.

HASIL PENELITIAN

Selama penelitian didapatkan 270 pasien yang sesuai dengan kriteria inklusi, terdiri dari 222 infeksi dengue dan 48 bukan infeksi dengue. Penentuan diagnosis infeksi dengue didasarkan atas hasil pemeriksaan uji *haemagglutination inhibition* dan/atau IgM dan IgG. Pasien dengan infeksi dengue terdiri dari 78 (35,1%) DD, 64 (28,8%) DBD derajat I (DBD-I), 41 (18,5%) DBD-II, 27 (12,2%) DBD-III, 12 (5,4%) DBD-IV. Subjek yang bukan infeksi dengue terdiri dari 34 (70,8%) infeksi saluran pernapasan akut (ISPA), 8 (16,7%) demam tifoid, dan 6 (12,5%) morbili (TABEL 1, TABEL 2, TABEL 3).

TABEL 1. - Diagnosis akhir semua kasus.

Diagnosis	Jumlah	Persentase
Infeksi dengue	222	82,2%
Bukan infeksi dengue	48	17,8%
Jumlah	270	100%

TABEL 2. - Diagnosis akhir infeksi dengue.

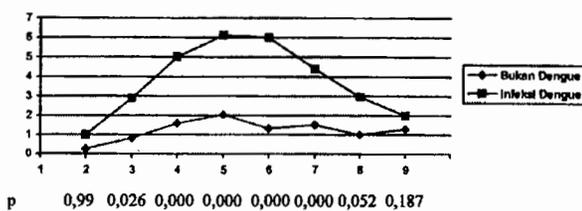
Diagnosis	Jumlah	Persentase
Demam dengue	78	35,1%
DBD-I	64	28,8%
DBD-II	41	18,5%
DBD-III	27	12,2%
DBD-IV	12	5,4%
Jumlah	222	100%

TABEL 3. – Diagnosis akhir bukan infeksi dengue

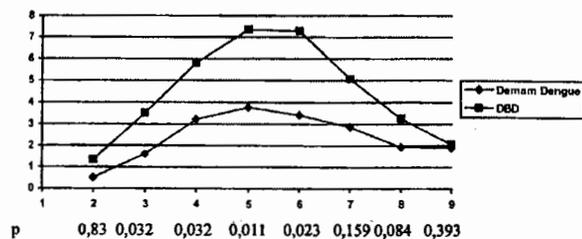
Diagnosis	Jumlah	Persentase
ISPA	34	70,88%
Demam tifoid	8	16,7%
Morbili	6	12,5%
Jumlah	48	100%

Kejadian syok pada DBD-III teramati mulai hari ke-4 demam sampai hari ke-7 demam, dan pada DBD-IV dari hari ke-4 demam sampai hari ke-6 demam. Terjadinya syok pada DBD-III pada hari ke-4 demam 44,4%, ke-5 demam 50%, ke-6 demam 27%, hari ke-7 demam 9%; syok berkepanjangan/berulang 36%. Pada DBD-IV terjadi pada hari ke-4 demam 100%, ke-5 demam 83,3%, ke-6 demam 41,6%, syok berkepanjangan/berulang 41,6%.

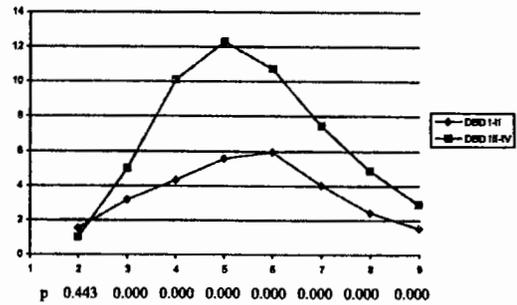
Rerata persentase limfosit pironinofilik pada infeksi dengue meningkat sampai hari kelima demam kemudian turun sampai hari kesembilan (GAMBAR 1). Ada perbedaan yang bermakna antara bukan infeksi dengue dengan infeksi dengue mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-7 demam (p: 0,026; 0,000; 0,000; 0,000; 0,000), antara DD dan DBD mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-6 demam (p: 0,041; 0,032; 0,011; 0,0231) (GAMBAR 2), dan antara infeksi dengue yang tidak syok (DBD-I dan DBD-II) dan syok (DBD-III dan DBD-IV) mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-8 demam (p: 0,000; 0,000; 0,000; 0,000; 0,000; 0,000) (GAMBAR 3).



GAMBAR 1. – Rerata persentase limfosit pironinofilik bukan infeksi dengue dan infeksi dengue, selama sakit.



GAMBAR 2. – Rerata persentase limfosit pironinofilik DD dan DBD, selama sakit.



GAMBAR 3. – Rerata persentase limfosit pironinofilik tidak syok (DBD-I dan DBD-II) dan syok (DBD-III dan DBD-IV), selama sakit.

Persentase limfosit pironinofilik didapatkan berkorelasi dengan derajat keparahan infeksi dengue. Korelasi antara hari ke-3 dan hari ke-7 demam besarnya lebih dari 0,7, dan korelasi paling kuat terdapat pada hari ke-5 demam sebesar 0,84 (TABEL 4).

TABEL 4. – Korelasi antara limfosit pironinofilik dan derajat keparahan infeksi dengue menurut hari demam.

Hari Demam	Koefisien korelasi
2	- 0,07313
3	+ 0,71776
4	+ 0,81689
5	+ 0,84584
6	+ 0,76326
7	+ 0,71651
8	+ 0,47648
9	+ 0,30284

Sensitivitas dan spesifisitas limfosit pironinofilik pada hari ke-3 demam pada titik potong ≥ 3 adalah 76,1% dan 80,6%, sedangkan pada hari ke-4 demam dengan titik potong ≥ 4 adalah 81,3% dan 80,7%. Sensitivitas dan spesifisitas pada hari ke-5 demam dengan titik potong ≥ 4 adalah 86,2% dan spesifisitas 84,3%; nilai ramal positif 92,6% dan nilai ramal negatif 65,1% (TABEL 5, GAMBAR 4).

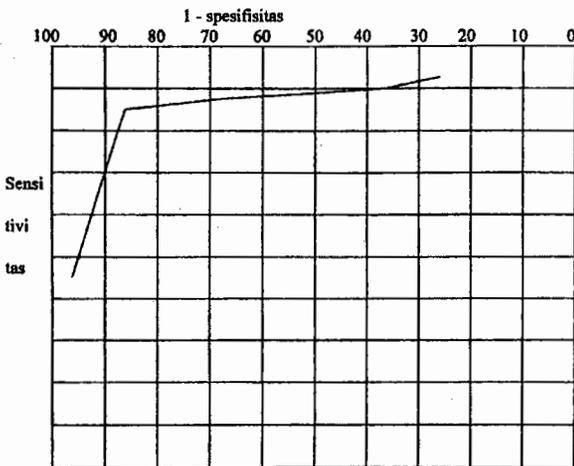
Oleh karena pemeriksaan limfosit pironinofilik subyektif, maka dilakukan penilaian kesepakatan antara 2 pengamat. Hasil nilai kesepakatan antara 2 pemeriksa adalah 0,87.

TABEL 5. - Nilai sensitivitas dan spesifisitas limfosit pironinofilik

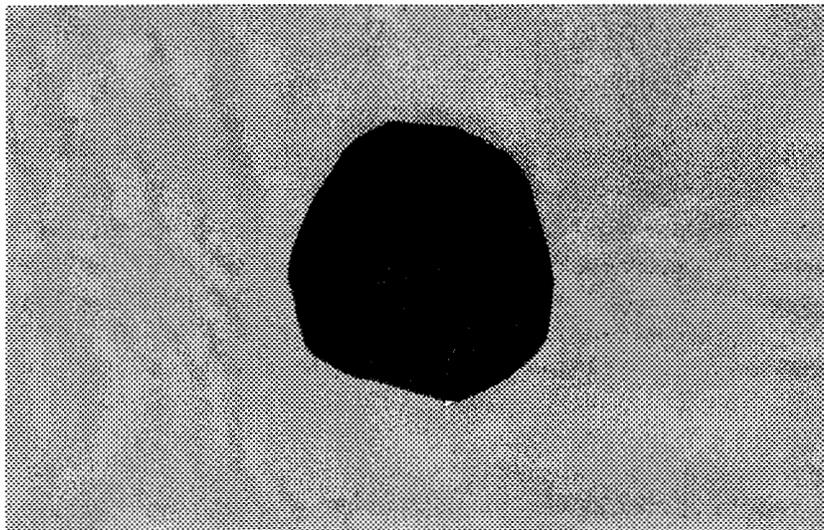
Titik Potong	HARI DEMAM															
	2		3		4		5		6		7		8		9	
	Sen	Spe	Sen	Spe	Sen	Spe	Sen	Spe	Sen	Spe	Sen	Spe	Sen	Spe	Sen	Spe
1	60	70	88,3	56,1	96,8	35,7	93,9	26,3	98,8	39,9	97,2	47,1	87,7	32,5	77,1	34,8
2	30	100	84,7	70,2	92	64,2	89,2	36,8	91,8	54,8	87,2	70,6	71,9	68,7	52,1	69,9
3	10	100	76,1	80,6	87,3	75,6	88,1	68,9	88,2	64,6	83,1	76,5	54,4	100	35,4	100
4			24	100	81,3	80,7	86,2	84,3	82,9	75,2	62	88,2				
5			20	100	42,9	81,9	79,1	89,5	68,2	84,7	43,7	95,6				
6					19	85,7	44,5	94,7	47,1	90,5	29,6	100				
7					19	89,2	22,9	100	31,7	94,8						
8					15,9	100	18,1	100	30,6	100						

PEMBAHASAN

Pada preparat apus darah tepi yang dicat dengan *methyl green* pironin menurut metoda modifikasi Sutaryo (1995) didapatkan limfosit yang besar, berbentuk bulat atau oval, sitoplasma lebar dan berwarna merah, serta inti terletak dekat salah satu tepi dinding sel dan berwarna hijau kebiruan. (GAMBAR 5). Limfosit pironinofilik berbeda dengan limfosit plasma biru dalam hal warna sitoplasma dan inti, sedangkan morfologinya sama. Pada limfosit plasma biru sitoplasmanya berwarna biru dan inti berwarna merah.⁴ Diduga bahwa nilai kesepakatan antara 2 pemeriksa (Kappa) sebesar 0,87 karena gambaran limfosit pironinofilik yang tampak sangat khas. Menurut Tumbelaka dkk¹⁷ nilai Kappa di atas 0,8



GAMBAR 4. - Kurva ROC berdasarkan sensitivitas dan spesifisitas pada hari ke-5 demam



GAMBAR 5. - Limfosit pironinofilik pada pembesaran 100

dianggap sangat baik, karena itu bisa dikatakan pemeriksaan limfosit pironinofilik tidak ada bias.

Sebagian besar limfosit T dalam sirkulasi mempunyai sitoplasma yang tipis melingkar. Setelah ada stimulasi oleh antigen, sel menjadi lebih besar dengan sitoplasma melebar dan berwarna biru tua yang disebabkan oleh RNA yang berlebih.¹⁸ Menurut Kurane dkk¹⁹, pada DBD terjadi aktivasi limfosit T. Stitt²⁰ menemukan bahwa pada awal penyakit dengue proporsi limfosit kecil meningkat, lalu diikuti limfosit besar yang dominan. Setelah itu muncul sel mononuklear yang besar dan sel transisional. Perubahan tersebut diduga karena siklus perkembangan dari muda, masak lalu menjadi tua. Sel mononuklear yang besar dan sel transisional berasal dari limfosit, hal yang serupa juga ditemukan pada penelitian Clealand.²¹ Pada limfosit yang teraktivasi terjadi transformasi blast. Limfosit menjadi mengandung RNA tinggi, sehingga pada pemulasan *methyl green* pironin mengikat pironin dan sitoplasma sel berwarna merah.

Didapatkan perbedaan yang bermakna rerata persentase limfosit pironinofilik antara DD dan DBD yang terjadi pada hari ketiga demam sampai hari keenam demam. Persentase limfosit pironinofilik pada penelitian ini berbeda dengan persentase LPB yang didapatkan oleh Sutaryo.⁴ LPB pada penelitian Sutaryo berbeda antara DD dan DBD pada hari ke-4 sampai ke-8 demam. Tidak diketahui mengapa ada perbedaan ini. Interaksi antara virus dan limfosit ditunjukkan dengan adanya antigen virus pada permukaan limfosit. Perbedaan yang bermakna ini kemungkinan karena respon imunologi terhadap limfosit yang terjadi lebih besar pada DBD dibanding pada DD.¹⁹

Limfosit pironinofilik berkorelasi dengan derajat keparahan infeksi dengue, dan ada perbedaan yang bermakna antara syok dan tidak syok antara hari ke-3 demam sampai hari ke-9 demam. Hasil penelitian di sini berbeda dengan penelitian LPB yang dilakukan oleh Sutaryo,⁴ yang menemukan antara yang syok dan tidak syok tidak berbeda bermakna. Dua variabel dikatakan berkorelasi baik bila besarnya koefisien korelasi $>0,8$, dan sedang bila koefisien korelasi $0,60-0,79$.¹⁷ Menurut Tatang dkk,²² virus yang masuk dalam tubuh banyak ditemukan ketika penderita menunjukkan gejala syok. Hasil

penelitian kami menunjukkan bahwa makin parah infeksi dengue, makin banyak limfosit pironinofilik. Kurane dkk¹⁹ melaporkan bahwa terjadi aktivasi limfosit-T pada DBD. Diduga hal ini disebabkan oleh respon imunologik limfosit yang lebih pada infeksi dengue yang makin parah. Hal ini menyokong laporan Kurane dkk¹⁹ bahwa terjadi aktivasi limfosit T pada DBD. Pada limfosit yang teraktivasi terjadi transformasi blast yang mengandung RNA tinggi; pada pemulasan Romanowsky RNA plasma limfosit akan mengikat biru metilen sehingga sel berwarna biru.

Pada analisis uji diagnostik, ditemukan nilai terbaik adalah pada titik potong persentase limfosit pironinofilik $\geq 4\%$ pada hari kelima demam. Pada titik potong ini nilai sensitivitas adalah $86,2\%$, nilai spesifisitas $84,3\%$, nilai ramal positif $92,6\%$ dan nilai ramal negatif $65,1\%$. Sutaryo⁴ menemukan nilai sensitivitas $81,33\%$, nilai spesifisitas $83,63\%$, nilai ramal positif $93,45\%$ dan nilai ramal negatif $60,93\%$ pada hari ke-5 demam dengan titik potong nilai limfosit plasma biru 4% . Nilai sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik yang didapatkan pada penelitian ini kemungkinan karena cat yang digunakan lebih peka ataupun lebih spesifik. Pada penelitian ini digunakan cat *methyl green* pironin yang merupakan cat khusus untuk RNA, sementara Sutaryo menggunakan cat May Grunwald, Wright, dan Giemsa. Namun, secara praktis perbedaan ini tidak mencolok. Nilai uji diagnostik limfosit pironinofilik yang sangat tinggi pada hari ke-4 dan ke-5, bahkan juga hari ke-6 berseduaian dengan hipotesis ini, mengingat saat-saat kritis penderita DBD terjadi pada hari-hari tersebut.

Untuk keperluan diagnosis dini, limfosit pironinofilik dapat digunakan pada hari ke-3 demam meskipun nilai sensitivitas dan spesifisitasnya lebih rendah daripada nilai pada hari ke-5 demam. Betapapun, munculnya limfosit pironinofilik bermanfaat untuk membantu menentukan apakah penderita betul-betul mengalami infeksi dengue atau tidak. Biasanya penderita infeksi dengue (DBD) mulai masuk masa kritis pada hari ke-4 demam. Pada hari ke-4 demam limfosit pironinofilik mempunyai nilai sensitivitas $81,3\%$ dan spesifisitas $80,7\%$, sehingga penanganan penderita bisa lebih baik.

Kriteria WHO untuk mendiagnosis DBD men-jaring hanya $34,2-52,1\%$ dari semua penderita

yang masuk rumah sakit dengan diagnosis ter-sangka DBD.²³ Dengan kenyataan ini maka apabila kriteria WHO ditunjang dengan limfosit pironinofilik secara paralel, sensitivitasnya akan meningkat.²⁴ Pada penelitian ini tidak dibedakan antara infeksi primer dan infeksi sekunder. Di-bandingkan uji dengue blot, nilai diagnostik lim-fosit pironinofilik lebih sensitif namun kurang spesifik. Chan dkk²⁵ melaporkan hasil uji diag-nostik dengue blot dengan baku emas uji HI sensitivitas 80,9% dan spesifisitasnya 97,2%. Namun, uji dengue blot ini mempunyai sensitivitas dan spesifisitas rendah pada infeksi primer. Untuk kasus DBD, Suharyono²⁶ menemukan sensitivitas 63% dan spesifisitas 93% pada penderita DBD yang didiagnosis berdasarkan uji HI. Soegi-janto²⁷ menemukan sensitivitas 100% dan spe-sifisitas 66,6% pada penderita DBD berdasarkan kriteria WHO (1986). Sementara itu Ling⁷ de-ngan baku emas yang sama mendapatkan nilai diagnostik dengue blot sensitivitas 55%, dan spesifisitas 99%.

DBD merupakan penyakit yang berbahaya, dan hasil keluarannya ditentukan oleh diagnosis dini. Diagnosis dini menentukan pengelolaan DBD secara dini. Makin baik diagnosis dan pengelolaan makin baik hasil keluaran.⁴ Oleh karena itu pada DBD diperlukan uji diagnostik yang mempunyai nilai sensitivitas tinggi. Penu-runan titik potong limfosit pironinofilik pada hari ke-5 demam ternyata hanya sedikit meningkatkan sensitivitas, namun spesifisitasnya berkurang banyak. Sehingga titik potong 4 cukup beralasan untuk dipakai karena sensitivitas dan spesifisitasnya cukup baik. Selain itu limfosit pironinofilik dapat membedakan antara bukan infeksi dengue dan infeksi dengue, antara DD dan DBD, dan DBD yang syok dan tidak syok pada hari ke-2 demam (spesifisitas 100%). Pada penelitian ini kasus syok paling awal terjadi pada hari ke-4 demam. Memprediksi apakah penderita DBD akan syok atau tidak, sangat bermanfaat bagi pengelola kasus DBD untuk mengantisipasi-pnya. Apalagi mengingat penyebab kematian terbanyak DBD adalah syok. Namun, sensitivitas pada hari ke-2 demam hanya 10%, sedangkan sensitivitas dan spesifisitas pada hari ke-3 demam adalah 76,1%, dan 80,2%. Spektrum penyakit pada peneli-tian ini meliputi dari tidak menderita infeksi dengue sampai dengue paling berat. Dengan de-

mikian, pemantauan persentase limfosit pironi-nofilik sejak hari ke-2 demam sangat bermanfaat untuk uji tapis maupun memperkirakan prognosis DBD, lebih-lebih bila diingat bahwa pemulasan ini sebenarnya tidak sulit dilaksanakan di pusat-pusat pelayanan kesehatan.

Limfosit pironinofilik mempunyai nilai ramal positif yang tinggi (93,45%). Hal ini berarti dari sensitivitas 86,2% sebagian besar akan betul-betul positif menderita DBD. Namun nilai ramal negatifnya rendah yaitu 60,93%. Nilai ramal positif dipengaruhi oleh prevalensi penyakit, selain oleh sensitivitas dan spesifisitasnya sendiri. Makin tinggi prevalensi makin rendah nilai ramal positif suatu uji.²⁴ Penelitian ini dilakukan di rumah sakit rujukan di mana prevalensi DBD lebih tinggi daripada di masyarakat. Karena itu, apabila limfosit pironinofilik ini dipakai di daerah, di mana prevalensi penyakit lebih rendah, maka nilai ramal positifnya akan semakin tinggi. Oleh karena prevalensi dapat bervariasi secara luas, sehingga nilai ramal baik positif dan negatif dapat bervariasi sampai dua kali lipat, maka yang lebih baik digunakan adalah sensitivitas dan spesifisitas, karena sensitivitas dan spesifisitas jarang bervariasi lebar meskipun prevalensi pe-nyakit jauh berbeda. Idealnya suatu alat diag-nostik selain mempunyai sensitivitas dan spe-sifisitas yang tinggi juga mempunyai nilai ramal positif dan negatif yang tinggi pula.²⁴

Uji diagnostik baru bisa dikatakan mempunyai nilai diagnostik yang mendekati kebenaran apa-bila hasil dari kajian sensitivitas lebih besar daripada atau sama dengan 90%, spesifisitas lebih besar atau sama dengan 95% dengan indeks Youden lebih besar atau sama dengan 0,90. Menurut Robert,⁴ suatu alat diagnostik dikatakan baik apabila memenuhi syarat sebagai berikut: cepat memberi hasil, bisa mendeteksi pada fase dini, sensitivitas >90%, spesifik (positif palsu <5%), sederhana dan murah.

Nilai-nilai pada hasil penelitian ini memang belum bisa memenuhi syarat untuk dijadikan alat diagnostik yang baik, karena nilai sensitivitas dan nilai spesifisitas masih lebih rendah daripada seharusnya. Tetapi, tampaknya metoda ini mem-punyai nilai praktis karena dapat membedakan antara bukan infeksi dengue dan infeksi dengue, DD dan DBD pada hari ke-3 demam serta berkorelasi kuat dengan derajat keparahan infeksi

dengue. Perbedaan antara bukan infeksi dengue dan infeksi dengue, serta antara DD dan DBD pada hari ke-3 demam sangat berguna dalam klinik untuk pengelolaan kasus.

SIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa limfosit pironinofilik dapat digunakan untuk menunjang diagnosis DBD pada anak dengan sensitivitas 86,2%, nilai spesifisitas 84,3%, nilai ramal positif 92,6% dan nilai ramal negatif 65,1% pada hari ke-5 demam dengan titik potong ≥ 4 .

Limfosit pironinofilik berkorelasi dengan derajat keparahan infeksi dengue, dapat membedakan antara bukan infeksi dengue dan infeksi dengue mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-7 demam, antara DD dan DBD mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-6 demam, dan antara syok dan tidak syok mulai hari ke-3 demam sampai hari ke-9 demam. Hasil ini diharapkan mempunyai manfaat praktis untuk mengelola pasien DBD.

Disarankan untuk memeriksa limfosit pironinofilik pada setiap pasien yang dicurigai infeksi dengue pada hari ke-3 demam untuk membantu mendiagnosis penyakit. Karena metode pemulasan ini masih baru perlu dimasyarakatkan terutama untuk Puskesmas yang fasilitasnya terbatas.

KEPUSTAKAAN

- Halstead SB. Dengue haemorrhagic fever a public health problem and a field for research. *Bull WHO* 1980; 56: 1-21.
- WHO. Management of Dengue Epidemic. New Delhi, 1997.
- Suroso TA. Review of Dengue Haemorrhagic Fever and its Control in Indonesia. Proceedings of the Seminar on Recent Advances in Molecular Diagnosis; Yogyakarta, 1997; Sept 20.
- Sutaryo. Limfosit Plasma Biru. Arti Diagnostik dan Sifat Imunologik pada Infeksi Dengue [Thesis]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1991.
- Soedarmo SP, Harun SR. A-20 year clinical observation on hospitalized patients with dengue haemorrhagic fever at the department of Child Health, Dr. Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta, Indonesia. Abstract of 4th International Symposium on Dengue Fever: Tahiti-French Polynesia, 1997; April 14-17.
- Harun SR. Demam Berdarah Dengue pada Anak. *MDK* 1991; 10: 14-9.
- Ling AE. Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. Proceedings of Pathology Today, Dengue Haemorrhagic Fever: Singapore, 1992, Nov.
- WHO. Dengue Hemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment and Control. Geneva: WHO, 1986.
- Sutaryo. Diagnosis, Penanganan dan Permasalahan Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Proceedings of the Seminar on Recent Advances in Molecular Diagnosis: Yogyakarta, 1997; Sept 20.
- Sunarto. Diagnostik demam berdarah dengue pada anak. *BKM* 1991; 7: 2-8.
- Sutaryo, Hartoko B. Kejadian luar biasa demam berdarah dengue: Kesulitan Diagnosis DBD di daerah pedesaan. *BKM* 1991; 7: 35-8.
- Paul SR. Arbitration of clinical diagnosis and management of dengue hemorrhagic fever. *South East Asian J Trop Med Pub Hlth* 1990; 21(4): 700.
- Trong-Lan N, Than-Hung N, Lien LB. Clinical Aspects of Dengue Hemorrhagic Fever in Infants Less Than One Year Old. Abstract of 4th International Symposium on Dengue Fever; 1997; April 14-17; Tahiti-French Polynesia.
- Cornain S, Ikeuchi H, Sumarmo. Immunological changes and recovery in patients with dengue hemorrhagic fever. *South East Asian J Trop Med Pub Hlth* 1987; 18: 340-4.
- Culling CFA. Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques. 3rd ed. London: Butterworths, 1947.
- Sutaryo. Studies on the Vasculair Endothelial Cells. JSPS Cooperation Programmes Report 1994. Japan: Kobe University.
- Tumbelaka AR, Abdoerrachman MH, Latief A, Abdulsalam M, Darwis D. Pengukuran. In: Sastroasmoro S, Ismael S, editors. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Jakarta: Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UI, 1995: 27-41.
- Hitzig W. Pathologie der Immunitat. In: Fanconi G, Walgren, editors. Lehrbuch Der Peditrie. Basel Stuttgart: Schwabe Verlag, 1972: 481-510.
- Kurane I, Innis BL, Nimmannitya S, Nisalak A, Rothman AL, Livingston PG, et al. Human immune responses to dengue viruses. *South East Asian J Trop Med Pub Hlth* 1990; 21: 658-61.
- Stitt ER. Dengue and influenza in the tropics: A method of differential diagnosis. *US Nav Med Bull* 1907; 1: 30-3.
- Clealand JB. Dengue. In: The Practice of Medicine in the Tropics. Vol. III. London: Henry Fronde, Hodder and Stoughton, 1923.
- Tatang KS, Wulur H, Sugianto D, Bartz CR. Some clinical and epidemiological observations on virologically confirmed dengue hemrrhagic fever. *Pediatr Indones* 1990; 30: 293-303.
- Soegijanto SH. Upaya Menurunkan Angka Kesakitan dan Kematian Penyakit Demam Berdarah Dengue di Era Tahun 2000. Dalam: Pidato Pengukuhan Guru Besar. Surabaya: Universitas Airlangga, 1995.
- Fletcher RH, Fletcher AW, Wagner EH. Clinical Epidemiology, the essentials. Baltimore: William & Wilkins, 1982.

25. Chan YC, Lai OF, Ngoh BL, Tan HC, Seah C, Chan L. Rapid dengue diagnosis on acute sera of patients by dengue blot and IgM ELISA. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth* 1990; 21(4): 701.
26. Suharyono W. Hasil uji coba perbandingan dengue blot dengan HI. Lokakarya Demam Berdarah Dengue. Ciloto: 1991.
27. Soegijanto SH. Evaluasi Demam Berdarah Dengue Di RSUD Dr Soetomo Surabaya. Suplemen Buku Kumpulan Makalah Seminar 3 hari; Jakarta, Indonesia, 1992 Des 4-.