

Uji Saring Antigen dan Antibodi Hepatitis C Virus pada Darah Donor

THE SCREENING OF BLOOD DONORS OF HEPATITIS C VIRUS ANTIGEN AND ANTIBODIES

Pierlita Rini^{1*}, Vivi Setiawaty², Yuyun Soedarmono¹, Fera Ibrahim

¹Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Sains Transfusi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Jl. Salemba Raya Jakarta Pusat Indonesia

²Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
Jl. Percetakan Negara No, 23 Jakarta 10560 Indonesia

³Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Jl. Salemba Raya Jakarta Pusat Indonesia

*Email: pierlita.rini@yahoo.com

Submitted : 10-6-2015, Revised : 19-6-2015, Revised : 30-7-2015, Accepted : 3-8-2015

Abstract

According to the data from Central Blood Transfusion Unit, the prevalence of hepatitis C virus (HCV) in blood donors in Indonesia and especially Jakarta in 2012 were 0.39% and 0.36% respectively. Screening of blood donor may reduce the risk of HCV transmission. Aim of this study was to know the sensitivity and specificity of the antigen-antibody serology A local of test compared to Nucleic Acid Test (NAT), should 99.8 % sensitivity and 95% specificity. 135 samples were included, 35 samples NAT HCV positive and 100 samples negative. These samples will be screened by Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) anti HCV, HCV Ag-Ab by enzyme linked immunosorbent assays (ELISA) and if there were differences results of NAT HCV, HCV CMIA and ELISA HCV Ag-Ab, the samples were examined using immunoblot HCV. Of the 135 samples, the Ag-Ab ELISA against 35 HCV RNA positive samples showed positive results also, but at 100 HCV RNA negative samples, the results showed 3 reactive and 97 non reactive. Moreover, the 35 HCV RNA positive samples were tested by anti-HCV CMIA showing the reactive results on 35 samples and in 100 HCV RNA negative samples, the results showed 11 reactive and 89 non reactive. Sensitivity of CMIA and NAT was 100%, specificity 89%. Sensitivity of Ag-Ab ELISA and NAT was 100% and specificity 97%. We concluded that the analysis of HCV by ELISA meets the standard criteria for screening of donor blood but not for CMIA.

Keywords : Hepatitis C, Anti-HCV, HCV Ab-Ag, NAT

Abstrak

Berdasarkan data dari Unit Transfusi Darah Pusat, prevalensi hepatitis C virus (HCV) pada darah donor di Indonesia dan Jakarta pada khususnya tahun 2012 adalah 0,39% dan 0,36%. Uji saring darah donor dapat menurunkan risiko tertular HCV. Penelitian ini bertujuan mengetahui sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan serologi antigen-antibodi yang memenuhi standar metoda NAT, sensitivitas 99,8% dan spesifisitas 95%. Pemeriksaan 135 darah donor, terdiri dari 35 positif dan 100 negatif dengan NAT HCV, yang diuji saring anti-HCV dengan CMIA, Ab-Ag HCV dengan ELISA dan bila ada perbedaan hasil antara NAT HCV, CMIA HCV dan ELISA Ag-Ab HCV, maka dilakukan pemeriksaan menggunakan imunoblot HCV. Dari 135 sampel, hasil ELISA Ag-Ab HCV terhadap 35 sampel positif RNA HCV juga menunjukkan hasil positif pada seluruhnya, tetapi pada 100 sampel negatif RNA HCV terdapat 3 sampel reaktif dan 97 non reaktif. Hasil pemeriksaan

CMIA anti-HCV pada 35 sampel positif RNA HCV menunjukkan reaktif pada 35 sampel dan pada 100 sampel negatif RNA HCV terdapat 11 reaktif dan 89 non reaktif. Sensitivitas CMIA dengan NAT HCV 100%, spesifisitasnya 89%. Sensitivitas ELISA dengan NAT HCV 100%, spesifisitasnya 97%. Kesimpulan dari penelitian adalah pemeriksaan Antigen-Antibodi HCV ELISA memenuhi kriteria standar untuk digunakan sebagai uji saring darah donor sedangkan pemeriksaan Antibodi HCV CMIA tidak memenuhi kriteria standar sebagai uji saring darah donor.

Kata kunci : Hepatitis C, Anti-HCV, Ab-Ag HCV, NAT

PEPENDAHULUAN

Transfusi darah merupakan salah satu bagian penting dari pelayanan kesehatan modern yang jika digunakan dengan benar dan atas indikasi dapat menyelamatkan jiwa pasien dan meningkatkan derajat kesehatan.¹ Namun meskipun manfaat transfusi darah dalam kesehatan sudah sangat jelas, transfusi darah mengandung banyak risiko, oleh karenanya berbagai pemeriksaan harus dilakukan sebelum darah ditransfusikan. Berbagai upaya telah dilakukan untuk menekan risiko transfusi, namun demikian efek samping seperti munculnya reaksi transfusi atau infeksi akibat transfusi masih mungkin tetap terjadi.^{2,3,4}

Penularan virus hepatitis baik hepatitis B ataupun C merupakan salah satu risiko pada transfusi darah. Diperkirakan 5-10% resipien transfusi darah menunjukkan kenaikan kadar enzim transaminase yang dapat merupakan salah satu petanda adanya infeksi virus hepatitis. Sekitar 90% infeksi hepatitis pasca transfusi disebabkan oleh virus hepatitis non A non B. Risiko penularan hepatitis B diperkirakan sekitar 1:200.000 dan hepatitis C lebih besar lagi yaitu sekitar 1:100.000.^{2,3,5}

Sekitar 3% ($\pm$ 170 juta) populasi dunia telah terinfeksi virus hepatitis C (*Hepatitis C Virus* = HCV) dengan angka kematian sekitar 500.000-1.000.000 pertahun. Prevalensi lebih tinggi (sampai 15%) terjadi pada beberapa negara di Afrika.^{1,2} Tiga sampai empat juta manusia mendapatkan infeksi baru tiap tahun.² Virus ini umumnya paling banyak ditemukan di area Pasifik Barat, menginfeksi sebanyak 62,2 juta orang. Bila memakai acuan angka kejadian rata-rata dunia yaitu 3% dan dikalikan jumlah penduduk Indonesia sebanyak 220 juta, maka di Indonesia diperkirakan

ada sekitar tujuh juta penduduk Indonesia yang mengidap virus ini.^{5,6,7,8} Prevalensi hepatitis C pada darah donor di Indonesia tahun 2012 menurut data dari Unit Transfusi Darah Pusat diperkirakan 0,39%. Prevalensi hepatitis C pada darah donor di Jakarta diperkirakan 0,36%.

Hepatitis C disebabkan oleh HCV. HCV adalah virus RNA yang merupakan anggota dari genus *Hepacivirus*, keluarga *Flaviviridae*. Genom virus ini merupakan untaian rantai tunggal yang panjangnya 10.000 nukleotida. HCV mengandung selubung lipid dengan diameter 50-60 nm dan sensitif terhadap pelarut organik misalnya kloroform.⁹

Pemeriksaan laboratorium hepatitis C telah dikembangkan, dari mulai pemeriksaan serologi, yakni deteksi keberadaan antibodi atau antigen HCV dengan metoda ELISA atau Immunoblot dan pemeriksaan molekular, yakni deteksi keberadaan RNA HCV dengan metoda *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *Nucleic Acid Test* (NAT).

Pada seseorang yang terinfeksi HCV, antibodi HCV dapat terdeteksi kurang lebih 5-6 minggu sesudah terinfeksi. Antibodi HCV akan bertahan dalam tubuh cukup lama, oleh karenanya keberadaan antibodi HCV menunjukkan adanya infeksi yang sudah lama atau baru. Sebelum antibodi terbentuk, untuk mengetahui adanya infeksi HCV bisa dilakukan dengan jalan mendeteksi keberadaan antigen HCV dalam darah. Oleh karena itu untuk dapat mendeteksi infeksi HCV sesegera mungkin secara serologi, telah dikembangkan metoda deteksi antigen dan antibodi HCV, yang dikenal dengan metoda ELISA HCV *Combo*.^{10,11,12}

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium

Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) di Unit Transfusi Darah Daerah (UTDD) PMI DKI Jakarta dan Laboratorium IMLTD di Unit Transfusi Darah Pusat PMI. Penelitian dilakukan mulai Maret 2013 hingga Januari 2014. Bahan penelitian adalah sampel darah lengkap dengan EDTA yang diambil dari pendonor darah yang melakukan donor darah di UTDD PMI DKI Jakarta. Sampel darah yang diperoleh adalah sebanyak 135 sampel yang diperiksa dengan NAT HCV dengan hasil 35 sampel positif dan 100 sampel negatif NAT HCV.

Uji serologi yang digunakan pada penelitian ini adalah uji serologi dengan metoda *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay* (CMIA) dengan *reagen* anti HCV Architect (Abbott, Jerman) dan metoda ELISA dengan reagen HCV Combo (Biorad, Jerman). Pemeriksaan konfirmasi dilakukan dengan metoda Imunoblot HCV Blot 3.0 (MP Diagnostics, Jerman).

Penelitian ini telah lolos uji etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia No. 149/H2.F1/ETIK/2013.

HASIL

Dari 135 darah donor yang memenuhi kriteria inklusi penelitian, pemeriksaan NAT HCV menunjukkan hasil positif pada 35 bahan penelitian (25,9%) dan hasil negatif pada 100 bahan penelitian (74,1%). Pada pemeriksaan CMIA anti-HCV menunjukkan hasil positif pada 46 bahan penelitian (36,3%) dan hasil negatif pada 86 bahan penelitian (67,3%). Sedangkan pada pemeriksaan ELISA Ag-Ab HCV menunjukan hasil positif pada 38 bahan penelitian (28,1%) dan hasil negatif pada 97 bahan penelitian (71,9%) (Tabel 1).

Pada perbandingan hasil pemeriksaan Nat HCV dengan pemeriksaan CMIA antibodi HCV terhadap 135 bahan penelitian didapatkan hasil 35 bahan penelitian positif baik oleh metoda NAT HCV maupun oleh metoda CMIA antibodi HCV. sebelas darah donor menunjukkan hasil negatif

oleh metoda NAT HCV dan positif oleh metoda CMIA antibodi HCV dan 89 bahan penelitian yang tersisa menunjukkan hasil negatif baik oleh metoda NAT HCV dan metoda CMIA antibodi HCV (Tabel 2).

Sensitivitas dari perbandingan hasil pemeriksaan metoda NAT HCV dengan CMIA Ab-HCV adalah 100%, spesifisitasnya adalah 89%, nilai duga positif 76% dan nilai duga negatif sebesar 100%.

Perbandingan hasil pemeriksaan NAT HCV dengan pemeriksaan ELISA Ag-Ab HCV terhadap 135 sampel didapatkan hasil 35 sampel positif baik oleh metoda NAT HCV maupun oleh metoda EIA Ag-Ab HCV. Tiga sampel menunjukkan hasil negatif oleh metoda NAT HCV dan positif oleh metoda ELISA Ag-Ab HCV dan 97 sampel yang tersisa menunjukkan hasil negatif baik oleh metoda NAT HCV dan metoda ELISA Ag-Ab HCV. Perbandingan hasil pemeriksaan metoda NAT HCV dengan ELISA Ag-Ab HCV dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil pemeriksaan ELISA Ag-Ab HCV memperlihatkan bahwa sensitivitasnya adalah 100%, spesifisitasnya adalah 97%, nilai duga positif 92% dan nilai duga negatif sebesar 100%.

Untuk mengetahui keberadaan antibodi dan antigen HCV pada delapan sampel dengan hasil pemeriksaan negatif oleh metoda ELISA Ab-Ag HCV dan positif oleh metoda CMIA anti-HCV; tiga sampel dengan hasil pemeriksaan positif baik oleh metoda ELISA Ab-Ag dan CMIA anti-HCV dilakukan pemeriksaan imunoblot HCV (Tabel 4). Dari 11 darah donor dengan hasil pemeriksaan Ab-HCV dengan metoda CMIA antibodi HCV reaktif, pemeriksaan konfirmasi dengan imunoblot HCV menunjukkan hasil positif pada empat sampel, yakni nomor 1, 4, 10, 11; hasil positif lemah pada dua sampel, yakni nomor 2 dan 8; *indeterminate* pada satu sampel, yakni nomor 3 dan negatif pada empat sampel yakni nomor 5, 6, 7 dan 9.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan HCV dengan berbagai metode pemeriksaan

Jumlah Total Bahan Penelitian yang diperiksa	NAT HCV		CMIA Ab-HCV		ELISA Ag-Ab HCV	
	Positif	Negatif	Reaktif	NonReaktif	Reaktif	NonReaktif
135	35	100	46	89	38	97

Tabel 2. Perbandingan hasil pemeriksaan metoda NAT HCV dengan CMIA Ab-HCV

	CMIA Ab-HCV Reaktif	CMIA Ab-HCV NonReaktif	Total Bahan Penelitian
NAT HCV positif	35	0	35
NAT HCV negatif	11	89	100
Total darah donor	46	68	135

Tabel 3. Perbandingan hasil pemeriksaan metoda NAT dengan ELISA

	ELISA Ag-Ab HCV Reaktif	ELISA Ag-Ab HCV NonReaktif	Total darah donor
NAT HCV positif	35	0	35
NAT HCV negatif	3	97	100
Total darah donor	38	97	135

Tabel 4. Perbandingan hasil NAT HCV, CMIA HCV, ELISA Ag-Ab dan Imunoblot HCV

No	NAT	CMIA	ELISA	No.	Imunoblot (Protein Bands)						Interpretasi
		Ab HCV	Ag-Ab HCV		Strip	Core	NS3-1	NS3-2	NS4	NS5	
1	NR	R	NR	1	-	-	V	-	V	-	Positif 2+
2	NR	R	NR	2	-	-	V	V	-	-	Positif 2+
3	NR	R	NR	3	-	-	-	V	-	-	Indeterminate
4	NR	R	NR	4	-	-	V	-	-	-	Positif 1+
5	NR	R	NR	5	-	-	-	-	-	-	Negatif
6	NR	R	NR	6	-	-	-	-	-	-	Negatif
7	NR	R	NR	7	-	-	-	-	-	-	Negatif
8	NR	R	NR	8	-	-	V	V	-	-	Positif 2+
9	NR	R	R	9	-	-	-	-	-	-	Negatif
10	NR	R	R	10	V	V	V	V	-	-	Positif 4+
11	NR	R	R	11	V	-	-	-	-	V	Positif 2+

Keterangan: - NR= Non Reaktif

- R = Reaktif

PEMBAHASAN

Pada seseorang yang terinfeksi HCV, sebagaimana diketahui akan memberikan respons berupa produksi antibodi spesifik yakni anti-HCV. Oleh karena itu untuk diagnosis infeksi HCV dapat didasarkan pada deteksi adanya anti-HCV dengan pemeriksaan *immunoassay*. Anti-HCV dapat terdeteksi didalam darah pada 30 sampai 60 hari sesudah terinfeksi. Sebelum adanya respon pembentukan anti-HCV, didalam darah sebenarnya dapat dideteksi keberadaan RNA HCV dan antigen HCV. Antigen HCV biasanya ditemukan pada 0 sampai 20 hari setelah RNA

HCV pertama muncul. Sedangkan anti-HCV dapat terdeteksi antara 10-40 hari setelah antigen HCV terdeteksi.¹⁰ Mengacu pada perjalanan respon serologi tersebut diatas, maka bila anti-HCV belum ditemukan, pemeriksaan dapat dilanjutkan dengan pemeriksaan RNA HCV dengan metode molekuler PCR real-time.¹³ Uji saring darah donor yang ditujukan terhadap RNA HCV dapat mengurangi masa jendela infeksi karena RNA HCV muncul paling awal sebelum terdeteksinya anti-HCV, bahkan sebelum terdeteksinya antigen HCV.¹⁰

Dari Tabel 1, 135 sampel yang diperiksa dengan pemeriksaan ELISA Ag-Ab HCV menunjukkan hasil positif pada 38 sampel dan hasil negatif pada 97 sampel. Sedangkan pemeriksaan

CMIA anti-HCV menunjukkan hasil positif pada 46 sampel dan hasil negatif pada 89 sampel. Dari perbandingan hasil pemeriksaan serologi ELISA antibodi dan antigen HCV dengan pemeriksaan serologi CMIA antibodi HCV terhadap 135 sampel penelitian didapatkan hasil 3 sampel positif baik oleh metoda ELISA Ab-Ag HCV maupun oleh metoda CMIA anti-HCV. 8 sampel menunjukkan hasil negatif oleh metoda ELISA Ab-Ag HCV dan positif oleh metoda CMIA anti-HCV dan 89 sampel yang tersisa menunjukkan hasil negatif baik oleh metoda ELISA Ab-Ag HCV dan metoda CMIA antibodi HCV.

Sebelas sampel yang reaktif baik dengan metoda CMIA antibodi HCV dan atau ELISA Ab-Ag HCV dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan imunoblot HCV yang berguna untuk mendeteksi adanya antibodi HCV. Dari Tabel 2, dapat dilihat hasil pemeriksaan konfirmasi imunoblot HCV. Delapan sampel dengan hasil pemeriksaan positif oleh metoda CMIA anti-HCV dan negatif oleh pemeriksaan ELISA Ab-Ag HCV, pemeriksaan konfirmasi dengan metoda imunoblot HCV menunjukkan hasil positif pada dua sampel, positif lemah pada dua sampel, *indeterminate* pada satu sampel dan negatif pada tiga sampel. Lebih lanjut pada tiga sampel dengan hasil pemeriksaan positif baik oleh metoda ELISA Ab-Ag dan CMIA anti-HCV, pemeriksaan dengan metoda imunoblot HCV menunjukkan hasil positif pada dua sampel dan hasil negatif pada satu sampel.

Secara teknologi, metoda antibodi HCV CMIA menggunakan mikropartikel yang berbentuk bulat sebagai pembawa antigen HCV. Sedangkan metoda Ag-Ab ELISA menggunakan sumur/*well* sebagai pembawa Ag HCV dan anti-HCV. Permukaan mikropartikel lebih luas jika dibandingkan dengan permukaan sumur, dengan demikian jumlah Ag HCV yang dapat dilekatkan pada mikropartikel jauh lebih banyak dibandingkan jumlah Ag HCV yang mampu dilekatkan pada permukaan sumur. Selain itu pada metoda Ag-Ab Elisa, selain Ag HCV, juga anti-HCV dilekatkan pada permukaan sumur, sehingga jumlah Ag HCV yang melekat menjadi jauh lebih sedikit lagi. Hal inilah yang dapat dijadikan kemungkinan terjadinya hasil positif palsu lebih banyak pada metoda anti-HCV CMIA.¹⁴

Pada kasus pemeriksaan dengan NAT RNA negatif tetapi dengan pemeriksaan CMIA anti-HCV reaktif dapat disebabkan karena titer dari RNA HCV dalam sirkulasi darah masih sedikit atau dengan kata lain jumlah virus yang berada dalam sirkulasi (*viral load*) dibawah dari limit deteksi dari alat otomatis untuk pemeriksaan RNA HCV.

KESIMPULAN

Pemeriksaan antigen-antibodi HCV ELISA memenuhi kriteria standar untuk digunakan sebagai uji saring darah donor yang ditunjukkan dengan nilai sensitifitas 100%, spesifisitas 92%, nilai duga positif 92% dan nilai duga negatif 100%. Pemeriksaan antibodi HCV CMIA tidak memenuhi kriteria standar untuk digunakan sebagai uji saring darah donor yang ditunjukkan dengan nilai sensitifitas 100%, spesifisitas 89%, nilai duga positif 76% dan nilai duga negatif 100%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Dr.rer. physiol.dr. Septelia Inawati Wanadi, dan segenap jajaran staf pengajar di Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk menimba ilmu di Universitas Indonesia. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada Rini Sutiyoso selaku Ketua PMI DKI Jakarta dan dr. Salimar Salim, MARS selaku Direktur Unit Donor Darah PMI DKI Jakarta. Ucapan terima kasih kepada PT Abbott Indonesia yang telah memberikan beasiswa, Nurhayati Kepala Seksi IMLTD UDD PMI DKI Jakarta, Arfat selaku Kepala Bidang Rujukan Nasional UDD Pusat PMI.

DAFTAR RUJUKAN

1. Strauss RG. Transfusi Darah dan Komponen Darah, dalam Nelson Ilmu Kesehatan Anak (Nelson Textbook of Pediatrics). Jakarta. EGC; 1996; 2; (15): 1727-1732.
2. Ramelan S, Gatot D. Transfusi Darah Pada Bayi dan Anak Dalam Pendidikan Kedokteran

- berkelanjutan (Continuing Medical Education) Pediatrics Updates. Jakarta: IDAI cabang Jakarta; 2005.P.21-30
3. Djajadiman Gatot. Penatalaksanaan Transfusi Pada Anak dalam Updates in Pediatrics Emergency. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2002.P.28-41
4. Palang Merah Indonesia. Pelayanan Transfusi Darah. 2002. Diakses melalui <http://www.palangmerah.org/pelayanantransfusi.asp> pada tanggal 5 Desember 2012.
5. WHO.Hepatitis.Global Alert and Response. 2010. Diakses melalui <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/en/index.html> pada tanggal 5 Desember 2012.
6. Holmberg S. Hepatitis C. Center for Disease Control and Prevention. 2009, July 27. Diakses melalui <http://www.nc.cdc.gov/travel/yellowbook/2010/chapter-5/hepatitis-c.aspx> pada tanggal 7 Desember 2012.
7. Hepatitis C Virology. Brown University Website. Diakses melalui <http://www.brown.edu/Courses/Bio160/Projects2000/HepatitisC/hcvirology.html> pada tanggal 7 Desember 2012
8. WHO. Hepatitis C. The World Health Organization Web Site. Diakses melalui http://www.who.int/vaccine_research/disease/viral_cancers/en/index2.html pada tanggal 7 Desember 2012.
9. Servoss JC, Friedman LS, Dienstag JL. Diagnostic approach to viral hepatitis. Dalam: Lemon S, Thomas HC, Zuckerman AJ, Penyunting. Viral Hepatitis 3rd edition. UK: Blackwell Publishing; 2005: 50-62. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seef LB, *Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C. Hepatology* 2004: 39(4); 1147-1171.
10. WHO. Recommendations: *Screening of Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections; Recommendations to blood transfusion services*. 2010.
11. Fang CT. Fluctuation of HCV viral load before seroconversion in healthy volunteer donor. *Transfusion*. 2003; 43:541-44.
12. Laperche S, Nadine LM, Annie G, Francoise B, Annabelle SD, Michele MM et all. Simultaneous Detection of Hepatitis C Virus (HCV) Core Antigen and HCV Antibody Improves the Early Detection of HCV Infection. *J.Clin.Microbiol.* 2005; 43(8):3877.
13. Architect Anti-HCV Assay, diakses melalui www.abbott.laboratories pada tanggal 7 Desember 2012
14. Constantine T.N, Saville RD, Dax E.M. *Retroviral testing and quality assurance: Essential for laboratory diagnosis*. Canada: Medmira Laboratories; 2005.