

UJI DIAGNOSIS INTERFERON GAMMA RELEASE ASSAY (IGRA) DENGAN METODE QUANTIFERON ®TBC – Gold Plus (QFT – Plus) PADA TUBERKULOSIS ANAK

Agustin Iskandar¹, Ery Olivianto², Naura Anindya Candini³

1. Departemen Patologi Klinik, RSUD Saiful Anwar Malang

2. Departemen Ilmu Kesehatan Anak, RSUD Saiful Anwar Malang

3. Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Abstrak

Pendahuluan: Indonesia masuk dalam kategori 30 negara dengan beban Tuberkulosis tertinggi di dunia karena terdapat baik kasus Tuberkulosis, ko-infeksi TBC-HIV, dan Tuberkulosis resisten obat. Tuberkulosis pada anak kurang mendapatkan perhatian dibandingkan orang dewasa karena sulitnya diagnosis. Salah satu metode diagnosis Tuberkulosis yang mulai digunakan adalah IGRA akan tetapi penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada anak belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik IGRA dengan metode QFT – Plus pada Tuberkulosis anak. **Metode Penelitian:** Penelitian deskriptif analitik dengan desain *cross-sectional* pada pasien terduga Tuberkulosis anak. Pada penelitian ini didapatkan 72 subjek yang memenuhi kriteria. **Hasil:** Hasil pemeriksaan bakteri tahan asam dan Gen X-Pert pada mayoritas subjek adalah negatif. Hasil pemeriksaan *Tuberculin Skin Test* menunjukkan hasil positif hanya pada sebagian kecil subjek. Jumlah subjek yang memiliki hasil IGRA positif sejumlah 21 anak. Hasil perhitungan tabel 2x2 didapatkan sensitivitas 29,7%, spesifisitas 75%, dan akurasi 34,7%. Hasil perhitungan dengan kurva ROC didapatkan AUC untuk TB1 64,9% (IK 95%: 40,9 – 88,9%) dengan *cut-off* 0,095 untuk sensitivitas 70,3% dan spesifisitas 75%. AUC TB2 63,1% (IK 95%: 39,3 – 86,9%) dengan *cut-off* 0,115 untuk sensitivitas 62,5% dan spesifisitas 75%. AUC TB2 – TB1 46,9% (IK 95%: 27,8 – 66%) dengan *cut-off* 0,01 untuk sensitivitas 53,1% dan spesifisitas 50%. **Kesimpulan** Pemeriksaan IGRA memiliki nilai diagnostik yang lemah pada Tuberkulosis anak sehingga sebaiknya tidak dijadikan pemeriksaan penunjang utama untuk mendiagnosis Tuberkulosis anak.

Kata Kunci: Interferon Gamma Release Assay (IGRA), tuberkulosis anak, uji diagnosis



Pendahuluan

Tuberkulosis (TBC) adalah penyebab kematian nomor sembilan di dunia. Indonesia merupakan salah satu dari 30 negara dengan beban Tuberkulosis tertinggi di dunia karena terdapat tidak hanya kasus tuberkulosis, tetapi juga koinfeksi TBC-HIV dan TBC resisten obat (WHO Global Tuberculosis Report, 2018). TBC menyebabkan 5 sampai 6 kematian pada setiap 100.000 populasi di kota Malang dan case notification rate hanya 63,3 cases dalam 100.000 populasi. Di kota Malang, 7% dari seluruh kasus TBC atau sekitar 106 kasus terjadi pada anak (Malang City Health Profile, 2014). Akan tetapi, TBC pada anak kurang mendapatkan perhatian dibandingkan pada orang dewasa karena sulitnya diagnosis.

Secara umum penegakan diagnosis TBC pada anak didasarkan pada gejala klinis khas TBC, bukti infeksi TBC, konfirmasi bakteriologik, dan gambaran foto toraks sugestif TBC yang kemudian dihitung skornya berdasarkan sistem skoring (Kemenkes, 2016). Pemeriksaan baku emas untuk diagnosis TB adalah pemeriksaan bakteriologik namun memiliki kelemahan sulit mengambil spesimen dahak pada anak (CDC, 2013). Pemeriksaan lain pun memiliki banyak kelemahan seperti tidak adanya gambaran khas pada pemeriksaan radiologi, biaya yang mahal serta penggerjaan yang sulit pada *Polymerase Chain Reaction* (PCR), serta adanya hasil negatif palsu pada imunisasi *Bacille Calmet Guérin* (BCG) pada *Tuberculin Skin Test* (TST) (PDPI, 2006).

Salah satu metode diagnosis TBC yang sudah mulai digunakan adalah dengan *Interferon Gamma Release Assay* (IGRA). IGRA mengukur produksi Interferon Gamma (IFN- γ) ex-vivo oleh sel limfosit T ketika diinkubasi oleh adanya antigen spesifik bakteri

Mycobacterium tuberculosis (Machingadze, et al. 2011).

Pemeriksaan metode IGRA sendiri memiliki kelebihan dibanding pemeriksaan lain karena tidak terjadi *false positive* pada pasien yang telah mendapatkan vaksinasi BCG (Takasaki, et al. 2017). Akan tetapi, penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada anak belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada TBC anak.

Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan rancangan cross sectional yang dilakukan di RSUD Dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang pada periode Februari 2018– Juni 2019. Populasi adalah semua anak yang berobat ke Poli Respirologi Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSSA Malang, sedangkan subyek penelitian adalah semua terduga penderita tuberkulosis anak pada kurun waktu Februari 2018 – Juni 2019 yang memenuhi kriteria inklusi serta mendapat izin untuk menjadi subjek penelitian oleh orangtua/wali pasien setelah menandatangani *informed consent*.

Besar sampel diperoleh berdasarkan kuota waktu dan perhitungan minimal menggunakan rumus dan didapatkan besar sampel minimal sejumlah 66 sampel. Pada penelitian ini pengambilan sampel menggunakan teknik *consecutive sampling*, dimana setiap pasien yang memenuhi kriteria inklusi pada rentang waktu yang telah ditetapkan mendapatkan pemeriksaan IGRA. Setelah itu, data pasien akan dicatat beserta hasil pemeriksaan IGRA nya. Seluruh data yang masuk kemudian akan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS.

Secara umum, penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap, yaitu tahap perizinan dan pengumpulan subyek serta tahap penelitian IGRA yang terdiri dari pengambilan sampel darah, pencampuran, inkubasi, ELISA, dan kalkulasi serta interpretasi hasil.

Uji diagnosis pada penelitian ini menggunakan kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), yaitu kurva yang menggambarkan hubungan antara sensitivitas dan spesifitas sebuah tes pada berbagai titik potong. Dari prosedur ROC ini didapatkan *Area Under Curve* (AUC) untuk mengukur kebermanfaatan suatu pemeriksaan. Penghitungan spesifitas, sensitivitas, nilai duga positif, nilai duga negative rasio kemungkinan positif, rasio kemungkinan negative, dan akurasi dihitung dari analisa tabel 2 x 2.

Hasil Penelitian dan Pembahasan

❖ Karakteristik Demografis dan Klinis Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan performa pemeriksaan IGRA QFT-Plus dalam mendiagnosis TBC anak TBC dalam praktik klinis rutin di Indonesia.

Sebanyak 72 subjek diikutsertakan pada penelitian ini. 26 anak memiliki hasil TST positif, 1 anak memiliki hasil BTA positif, dan 2 anak memiliki hasil Gen X-Pert (PCR) positif

Karakteristik subyek penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Dari 72 subjek yang bergabung dalam penelitian ini, mayoritas didominasi oleh anak berusia kurang dari 5 tahun, sejalan dengan hasil survei kesehatan nasional. Hal ini mungkin terjadi karena anak yang lebih muda respon imunitas selulernya belum berkembang sempurna sedangkan terjadinya TBC sangat terkait dengan respon imun tersebut (Raharjoe, 2008).

Mayoritas subjek memiliki status gizi baik, berkebalikan dengan kepercayaan bahwa TBC lebih banyak menyerang anak dengan gizi buruk karena lemahnya sistem imunitas mereka. Akan tetapi, status gizi bukanlah faktor penentu utama terjadinya TBC. Infeksi TBC dipengaruhi hal-hal lain seperti riwayat kontak, lama kontak, dan jumlah *droplet* yang terhirup (Supariasa, 2012).

Dari 72 subjek, 64 anak terdiagnosa dengan TBC. Terdapat lebih banyak subjek laki-laki dibandingkan perempuan dengan perbandingan 38:34, akan tetapi perbandingan pasien laki-laki dan perempuan yang terdiagnosa klinis menunjukkan rasio yang sama sebesar 32:32. Rasio penderita TBC klinis laki-laki terhadap perempuan menunjukkan hasil yang sama karena kedua jenis kelamin memiliki resiko yang sama untuk terinfeksi TBC (Pradani, 2018).

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	n = 72
Jenis Kelamin	
Laki-laki	38/72
Perempuan	34/72
Usia	
0 - < 5 tahun	39/72
5 - < 10 tahun	19/72
10 - < 15 tahun	15/72
Status Gizi	
Gizi buruk	4/72
Gizi kurang	21/72
Gizi baik	39/72
Overweight	8/72
Diagnosis	
TBC Paru	51/72
TBC Ekstra Paru	13/72
Bukan TBC	8/72
TST	
Positif	26/72
Negatif	38/72
TAP*	8/72
IGRA	
Positif	21/72
Negatif	51/72
Konfirmasi Bakteriologis	
Positif	1/72
Negatif	71/72
Gen X-Pert	
Detected	2/72
Not Detected	70/72

*TAP = Pemeriksaan tidak dilakukan karena reagen tidak tersedia saat penelitian berlangsung.

❖ Uji Diagnosis IGRA

Hasil perbandingan diagnosis klinis dengan pemeriksaan IGRA dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Tabel 2x2 untuk Pemeriksaan IGRA

		Diagnosis Klinis		
		Positif	Negatif	Total
IGRA	Positif	19	2	21
	Negatif	45	6	51
Total	64	8	72	

Dari tabel potong lintang didapatkan sensitivitas pemeriksaan IGRA sebesar 29,7%, spesifisitas 75%, nilai duga positif (NDP) 90,1%, nilai duga negative (NDN) 11,7%, rasio

kemungkinan positif (RKP) 1.1872, rasio kemungkinan negatif (RKN) 0,9376, dan akurasi 34,7%.

Sensitivitas IGRA didapatkan dari perhitungan table 2x2 sebesar 29,7% sehingga pemeriksaan IGRA kurang sensitive dalam mendiagnosa TBC anak dan memiliki kemungkinan untuk menunjukkan hasil positif palsu pada pasien dengan penyakit lain. Spesifisitas pemeriksaan IGRA sebesar 75% sehingga cukup spesifik untuk menunjukkan hasil yang positif pada anak yang menderita TBC.

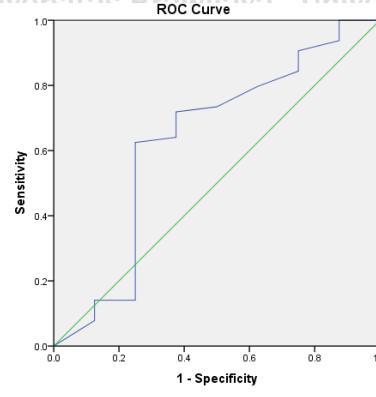
Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan pada orang

dewasa dengan TBC laten dimana pemeriksaan IGRA memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Hal ini mungkin terjadi karena pemeriksaan IGRA berkaitan dengan respon imun seluler dimana pada orang dewasa memiliki respon imun seluler yang lebih baik dan responsif dibandingkan dengan anak-anak.

Pemeriksaan IGRA memiliki NPD 90,1% sehingga hasil positif yang didapatkan dari pemeriksaan IGRA kemungkinan besar benar-benar menunjukkan hasil yang positif.. NDN pemeriksaan IGRA menunjukkan hasil 11,7%. Artinya, hasil negatif yang didapatkan dari pemeriksaan IGRA mungkin saja tidak menunjukkan hasil negatif yang sebenarnya.

RKP pemeriksaan IGRA sebesar 1,187. Secara umum, nilai rasio kemungkinan positif yang diharapkan diatas 10. Nilai RKP yang rendah menunjukkan bahwa pemeriksaan IGRA bisa memberikan hasil positif palsu pada seseorang yang tidak menderita TBC. RKN pemeriksaan IGRA sebesar 0,937. Pada umumnya, nilai rasio kemungkinan negatif yang diharapkan dibawah 0,1. Nilai RKN yang rendah menunjukkan bahwa pemeriksaan IGRA bisa menunjukkan hasil negatif palsu pada seseorang yang sebenarnya menderita TBC. Akurasi pemeriksaan IGRA sebesar 34,7% sehingga tidak cukup akurat untuk mendiagnosa TBC anak.

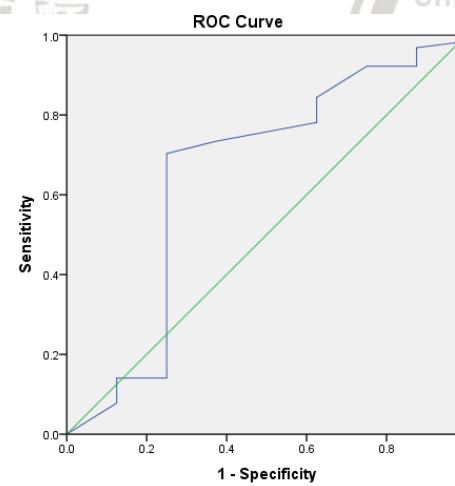
Kurva ROC tabung pemeriksaan TB1 dibuat untuk mengukur IFN- γ yang dihasilkan oleh limfosit CD4+. Didapatkan AUC 64,9% (95% IK: 40,9–88,9%) seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva ROC tabung TB1

Analisis kurva ROC dari tabung TB1 yang menggambarkan IFN- γ yang dihasilkan limfosit CD4+ menghasilkan AUC of 64.9%. Nilai cut-off yang diadaptasi dari grafik tarik ulur sensitivitas—spesifisitas sebesar 0,095 IU/ml, lebih rendah dari cut-off yang ditetapkan oleh Qiagen. Nilai cut-off ini menghasilkan sensitivitas 70,3% dan spesifisitas 75%.

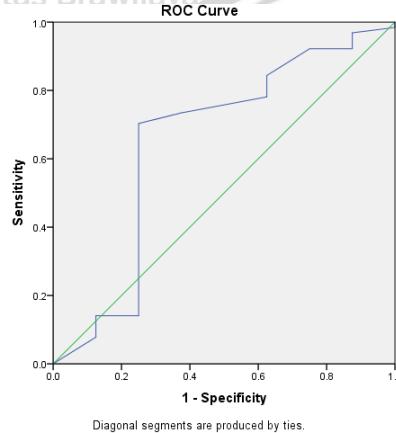
Kurva ROC tabung pemeriksaan TB2 dibuat untuk mengukur IFN- γ yang diproduksi oleh limfosit CD4+ dan CD8+. Didapatkan AUC 63,1% (95% IK: 39,3 – 86,9%) seperti pada gambar 2.



Gambar 2. Kurva ROC tabung TB2

Nilai *cut-off* berdasarkan grafik tarik ulur sensitivitas—spesifisitas sebesar 0,115 IU/ml, juga lebih rendah dari *cut-off* yang telah ditetapkan oleh Qiagen. Nilai *cut-off* ini menghasilkan sensitivitas 62,5% dan spesifisitas 75%.

Kurva ROC dari tabung TB2 – TB1 dibuat untuk mengukur IFN- γ yang diproduksi limfosit CD8+. Didapatkan AUC 46,9% (95% IK: 27,8 – 66%) seperti pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva ROC tabung TB2 – TB1

Kurva ROC dari grafik TB2 – TB1 menghasilkan AUC 46,9% yang secara statistik kurang signifikan dibandingkan 2 tabung sebelumnya. Akan tetap, pada pemeriksaan IGRA parameter IFN- γ CD8+ secara tunggal tidak digunakan untuk menentukan hasil positif dan negative dikarenakan IFN- γ yang dihasilkan oleh respon CD4+ lebih dominan pada TBC. Nilai *cut-off* berdasarkan grafik tarik ulur sensitivitas—spesifisitas sebesar 0,01 IU/ml, menghasilkan sensitivitas 53,1% dan spesifisitas 50%.

Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa untuk mendiagnosa TBC anak dibutuhkan *cut-off* yang lebih rendah karena respon imunitas

seluler anak-anak lebih lemah dibandingkan orang dewasa. Selain itu, TBC di Indonesia lebih banyak diderita anak berusia dibawah lima tahun, dan juga terdapat prevalensi koinfeksi TBC-HIV yang cukup tinggi sehingga bisa mempengaruhi respon imunitas pasien. Maka dari itu, pemeriksaan IGRA memiliki performa diagnosis yang kurang baik untuk mendiagnosa TBC anak dan sebaiknya tidak digunakan untuk mendiagnosa TBC anak pada praktek klinik rutin.

Saran

Keterbatasan penelitian ini adalah hasil pemeriksaan baku emas berupa pemeriksaan BTA mikroskopik hampir seluruhnya menunjukkan hasil yang negatif, sehingga keberadaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* tidak dapat dikonfirmasi. Oleh karena itu, pemeriksaan IGRA dibandingkan dengan *referenced standard* berupa diagnosis klinis. Karena tidak ada pembanding yang terstandar, hasil penelitian ini kurang baik untuk digeneralisasi. Dibutuhkan penelitian lebih lanjut dengan jumlah subjek yang terkonfirmasi bakteriologis lebih banyak.

Daftar Pustaka

1. Amin, Z., dan Bahar, A. 2009. Tuberkulosis Paru. dalam Sudoyo, A.W., Setyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., dan Setiati, S., Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V Jilid II. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam
2. Calcvanti, Y.V.N., Brelaz, M.C.A., Neves, J.K.A.L., Ferraz, J.C., and Pereira, V.R.A. 2012. Review Article: Role of TNF – Alpha, IFN – Gamma, and IL – 10 in the Development of Pulmonary Tuberculosis. Hindawi

- Publishing Corporation Journal of Pulmonary Medicine p. 1-10.
3. Centers for Disease Control and Prevention. 2013. Introduction to the Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know. Edisi ke- 6. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention Division of Tuberculosis Elimination.
4. Centers for Disease Control and Prevention. 2011. TB Elimination: Tuberculin Skin Testing. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention Division of Tuberculosis Elimination. Accessed from <https://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/testing/skintesting.pdf>
5. Dahlan, M.S. 2009. Penelitian Diagnostik: Dasar-dasar Teoritis dan Aplikasi dengan Program SPSS dan Stata. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
6. Dinas Kesehatan Kota Malang. 2015. Profil Kesehatan Kota Malang Tahun 2014. Malang: Dinas Kesehatan Kota Malang. Accessed from http://www.depkes.go.id/resources/download/profil/PROFIL_KAB_KOTA_2014/3573_Jatim_Kota_Malang_2014.pdf/
7. Doan, T.N., Elsen, D.P, Rose, M.T., Slack, A., Stearnes, G., and McBryde, E.S. 2017. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection: A latent-class analysis. *PLoS ONE* 12(11):e0188631
8. Jaganath, D., and Mupere, E. 2012. Childhood tuberculosis and malnutrition. *The Journal of Infectious Diseases* 206:1809-15
9. Kartasasmita, C.B. 2009. Epidemiologi Tuberkulosis. *Sari Pediatri* 11(2). p. 124 – 129.
10. Kawamura, L.M. 2017. QuantiFERON-TB Gold Plus: The 4th Generation IGRA. Accesed from <https://www.who.int/tb/areas-of-work/preventive-care/lbti/mk.pdf>
11. Kay, A.W., Islam, S.M., Wendorf, K., Westenhouse, J., and Barry, P.M. 2018. Interferon- γ Release Assay Performance for Tuberculosis in Childhood. *Pediatrics* 141(8):e20173918
12. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. Petunjuk Teknis Manajemen dan Tatalaksana TB Anak. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
13. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (InfoDATIN). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
14. Machingadze, S., Wiysonge, C.S., Gonzalez-Angulo, Y., Hatherill, M., Moyo, S., Hanekom, W., and Mahomed, H. 2011. The Utility of an Interferon Gamma Release Assay for Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Disease in Children: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatric Infectious Disease Journal* 30(8) p.1-3.
15. Mandalakas, A., Benedetti, A., Detjen, A., Hesseling, A.C., and Menzies, D. 2011. Interferon-gamma Release Assays and Childhood Tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 15(8) p. 1018-1032..

16. Nhamoyebonde, S., and Leslie, A. 2014. Biological differences between the sexes and susceptibility to tuberculosis. *The Journal of Infectious Diseases* 209(S3):S100-6.
17. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. 2006. Konsensus mengenai Tuberkulosis: Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. Jakarta: Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Accessed from <https://www.klikpdpi.com/konsensus/tb/tb.html>
18. QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT – Plus) Package Insert. Issued by QIAGEN on 2017. Accessed from <http://www.quantiferon.com/wp-content/uploads/2017/10/QFT-Plus-ELISA-IFU-L1095849-R02.pdf>
19. Raharjoe, N. 2008. Buku Ajar Respirologi Anak Edisi – 1. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI).
20. Raviglione, M.C., and O'Brien, R.J. 2013. Tuberculosis. dalam Loscalzo, J. Harrison's Pulmonary and Critical Medicine 2nd Edition. New York: McGraw – Hill Education, LLC.
21. Pradani, S.A., dan Kundarto, W. 2018. Evaluasi ketepatan obat dan dosis obat anti tuberkulosis pada pasien anak di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Moewardi Surakarta periode 2016-2017. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 02:93-103.
22. Supariasa, D. 2012. Buku Penilaian Status Gizi. Jakarta: Penerbit EGC.
23. Takasaki, J., Manabe, T., Morino, E., Muto, Y., Hashimoto, M., Iikura, M., Izumi, S., Sugiyama, H., and Kudo, K. 2017. Sensitivity and specificity of QuantiFERON – TB Gold Plus compared with QuantiFERON – TB Gold-In-Tube and T-SPOT.TB on active tuberculosis in Japan. *Elsevier Journal of Infection and Chemotherapy* p. 1-5.
24. Whitworth, H.S., Scott, M., Connell, D.W., Donges, B., and Lalvani, A. 2013. IGRAS – The gateway to T cell based TB diagnosis. *Elsevier Journal..*
25. World Health Organization. 2014. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children, 2nd Edition. Geneva: World Health Organization.
26. World Health Organization. 2018. Global Tuberculosis Report 2018. Geneva: World Health Organization.
27. Yang, S., and Rothman, R.E. 2004. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute care settings. *The Lancet* Vol. 4.