

Vol. 18, No. 2 Maret 2012

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 18	No. 2	Hal. 77–146	Surabaya Maret 2012	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-------------	------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Korelasi Kadar Crp, TNF- α dan <i>Bone Mineral Density</i> dengan <i>Carboxyterminal Crosslinked Telopeptide Type I of Collagen</i> di Penderita Arthritis Reumatoid <i>(Correlation Between CRP, TNF-α and Bone Mineral Density with Carboxyterminal crosslinked Telopeptide Type I of Collagen in Rheumatoid Arthritis Patients)</i>	77-82
Kusworini Handono, BP Putra Suryana, Sulistyorini	
Korelasi antara Kadar Interferon- γ Plasma dengan Jumlah Viral Load di Penderita HIV <i>(Correlation of Plasma Interferon-γ and Viral Load in HIV Patients)</i>	83-86
Hermi Indita, Endang Retnowati, Erwin Astha Triyono	
Keterkaitan Antigen NS1 Infeksi Virus Dengue dengan Serotipe Virus Dengue <i>(NS1 Antigen Dengue Virus Infection Associated with Serotypes of Dengue Virus)</i>	87-91
Roudhotul Ismailly Noor, Aryati, Puspa Wardhani	
Nilai Rujukan Free Light Chain Serum dengan Imunoturbidimetri <i>(The Reference Value of Serum Free Light Chain with Immunoturbidimetry)</i>	92-96
Lidya Utami, Riadi Wirawan, Alida R Harahap, Abdul Muthalib, Harny Edward	
Acetosal, Buah Mengkudu (<i>Morinda Citrifolia L.</i>) dan Waktu Perdarahan <i>(Acetosal, Noni Fruits Extract (<i>Morinda citrifolia L.</i>) and Bleeding Time)</i>	97-104
I Wayan Putu Sutirta Yasa, Ketut Widyan Astuti, I Gusti Made Aman	
Analisis Pola Human Lekocyte Antigen (HLA) Kelas I pada Penderita Demam Berdarah Dengue Populasi Indonesia di Jawa Timur <i>(Analysis of HLA Class I on Dengue Haemorrhagic Fever Indonesian Population in East Java)</i>	105-110
E.M. Judajana, Paulus Budiono, Indah Nuraini	
Analisis Filogenetik Dengue di Indonnesia <i>(Phylogenetic Analysis of Dengue Virus in Indonesia)</i>	111-116
Aryati	
<i>Diagnostic of C-reactive Protein in Febrile Children</i> (Nilai Diagnostik C-Reactive Protein pada Anak Demam)	117-123
Johanis, Aryati, Dominicus Husada, Djoko Marsudi, M. Y. Probohoesodo	
Uji Diagnostik Metode Imunositokimia NS1 Virus Dengue, untuk Diagnosis Infeksi <i>(Diagnostic Test Method for Immunocytocochromical NS1 of Dengue Virus, for Infection Diagnosis)</i>	124-128
Nafiandi, Elyza Nasrul, Rismawati Yaswir	
Ekspresi Koreseptor Human Immunodeficiency Virus CCR5 dan CXCR4 pada Subset Sel Limfosit T Serta Monosit <i>(Human Immunodeficiency Virus Coreceptor CCR5 and CXCR4 Expression on Lymphocyte T Subset and Monocyte)</i>	129-133
Agnes Rengga Indrati, Hinta Meijerink, Herry Garna, Bachti Alisjahbana, Ida Parwati, Reinout van Crevel, Andre van der Venn	

TELAAH PUSTAKA

Sindrom Hormon Antidiuretik Berlebih <i>(Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone (SIADH))</i>	134-140
Arleen N. Suryatenggara, Dalima A. W. Astrawinata	

LAPORAN KASUS

Penderita Dengan Hemokromatosis Primer <i>(Patient with Primary Hemochromatosis)</i>	141-144
Kadek Mulyantari, A.A.Wiradewi Lestari, A.A.N. Subawa, Tjokorda Gede Oka, Sudewa Djelantik.....	141-144
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	145-146

KORELASI ANTARA KADAR INTERFERON- γ PLASMA DENGAN JUMLAH VIRAL LOAD DI PENDERITA HIV

(Correlation of Plasma Interferon- γ and Viral Load in HIV Patients)

Hermi Indita¹, Endang Retnowati¹, Erwin Astha Triyono²

ABSTRACT

The incidence of HIV is increasing in Indonesia and Asia as well, Indonesia is considered as the most rapid. One of the diagnostic tools for diagnosing HIV is by viral load. Lymphocyte T-CD8⁺ secreted IFN- γ will inhibit replication of HIV virus through the induction of antiviral protein and the host immune response, which kills infected cells. An examination of plasma IFN- γ and viral load will be more convincing for the treatment and/or to know the progressiveness of HIV & AIDS. The aim of this study is to know the correlation between plasma IFN- γ and viral load in HIV patients. Forty two samples from HIV patients were collected at the Intermediate Care and Infectious Disease Unit of Dr. Soetomo Hospital, Surabaya from April to June 2011. The concentration of plasma IFN- γ was measured by ELISA (eBioscience) method and the amount of viral load was measured using PCR Cobas Amplicor (Roche Diagnostics). The level of plasma IFN- γ in this study was found 11.4 pg/mL up to 576 pg/mL and the level of viral load was 589 copies/mL up to 510.000 copies/mL. The statistical analysis showed no significant correlation ($p>0.05$) between plasma IFN- γ level and viral load in HIV patients, and no correlation was found between IFN- γ plasma and viral load in HIV patients.

Key words: IFN- γ , viral load, HIV

ABSTRAK

Kejadian infeksi HIV di Indonesia semakin meningkat, dan dibandingkan dengan seluruh negara di Asia, tergolong yang paling cepat. Salah satu sarana diagnosis dan pemeriksaan untuk mendiagnosis HIV adalah pemeriksaan muatan virus (viral load). IFN- γ yang dikeluarkan oleh sel T-CD8 akan menghambat penggandaan (replikasi) virus HIV melalui imbasan protein antiviral dan respons imun inang yang akan membunuh sel yang terinfeksi. Pemeriksaan muatan virus yang digabung dengan pemeriksaan IFN- γ akan lebih meyakinkan peklinik dan akan lebih bermanfaat dalam memberikan penatalaksanaan maupun dalam menentukan tingkat keparahan penyakit HIV dan AIDS. Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan kenasabhan antara kadar interferon- γ plasma dan jumlah muatan virus di penderita HIV. Empat puluh dua sampel (42) penderita HIV di Unit Perawatan Intermediet dan Penyakit Infeksi RSUD Dr. Soetomo Surabaya di periksa selama bulan April–Juni 2011. IFN- γ diperiksa menggunakan metode ELISA (eBioscience) dan jumlah muatan virus menggunakan PCR Cobas Amplicor (Roche Diagnostics). Kadar IFN- γ plasma penderita yang terinfeksi HIV berkisar antara 11,4 pg/mL hingga 576,2 pg/mL. Jumlah muatan virus di penderita terinfeksi HIV berkisar antara 589 kopi/mL hingga 510.000 kopi/mL. Hasil analisis statistik menunjukkan kenasabhan yang tidak berarti ($p>0,05$) antara kadar IFN- γ plasma dengan jumlah muatan virus di penderita terinfeksi HIV. Tidak ada kenasabhan antara IFN- γ plasma dan jumlah muatan virus di penderita HIV.

Kata kunci: IFN- γ , muatan virus, HIV

PENDAHULUAN

Kejadian infeksi HIV di Indonesia meningkat, dibandingkan seluruh negara di Asia tergolong yang paling cepat. Pengidap HIV dan AIDS terbesar di Indonesia saat ini berusia 15–29 tahun. Secara akumulatif kasus AIDS di Indonesia mencapai 21.770 kasus (Juni 2010), sedangkan kasus HIV positif pada Juni 2010 mencapai 44.292 kasus di 32 provinsi dan 300 kabupaten/kota. Penurunan produktivitas yang diakibatkan HIV dan AIDS lebih besar dibandingkan dengan yang diakibatkan oleh penyakit lain.¹

Salah satu sarana diagnosis dan pemeriksaan untuk mendiagnosis HIV adalah pemeriksaan *viral load*. Pemeriksaan *viral load* ialah mengukur jumlah virus

HIV dalam setiap *millimeter* darah. Semakin banyak jumlah partikel virus HIV dalam darah semakin cepat sel limfosit-T CD4⁺ dihancurkan, pasien akan cepat menuju kearah AIDS.² Pemeriksaan *viral load* apabila digabung dengan pemeriksaan limfosit-T CD4⁺ akan memberi manfaat, antara lain: mengetahui bagaimana tubuh melawan HIV, dapat digunakan sebagai diagnosis karena dapat menemukan kandungan *viral load* setiap saat setelah terinfeksi HIV, memperkirakan kebahayaan ke arah AIDS, dan juga dapat mengetahui ketepat-gunaan pengobatan.^{3,4}

Perjalanan penyakit infeksi HIV melibatkan keseimbangan respons *T-helper* 1 (Th1) dan *T-helper* 2 (Th2). Pada peningkatan keparahan penyakit akan terjadi dominasi respons *T-helper* 2 (Th2). Sejumlah

¹ Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/Dr. Soetomo Hospital, Surabaya. E-mail: hermi_indita@yahoo.com

² Unit HIV dan AIDS, Bagian Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/Dr. Soetomo Hospital, Surabaya

sitokin yang dihasilkan oleh Th1 (IL-2, IL-12, dan IFN- γ) akan menurun dan sejumlah sitokin yang dihasilkan oleh Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) akan meningkat.⁵⁻⁷ IFN- γ yang dikeluarkan oleh sel T-CD8 akan menghambat penggandaan virus HIV melalui imbasan protein antivirus dan respons imun inang yang akan membunuh sel terinfeksi.⁸

Pedoman untuk memulai pemberian pengobatan dan penentuan keparahan penyakit di penderita HIV dan AIDS selain klinis adalah jumlah *viral load* dan limfosit T-CD4 $^{+}$. Dalam keadaan tertentu, kadang klinis susah ditentukan dan hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4 $^{+}$ masih tinggi dan belum dalam batas pemberian pengobatan Anti-Retro Virus (ARV) mengingat banyak faktor yang mempengaruhi hasil periksaan limfosit-T CD4 $^{+}$.^{4,5,9} Dalam keadaan tersebut pemeriksaan IFN- γ perlu dilakukan untuk meyakinkan kepada peklinik tentang tingkat perkembangan penyakit pasien, karena pada peningkatan keparahan penyakit juga disertai penurunan kadar IFN- γ . Pemeriksaan *viral load* yang digabung dengan pemeriksaan IFN- γ akan lebih meyakinkan peklinik dan akan lebih bermanfaat dalam memberikan penatalaksanaan maupun dalam menentukan tingkat keparahan penyakit HIV dan AIDS. Peran IFN- γ di penderita terinfeksi HIV belum banyak dibahas dan diketahui sepenuhnya. Pada penelitian ini, peneliti ingin meneliti kenasaban antara kadar IFN- γ plasma dan jumlah *viral load*.

METODE

Jenis penelitian adalah pengamatan analitik dengan rancangan potong lintang. Populasi dalam penelitian ini adalah penderita HIV stadium 1, tanpa gejala dan mampu berkegiatan normal, dewasa (umur >12 tahun) dan dirawat di Unit Perawatan Intermediet Penyakit Infeksi (UPIPI) RSU Dr. Soetomo. Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2011.

Tatalangkah pemeriksaan

Pemeriksaan plasma IFN- γ dan *viral load* di lakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSU Dr. Soetomo Surabaya. Asas pemeriksaan plasma IFN- γ adalah *solid phase sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. *Anti-human IFN- γ Ab* yang dilapiskan di sumuran akan berikatan dengan *human IFN- γ* yang terdapat di sampel. Ditambahkan *biotin-conjugated anti-human IFN- γ antibody* yang akan berikatan dengan *human IFN- γ captured* oleh antibodi pertama. Lalu ditambahkan streptavidin-HRP yang akan terikat dengan *biotin-conjugated anti-human IFN- γ antibody*, selanjutnya ditambahkan substrat TMB. Serapan masuk diukur pada 450 nm.

Pemeriksaan *viral load* menggunakan metode PCR. Asasnya adalah dengan menguatkan (amplifikasi) atau penggandaan terhadap terhadap target urutan/ sekuen nukleotida secara berulang-ulang, sehingga didapat jutaan salinan/turunan yang disebut amplikon. Amplikon digiatkan dengan reagensia khas, sehingga dapat dihitung jumlah partikel virus HIV dalam setiap milliliter darah yang diperiksa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ciri sampel

Jumlah sampel penelitian 42 orang. Ciri sampel tercantum di tabel 1.

Tabel 1. Ciri sampel

Jenis kelamin	Laki-laki	22 (52,4%)
	Perempuan	20 (47,6%)
Orientasi seks	Berhubungan kelamin layak (Heteroseksual)	35 (85,4%)
	Berhubungan kelamin sesama (Homoseksual)	7 (16,6%)
Umur	Rerata	32 tahun
	SD	7,2 tahun
	Rentang	21–47 tahun
Pekerjaan	Swasta	22 (53,7%)
	Ibu Rumah Tangga	13 (31,0%)
	PSK	2 (4,8%)
	Mahasiswa	2 (4,8%)
	Petani	1 (2,4%)
	Tidak bekerja	2 (4,9%)
Faktor kebahayaan	Tertular dari pasangan (suami/istri)	16 (38,2%)
	Seks Bebas	14 (33,3%)
	Homoseksual	7 (16,7%)
	Pengguna obat terlarang lewat vena (<i>intravenous drug user</i>)	5 (11,9%)
Status perkawinan	Menikah	28 (64,5%)
	Belum menikah	14 (33,5%)

Hasil periksaan kadar IFN- γ plasma penderita HIV

Kadar IFN- γ plasma penderita terinfeksi HIV berkisar antara 11,4 pg/mL hingga 576,2 pg/mL dengan rerata 39,3 pg/mL dan SD 85,31 pg/mL.

Hasil periksaan jumlah *viral load* penderita HIV

Jumlah *viral load* penderita terinfeksi HIV berkisar antara 589 kopi/mL hingga 510.000 kopi/mL dengan rerata 131.213,55 kopi/mL dan simpang baku (standar deviasi) 146.657,84 kopi/mL.

Analisis kenasaban hasil periksaan kadar IFN- γ plasma dengan jumlah viral load penderita terinfeksi HIV

Didasari data hasil periksaan kadar IFN- γ plasma dan jumlah *viral load* dilakukan analisis statistik menggunakan uji kenasaban Pearson (*Pearson Product Moment Correlation*) untuk menentukan kenasaban antara kadar IFN- γ plasma dan jumlah *viral load* penderita terinfeksi HIV. Hasil analisis menunjukkan kenasaban yang tidak berarti ($p>0,05$) antara kadar IFN- γ plasma dengan jumlah *viral load* penderita terinfeksi HIV.

Hasil telitian menunjukkan tidak ada kenasaban antara kadar IFN- γ plasma dan jumlah *viral load* hal ini kemungkinan disebabkan oleh respons imun yang berbeda di setiap penderita. Perbedaan respons imun ini menyebabkan penggandaan virus HIV di setiap penderita juga berbeda. Di penderita dengan jumlah limfosit T-CD4 $^{+}$ yang masih tinggi memiliki respons imun terbaik untuk melawan infeksi virus, sehingga kadar IFN- γ masih relatif tinggi, tetapi di penderita dengan jumlah limfosit T-CD4 $^{+}$ yang rendah (<350 sel/ μ L) biasanya sudah terjadi gangguan respons imun, dan didapatkan kadar IFN- γ yang relatif rendah.

Hasil telitian terdahulu terdapat perbedaan hasil kenasaban antara respons CTL (*Cytotoxic T lymphocyte*) yang menghasilkan IFN- γ dan *viral load*. Beberapa telitian menunjukkan adanya kenasaban positif antara CTL yang menghasilkan IFN- γ dan *viral load*, sebaliknya beberapa telitian menunjukkan adanya kenasaban negatif. Beberapa kajian terbaru mengatakan tidak terdapat kenasaban antara respons CTL dengan *viral load*. Kenasaban yang positif didapatkan di penderita yang sudah mendapatkan *highly active antiretroviral therapy* (HAAT), sedangkan kenasaban negatif didapatkan *rapid virus rebound* atau jumlah CD4 $^{+}$ relatif tinggi. Perbedaan kenasaban ini dapat disebabkan oleh perbedaan pemeriksaan, target bermacam epitop terhadap genom virus, perbedaan masa penyakit serta perbedaan kelompok populasi. Ditunjukkan juga bahwa perbedaan dalam sebaran geografik *alleles HLA* berperan dalam pembatasan MHC kelas 1 terhadap penunjukkan epitop, sehingga menghasilkan perbedaan setiap populasi atau kelompok kesukuan. HLA-A 29 dan HLA-B22 ditunjukkan berkaitan dengan keparahan yang cepat, sedangkan HLA B14 dan HLA C8 berhubungan dengan keparahan lambat.¹⁰ Pada penelitian yang dilakukan ini, hanya dibatasi untuk penderita HIV masa penyakit 1 yang belum mendapatkan pengobatan, yang memiliki jumlah limfosit T-CD4 $^{+}$ yang beragam yang mencerminkan status imun penderita, sehingga kadar IFN- γ penderita HIV juga beragam.

Telitian yang dihasilkan Gab *et al*⁸ di Korea menyimpulkan bahwa respons IFN- γ yang dibentuk

oleh CTL yang tergiatkan terhadap penggandaan virus HIV di orang Korea dengan *Primary HIV Infection* (PHI) tidak menunjukkan kenasaban yang menetap dan masih kontroversial. Penelitian ini mengatakan bahwa di tahap pra perubahan serum (preserokonversi) didapatkan kenasaban negatif ($r=-0,22$ sampai $r=-0,33$) karena respons CTL tidak cukup tergiatkan dalam mengendalikan penggandaan virus. Setelah tahap ini, kenasaban berubah dari negatif menjadi positif ($r=0,132$ sampai $0,852$) karena respons CTL meningkat untuk mengendalikan peningkatan *viral load*. Selama masa waktu serokonversi sampai titik letak virus (*viral set point*), yaitu tempat kepekatan virus terjaga, kenasaban antara penggandaan virus dan respons imun inang berubah dinamis ($r=-0,195$ sampai $r=-407$). Hal itu karena respons CTL dan *viral load* berhubungan selama keparahan penyakit, sehingga, setiap perseorangan memiliki kenasaban yang berbeda antara respons CTL dan *viral load* di PHI. Tahapan klinis setiap subjek merupakan faktor penting bagi respons CTL dalam mengendalikan penggandaan virus dan juga kenasabannya terhadap *viral load*. Pada penelitian yang di lakukan oleh Gab *et al*. ini, digunakan sampel *cryopreserved PBMC*, sedangkan penelitian yang dilakukan para peneliti ini menggunakan sampel plasma heparin, sehingga hasil yang didapatkan kemungkinan juga berbeda.⁸

Penelitian yang dilakukan oleh Yoaf *et al.*, 2004¹¹ mengatakan bahwa IFN- γ bukan merupakan mekanisme yang berpeluang sebagai pengendali. Sekresi molekul penyebab seperti IL-2, TNF- γ dan IFN- γ berkurang secara cepat, tetapi IFN- γ kadar yang paling sedikit berkurang. Didasari telitian ini dapat disimpulkan bahwa sekresi IFN- γ (*IFN- γ secretion*) HIV yang khas tidak bernasab dengan penurunan Limfosit T-CD4 $^{+}$ dan *viral load*, sehingga keadaan tersebut tidak berhubungan dengan pengendalian dan keparahan penyakit.¹¹

SIMPULAN DAN SARAN

Kadar INF- γ pada penelitian ini adalah 11,40 pg/mL hingga 576,2 pg/mL, sebagian besar ($>73\%$) memiliki kadar di atas 20 pg/mL, sedangkan jumlah *viral load* berkisar antara 589 kopi/mL hingga 510.000 kopi/mL, hampir separuh (44%) memiliki jumlah di atas 100.000 kopi/mL. Tidak didapatkan kenasaban antara kadar IFN- γ dan *viral load*, sehingga IFN- γ belum dapat di sarankan untuk menentukan keparahan penyakit HIV.

Penelitian perlu dilakukan dengan populasi yang lebih luas yang melibatkan penderita terinfeksi HIV pada masa penyakit yang lebih lanjut dan yang sudah mendapatkan pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Laporan Perkembangan HIV dan AIDS di Indonesia tahun 2010; 3–4.
2. Depkes RI. Pedoman Pelayanan Konseling dan Testing HIV/AIDS Secara Sukarela (Voluntary Counselling and Testing). Jakarta, Depkes 2007; 1–4.
3. Nasronudin. Patofisiologi Infeksi HIV. HIV dan AIDS Pendekatan Biologi Molekuler, Klinis, dan Sosial. Surabaya, Airlangga University Press, 2007; 19–24.
4. Depkes RI. Pedoman Nasional Terapi Antiretroviral. Jakarta, Depkes 2007; 1–12.
5. Gallant JE, Hoffmann C. CD4 Cell Count. HIV Guide. 2008.
6. Stylianou E, Aukrust P, Kvale D, Muller F, Froland SS, 1998. IL-10 in HIV infection: increasing serum IL-10 levels with disease progression-down-regulatory effect of potent anti-retroviral therapy. *Clin Exp Immunol*, 1999; 116:115–120.
7. Jiaxiang Ji, Sahu GK, Braciale VL, Cloyd MW. HIV-1 induces IL-10 production in human monocyte via a CD4-independent pathway. *International Immunology*, 2005; 17(6):729–736.
8. Gab Jung Kim, Hak Sung Lee, Kee-Jong Hong, Sung Soon Kim. Dynamic correlation between CTL response and viral load in primary human immunodeficiency virus-1 infected Koreans. *Virology Journal* 2010; 7:239.
9. Nasronudin. Pengaruh Dukungan, Perawatan dan Pengobatan terhadap Perubahan Parameter Biologis dan Klinis ODHA (Studi di UPIPI). Surabaya, Airlangga University Press, 2007; 259–262.
10. V. Novitsky, P. Gilbert, T. Peter, M.F. McLane, S. Gaolekwe, N. Rybak, I. Thior, T. Ndung'u, R. Marlink, T.H. Lee, and M. Essex. Association between Virus-Specific T-Cell Responses and Plasma Viral Load in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype C Infection. *J Virol* 2003; 77(3): 882–890.
11. Yoav Peretz, Galit Alter, Marie-Pierre Boivert, George Hatzakis, Christos M. Tsoukas, Nicole F. Bernard. Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Specific Gamma Interferon secretion Directed against all Expressed HIV genes: Relationship to Rate of CD4 Decline. *J Virol* 2005; 79(8): 4908–4917.