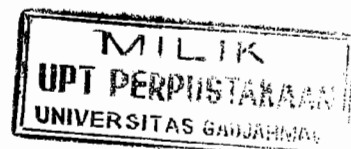


Deteksi antigen beredar dalam serum penderita filariasis malayi dengan cara *Sandwich* ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁

Soeyoko

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta



ABSTRACT

Soeyoko - *Detection of circulating antigen in sera of patients with malayan filariasis by sandwich ELISA using monoclonal antibody Fes₁.*

Background. The living lymphatic filarial worm *Brugia malayi* releases physiologically protein materials in the malayan filariasis patients which is called circulating antigen. Based on the clinical symptoms and the demonstration of microfilariae in the blood smears, people who are living in the endemic area can be classified into 4 groups: symptomatic microfilaraemic, symptomatic amicrofilaraemic, asymptomatic microfilaraemic and asymptomatic amicrofilaraemic.

Objectives. To detect circulating antigen in sera of each group of patients with malayan filariasis in endemic area.

Methods. Circulating antigen in sera was detected by sandwich ELISA using monoclonal antibody Fes₁.

Result. By sandwich ELISA using monoclonal antibody Fes₁, 100% of symptomatic microfilaraemic sera, 35.7% of symptomatic amicrofilaraemic sera, 89.2% of asymptomatic microfilaraemic sera and 26.3% of asymptomatic amicrofilaraemic sera were positive for circulating antigen.

Conclusion. Detection of circulating antigen in sera of malayan filariasis patients could be used to support the diagnosis of malayan filariasis in some cases which were difficult to be diagnosed by conventional method based on clinical symptoms and the demonstration of microfilariae in the blood smears.

Keywords: circulating antigen - sandwich ELISA - monoclonal antibody - sera - *Brugia malayi* - asymptomatic amicrofilaraemic.

ABSTRAK

Soeyoko - *Deteksi antigen beredar dalam serum penderita filariasis malayi dengan cara sandwich ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁.*

Latar belakang penelitian. Antigen beredar di dalam serum penderita filariasis malayi merupakan protein yang dihasilkan cacing *Brugia malayi* pada waktu masih hidup di dalam inangnya dan dilepaskan secara fisiologis ke lingkungan sekitarnya. Penderita filariasis malayi di daerah endemik berdasarkan hasil pemeriksaan klinis maupun mikrofilaria di dalam darah dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu: mikrofilaremia simtomatik, amikrofilaremia simtomatik, mikrofilaremia asimtomatik dan amikrofilaremia asimtomatik.

Tujuan penelitian. Mendeteksi antigen beredar di dalam serum masing-masing kelompok penderita filariasis malayi di daerah endemik.

Bahan dan cara penelitian. Deteksi antigen beredar di dalam serum dilakukan dengan cara *sandwich* ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁.

Hasil penelitian. Antigen beredar di dalam serum penderita filariasis malayi dapat dideteksi dengan antibodi monoklonal Fes₁. Antigen beredar di dalam serum kelompok mikrofilaremia simtomatik terdeteksi 100%, kelompok amikrofilaremia simtomatik terdeteksi 35,7%; kelompok mikrofilaremia asimtomatik terdeteksi 89,2% dan kelompok amikrofilaremia asimtomatik terdeteksi 26,3%.

Simpulan. Deteksi antigen beredar di dalam serum penderita filariasis malayi dapat dimanfaatkan untuk membantu diagnosis filariasis malayi pada penderita yang sulit didiagnosis dengan cara pemeriksaan klinis maupun mikrofilaria di dalam darah.

PENGANTAR

Antigen beredar atau juga disebut: *circulating antigen*, antigen internal, antigen lepas, *released antigen*, antigen ekskretori-sekretori atau antigen ES adalah antigen yang dapat ditemukan di dalam serum penderita penyakit infeksi¹. Antigen beredar di dalam serum penderita filariasis malayi merupakan protein yang dihasilkan cacing *B. malayi* pada waktu masih hidup di dalam inangnya, dilepaskan ke lingkungan sekitar secara fisiologis dan menunjukkan bahwa infeksi tersebut masih aktif. Antigen beredar terdiri dari: *surface coat* (lapisan permukaan yang dilepaskan pada waktu stadium larva berganti kulit atau cacing dewasa pada waktu terjadi proses *shedding/surface turnover*), *moulting fluid*, *parturition fluid*, hasil-hasil metabolisme dan ekskretori-sekretori; bahan-bahan tersebut beredar di dalam serum, urin maupun cairan tubuh penderita.

Sebetulnya adanya antigen beredar di dalam serum penderita filariasis telah dilaporkan sejak tahun 1946 oleh Franks² dan mulai timbul pemikiran bahwa antigen tersebut mempunyai peran yang sangat penting untuk membantu diagnosis filariasis, namun berbagai penelitian tentang antigen beredar tidak dapat berkembang dengan pesat karena kesulitan teknis untuk mendeteksi antigen tersebut dalam serum. Jumlah antigen beredar dalam serum penderita sangat sedikit sehingga diperlukan cara diagnosis yang sensitif dan spesifik dengan menggunakan antibodi monoklonal³. Setelah ditemukan teknik *immunoassay* (ELISA) yang cukup sensitif, penelitian tentang antigen tersebut baru berkembang lagi⁴. Antigen beredar tersebut dapat ditemukan di dalam serum penderita filariasis bancrofti sejak stadium prepaten⁵. Pada penelitian dengan menggunakan hewan coba *jird* yang diinfeksi *Litomosoides carinii* dapat ditunjukkan bahwa kuantitas antigen beredar di dalam serum sangat tergantung pada stadium perkembangan, jumlah dan jenis kelamin parasit yang ada di dalam inang. Antigen beredar pada stadium prepaten terdiri dari: lapisan permukaan yang dilepaskan pada saat terjadi perkembangan dari stadium larva menjadi dewasa, hasil-hasil metabolisme, ekskretori-sekretori dan *moulting fluid*. Pada stadium paten antigen beredar terdiri atas: hasil-hasil metabolisme, ekskretori-sekretori, *parturition fluid* dan lapisan

permukaan yang dilepaskan sebagai proses *shedding/turnover*⁶.

Peran antigen beredar di dalam tubuh penderita telah dilaporkan oleh beberapa peneliti^{7,8,9,10}. Antigen beredar, terutama yang berasal dari proses *shedding* dapat menyebabkan terjadinya keseimbangan antara parasit dan penderita sehingga parasit dapat hidup lebih lama, karena parasit tersebut selalu berganti kulit (*surface turnover*) sehingga respon imun penderita tidak mengenalinya lagi (*immune evasion*)⁸. Di samping hal tersebut, karena sifatnya yang imunogenik antigen tersebut dapat dipergunakan sebagai vaksin dan dapat berperan pula sebagai imunomodulator maupun dapat menyebabkan terjadinya kelainan jaringan sebagai akibat dari respon imun di dalam tubuh penderita^{7,10}. Antigen beredar mempunyai arti penting berkaitan dengan cara diagnosis serologis karena cara diagnosis berdasarkan deteksi antigen beredar hasilnya lebih baik daripada deteksi antibodi. Hasil cara diagnosis tersebut diharapkan lebih spesifik dan sensitif dapat mengetahui masih adanya infeksi maupun berat ringannya infeksi dan dengan demikian penyakit dapat didiagnosis sebelum gejala klinis muncul⁹.

Penduduk di daerah endemik filariasis yang kemungkinan telah terinfeksi *B. malayi*, berdasarkan hasil pemeriksaan klinis dan parasitologis (ada/tidaknya mikrofilaria di dalam darah), dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu: mikrofilaremia simtomatik, amikrofilaremia simtomatik, mikrofilaremia asimtomatik dan amikrofilaremia asimtomatik¹¹. Di dalam serum empat kelompok penduduk tersebut kemungkinan telah mengandung antigen beredar. Apakah antigen beredar di dalam serum masing-masing kelompok tersebut dapat dideteksi dengan cara *sandwich* ELISA menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik?. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi antigen beredar dalam serum penduduk di daerah endemik filariasis malayi yang dapat dimanfaatkan untuk membantu diagnosis filariasis malayi.

BAHAN DAN CARA

Daerah penelitian.

Penelitian dilakukan di daerah endemik filariasis malayi: desa Krayan (Kalimantan Timur),

Sampit (Kalimantan Tengah) dan Surian (Kalimantan Selatan).

Subyek penelitian dan besarnya sampel.

Sebagai subyek penelitian adalah anak maupun orang dewasa, laki-laki maupun perempuan yang bermukim di daerah endemik filariasis malayi. Seluruh penduduk diambil sebagai sampel (*total sampling*). Cara tersebut dipilih karena populasi penduduk di suatu desa di Kalimantan pada umumnya sedikit, karena mempunyai mata pencaharian ladang berpindah sehingga tidak mempunyai tempat tinggal yang tetap dan agar semua penderita filariasis yang ada dapat terambil.

Besar sampel minimal yang harus diambil ditentukan dengan rumus menurut Snedecor & Cochran sebagai berikut¹²:

$$n_1 : \frac{4pq}{L^2}$$

$$n_2 : \frac{n_1}{1 + \frac{n_1}{N}}$$

- n_1 : jumlah sampel awal
 p : sifat suatu keadaan (prevalensi filaria di daerah penelitian) dalam % (Sampit 5%, Surian 10% dan Krayan 15%)
 q : 100% - p
 L : derajat ketepatan yang dipergunakan (5%)
 N : jumlah penduduk (Sampit 208 orang, Surian 129 orang, Krayan 63 orang)
 n_2 : jumlah sampel yang sebenarnya harus diambil

Cara pengumpulan dan pemeriksaan sampel.

Seluruh penduduk di daerah endemik filariasis diperiksa secara klinis dan diambil darahnya untuk pemeriksaan mikrofilaria maupun antigen beredar.

- a. **Pemeriksaan klinis.** Penduduk dikumpulkan di rumah Ketua RT, jika tidak datang dikunjungi ke rumahnya agar semua penduduk dapat diperiksa. Pemeriksaan klinis dilakukan untuk melihat adanya gejala klasik filariasis yaitu: panas berulang, limfadenitis, limfangitis desendens, abses, limfedema dan elefantiasis.
- b. **Pemeriksaan mikrofilaria.** Pengambilan darah dilakukan pada siang hari karena filaria *B. malayi* di Kalimantan sifatnya non-periodik atau sub-periodik nokturnal. Sampel darah diambil dari ujung jari (anak) maupun dari vena kubiti (orang dewasa). Darah ujung jari

diambil 20mm³, dibuat sediaan darah apus dan dikeringkan. Setelah kering sediaan dihemolisis dengan air jernih dan difiksasi dengan metanol, kemudian dipulas dengan Giemsa selama 10 menit. Darah vena diambil 5ml, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi anti-coagulan (sodium sitrat) 2ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang tidak berisi anti-coagulan 3ml. Darah di dalam tabung yang tidak mengandung antikoagulan disentrifugasi untuk diambil serumnya. Darah di dalam tabung yang mengandung antikoagulan disaring dengan saringan khusus yang disebut nukleopor (dengan diameter lubang 5 mikron) dan dipasang pada suatu alat yang disebut *holder*. Nukleopor diambil ditempelkan pada gelas benda, setelah kering difiksasi dengan metanol dan dipulas dengan Giemsa. Sediaan apus darah ujung jari dan nukleopor yang telah dipulas dengan Giemsa diperiksa mikroskopis untuk melihat mikrofilaria.

Sampel dikelompokkan berdasarkan hasil pemeriksaan mikrofilaria di dalam darah dan gejala klinis yang muncul, sebagai berikut:

1. Kelompok mikrofilaremia simtomatik, yaitu kelompok penduduk yang di dalam darahnya ditemukan mikrofilaria dan menunjukkan gejala klinis filariasis
2. Kelompok amikrofilaremia simtomatik, yaitu kelompok penduduk yang di dalam darahnya tidak ditemukan mikrofilaria tetapi menunjukkan gejala klinis filariasis
3. Kelompok mikrofilaremia asimtomatik, yaitu kelompok penduduk yang berdasarkan hasil pemeriksaan mikrofilaria di dalam darah positif, namun tidak menunjukkan gejala klinis filariasis
4. Kelompok amikrofilaremia asimtomatik, yaitu kelompok penduduk yang berdasarkan hasil pemeriksaan mikrofilaria di dalam darah negatif dan tidak menunjukkan gejala klinis filariasis.
- c. **Pemeriksaan antigen beredar.** Sampel serum penduduk diperiksa dengan cara *sandwich* ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁ untuk mendeteksi antigen beredar.

Antibodi monoklonal Fes₁. Pada penelitian ini digunakan antibodi monoklonal yang telah dihasilkan oleh Laboratorium Parasitologi FK-

UGM, yang diperoleh dengan cara memfusikan limfosit mencit Balb/c yang telah diimunisasi antigen ekskretori-sekretori (antigen beredar) *B. malayi* dengan sel mieloma. Antigen beredar *B. malayi* diperoleh dengan cara kultivasi cacing dewasa *B. malayi*, dan antibodi monoklonal tersebut telah dikarakterisasi tidak bereaksi silang dengan nematoda intestinal¹³.

Sandwich ELISA. Pada pemeriksaan *sandwich* ELISA diperlukan sampel kontrol positif dan kontrol negatif. Sebagai kontrol positif, digunakan serum penderita yang mengandung mikrofilaria *B. malayi* di dalam darahnya. Sebagai kontrol negatif, digunakan serum penduduk di daerah non-endemik filariasis malayi di Yogyakarta yang belum pernah terpapar filaria *B. malayi*. Pemeriksaan antigen beredar dilakukan dengan cara *sandwich* ELISA seperti yang dilakukan oleh Huijun dengan sedikit modifikasi sebagai berikut¹⁴. Sumuran pada mikroplet ELISA dilapisi dengan serum kelinci anti antigen beredar *B. malayi* dan diblok dengan larutan *bovine serum albumin* (BSA) 0,5%. Kemudian berturut-turut diinkubasikan dengan serum penderita, antibodi monoklonal Fes₁, *conjugate* dan substrat. Optimasi pengenceran komponen *sandwich* ELISA tersebut di atas ditetapkan dengan cara titrasi *checkerboard*. Hasil pemeriksaan ini dibaca dengan ELISA *reader* pada absorben 492nm. Hasil pemeriksaan antigen beredar dinilai positif jika *optical density* (OD) sampel rerata *optical density* kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Besar sampel yang harus diperiksa di daerah penelitian

Berdasarkan rumus penghitungan besar sampel menurut Snedecor & Cochran¹², maka jumlah sampel minimal yang harus diperiksa di tiga daerah endemik filariasis malayi sebagai berikut: Sampit (KalTeng) 56 orang, Surian (KalSel) 68 orang dan Krayan (KalTim) 48 orang. Akan tetapi setelah dilakukan pendekatan dengan kepala desa setempat, jumlah sampel yang diperiksa melebihi batas minimal. Di daerah Sampit berhasil diperiksa 195 orang dari jumlah penduduk seluruhnya 208 orang; Surian 121 orang dari jumlah penduduk 129 orang dan Krayan 54 orang dari jumlah penduduk 63 orang.

Hasil pemeriksaan klinis dan mikrofilaria

Berdasarkan hasil pemeriksaan mikrofilaria di dalam darah dan gejala klinis yang muncul, penduduk daerah endemik filariasis malayi di Sampit, Surian dan Krayan dikelompokkan menjadi 4 kelompok: mikrofilaremia simtomatik, amikrofilaremia simtomatik, mikrofilaremia asimtomatik dan amikrofilaremia asimtomatik (TABEL 1).

Daerah Sampit, Surian, dan Krayan merupakan daerah endemik filariasis malayi dengan tingkat endemisitas yang berbeda-beda. Berdasarkan cara pemeriksaan darah vena pada waktu siang hari, dapat dilaporkan bahwa dari ketiga daerah tersebut, Krayan merupakan daerah endemik filariasis malayi dengan prevalensi paling tinggi, 20,3% (11/54), kemudian berturut-turut Surian dengan prevalensi 11,5% (14/121) dan Sampit dengan prevalensi 4,6% (9/195) (TABEL 1)

Jumlah mikrofilaria dalam darah penduduk sangat bervariasi. Penduduk di daerah Krayan, jumlah mikrofilaria yang ditemukan di dalam setiap 2ml darah vena berkisar antara 1-945 mf. Jumlah mikrofilaria di dalam setiap 2 ml darah penduduk di daerah Surian berkisar antara 1-230 mf, sedangkan jumlah mikrofilarian di dalam 2 ml darah penduduk Sampit berkisar antara 1-137 mf. Sebagian besar penduduk (kelompok D), walaupun telah cukup lama bermukim di daerah endemik dan terpapar filariasis, tidak menunjukkan gejala klinis sama sekali dan tidak ditemukan mikrofilaria di dalam darahnya. Kelompok penduduk tersebut ternyata menunjukkan persentase cukup tinggi untuk masing-masing daerah penelitian: Krayan 70,3%, Surian 84,2% dan Sampit 93,3% (TABEL 1).

Hasil pemeriksaan antigen beredar *B. malayi* di dalam serum penduduk

Setelah dilakukan pemeriksaan dengan cara *sandwich* ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁, pada kelompok mikrofilaremia simtomatik (kelompok A) semua penduduk menunjukkan antigen beredar (100%) di dalam serumnya, akan tetapi di dalam serum kelompok amikrofilaremia simtomatik (kelompok B) hanya ditemukan antigen beredar 35,7% (TABEL 2). Pada kelompok ini dari 14 penderita yang menunjukkan gejala klinis filariasis hanya pada 5 orang ditemukan antigen beredar di dalam serumnya. Hal ini dapat disebabkan gejala klinis

TABEL 1. - Hasil pemeriksaan klinis dan mikrofilaria di dalam darah penduduk di daerah endemik filariasis di Sampit (Kalimantan Tengah), Surian (Kalimantan Selatan) dan Krayan (Kalimantan Timur)

Kelompok penduduk	Sampit		Surian		Krayan	
	pos	%	pos	%	pos	%
A. Mikrofilaria Klinis +	0	0	4	3,3	2	3,7
B. Mikrofilaria Klinis -	4	2	5	4,1	5	9,2
C. Mikrofilaria Klinis +	9	4,6	10	8,2	9	16,6
D. Mikrofilaria Klinis -	182	93,3	102	84,2	38	70,3
Total	195		121		54	

tersebut mungkin bukan spesifik untuk filariasis atau infeksiya masih ringan (jumlah cacing di dalam tubuh inang sangat sedikit), sehingga antigen beredar tidak terdeteksi. Antibodi monoklonal Fes₁ hanya mampu mendeteksi antigen beredar di dalam serum paling sedikit 15,6 ng/ml¹³. Pada penelitian ini sembilan orang tersebut di atas telah terinfeksi filaria (klinis positif), namun antigen beredar di dalam serum <15,6 ng/ml.

TABEL 2. - Deteksi antigen beredar *B. malayi* di dalam serum penduduk daerah endemik filariasis di Kalimantan dengan sandwich ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁

Kelompok penduduk asal: Sampit, Surian dan Krayan	Jumlah positif/jumlah diperiksa (%)	Rerata OD antigen beredar
A. Mikrofilaria Klinis +	6/6 (100)	0,995 ± 0,036
B. Mikrofilaria Klinis -	5/14 (35,7)	0,745 ± 0,020
C. Mikrofilaria Klinis +	25/28 (89,2)	0,910 ± 0,015
D. Mikrofilaria Klinis -	85/322 (26,3)	0,625 ± 0,023

OD Optional Density

OD kontrol negatif: 0,446 ± 0,025

OD dibaca pada panjang gelombang 492 nm

Pada kelompok mikrofilaremia asimtomatik (kelompok C) ditemukan antigen beredar 89,9%. Berdasarkan hasil pemeriksaan mikrofilaria di dalam darah, 28 orang dinyatakan menderita filariasis, tetapi hanya pada 25 orang ditemukan antigen beredar di dalam darahnya. Hal ini dapat disebabkan ada sebagian penduduk (3 orang) yang antigen beredarnya di dalam serum berikatan dengan antibodi membentuk kompleks imun sehingga tidak terdeteksi.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dilaporkan bahwa deteksi antigen beredar di dalam serum penderita filariasis dengan cara sandwich ELISA menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik dapat membantu memastikan diagnosis filariasis pada kasus yang sulit didiagnosis klinis maupun parasitologis yaitu pada kelompok amikrofilaremia asimtomatik (kelompok D). Pada kelompok ini dari 322 orang yang tidak ditemukan mikrofilaria di dalam darahnya maupun tidak menunjukkan gejala klinis filariasis, ternyata pada 85 orang (26,3%) di antaranya ditemukan antigen beredar di dalam serum dan dapat dipastikan telah terinfeksi *B. malayi*. Tidak ditemukannya mikrofilaria di dalam darah dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu penderita masih dalam keadaan stadium prepaten, penderita terinfeksi oleh satu macam jenis kelamin *B. malayi*, jumlah/kepadatan mikrofilaria di dalam darah terlalu rendah sehingga sukar terdeteksi, atau timbulnya respon imun khususnya terhadap mikrofilaria yang berlebihan (misalnya pada *occult filariasis*).

Hasil pemeriksaan antigen beredar di dalam serum kelompok penduduk mikrofilaremia dengan cara sandwich ELISA, menunjukkan kadar lebih tinggi dibandingkan dengan yang amikrofilaremia. Kelompok mikrofilaremia mempunyai rerata *optical density* (OD): 0,995 ± 0,036 dan 0,910 ± 0,015, sedangkan kelompok amikrofilaremia mempunyai (OD): 0,745 ± 0,020 dan 0,625 ± 0,023 (TABEL 2). Hal ini dapat disebabkan pada kelompok mikrofilaremia, cacing dewasa di dalam inang mensekresikan *parturition fluid* sehingga kadar antigen beredar di dalam serum lebih tinggi.

Berdasarkan hasil penelitian Huijun¹⁴ telah dilaporkan bahwa antibodi monoklonal ES34 *W. bancrofti* mampu mendeteksi antigen beredar *W.*

bancrofti di dalam 95% serum kelompok penderita mikrofilaremia simptomatik, 60% serum kelompok penderita amikrofilaremia simptomatik, dan 20% serum penduduk kelompok amikrofilaremia asimtomatik.

Selain dengan antibodi monoklonal, antigen beredar di dalam serum penderita filariasis dapat juga dideteksi dengan antibodi poliklonal walaupun tidak spesifik. Hal ini pernah dilaporkan oleh Cheiramaraj *et al.*¹⁵ dengan cara *sandwich* ELISA dapat ditunjukkan bahwa antibodi poliklonal *B. malayi* dapat bereaksi dengan antigen beredar dalam serum penderita filariasis *bancrofti*. Di dalam serum kelompok penduduk mikrofilaremia, antigen beredar terdeteksi 90%. Pada kelompok penduduk dengan gejala akut, antigen beredar terdeteksi 30-40%. Pada kelompok dengan gejala kronik, antigen beredar terdeteksi 20%. Pada kelompok penduduk normal di daerah antigen beredar hanya terdeteksi 7%, sedangkan serum penduduk yang berasal dari daerah non-endemik tidak terdeteksi sama sekali. Berdasarkan hasil penelitiannya telah dilaporkan bahwa untuk mengetahui infeksi yang masih aktif dapat dilakukan dengan deteksi antigen beredar dengan cara *sandwich* ELISA menggunakan antibodi poliklonal.

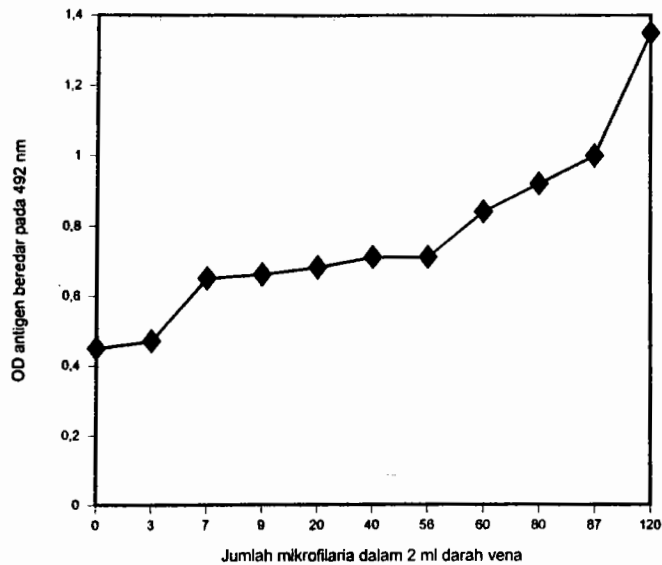
Beberapa peneliti melaporkan bahwa ada beberapa cara untuk mendeteksi antigen beredar di dalam serum penderita. Selain dengan cara *sandwich* ELISA, antigen beredar di dalam serum penderita filariasis dapat dideteksi dengan cara *counter immunoelectrophoresis*.¹⁶ Dasgupta *et al.*¹⁶ melaporkan bahwa 57,3% serum penduduk di daerah endemik filariasis *bancrofti* mengandung antigen beredar walaupun tidak menunjukkan gejala-gejala klinis spesifik *W. bancrofti*. Cara lain adalah teknik *dot* ELISA¹⁷, namun hasilnya kurang sensitif jika dibandingkan dengan cara *sandwich* ELISA. Yang *et al.*¹⁷ menemukan bahwa 11 sampel yang diperiksa dengan *dot* ELISA seluruhnya tidak mengandung antigen beredar (hasilnya negatif 100%), tetapi dengan cara *sandwich* ELISA ditemukan 36% positif antigen beredar.

Dari laporan beberapa hasil penelitian tersebut di atas dinyatakan bahwa antigen beredar dapat ditemukan di dalam serum empat kelompok penduduk yang bermukim di daerah endemik filariasis. Namun berdasarkan laporan Ramzy *et*

*al.*¹⁸, dengan menggunakan antibodi monoklonal AD12 spesifik *W. bancrofti*, antigen beredar tidak terdeteksi di dalam serum kelompok penduduk amikrofilaremia simptomatik. Sebetulnya antibodi monoklonal AD12 cukup sensitif karena mampu mendeteksi antigen beredar dalam 97% serum kelompok mikrofilaremia, 15,8% serum amikrofilaremia asimtomatik dan bereaksi negatif dengan serum penduduk dari daerah non-endemik filariasis walaupun terinfeksi oleh parasit lain (sistosomiasis, faskioliasis atau askariasis). Tidak terdeteksinya antigen beredar tersebut karena antibodi monoklonal AD12 mempunyai kemampuan terbatas dalam mendeteksi antigen minimum, sehingga pada infeksi yang ringan sekali antigen beredar tidak terdeteksi.

Deteksi antigen beredar dengan cara *sandwich* ELISA mempunyai kelebihan jika dibandingkan dengan cara *dot* ELISA yang juga baru dikembangkan¹⁹. Cara diagnosis dengan *dot* ELISA sifatnya kualitatif, sehingga tidak dapat untuk menilai korelasi antara kepadatan mikrofilaria dengan kadar antigen beredar. Cara *sandwich* ELISA sifatnya kuantitatif maupun kualitatif. Pada penelitian ini dapat dibuktikan adanya korelasi yang positif antara jumlah mikrofilaria dalam 2 ml darah vena dengan kadar antigen beredar (GAMBAR 1, $n = 11$, $r = 0,809$; $p < 0,01$).

Pada GAMBAR 1, terlihat bahwa makin tinggi jumlah mikrofilaria di dalam darah akan makin tinggi OD antigen beredar. Penderita amikrofilaremia mempunyai OD antigen beredar: 0,446 karena hanya terdiri atas beberapa komponen yaitu hasil metabolisme, ekskretori-sekretori dan kutikula hasil proses *shedding*, sedangkan pada penderita mikrofilaremia OD antigen beredar akan meningkat tergantung jumlah mikrofilaria yang ditemukan di dalam darah. Pada penelitian ini OD antigen beredar pada penderita yang di dalam darahnya ditemukan 120 mikrofilaria adalah 1,35. Hal ini disebabkan bahwa antigen beredar di dalam serum penderita mikrofilaremia, di samping terdiri atas komponen-komponen seperti tersebut di atas juga *parturition fluid* yang jumlahnya tergantung jumlah mikrofilaria yang dilahirkan. Makin banyak mikrofilaria yang dilahirkan makin banyak *parturition fluid* yang disekresikan oleh cacing dewasa sehingga kadar antigen beredar di dalam serum makin tinggi.



GAMBAR 1. – Hubungan antara OD antigen beredar dalam serum dengan jumlah mikrofilaria di dalam 2 ml darah vena penderita filariasis malayi

More & Copeman²⁰ dan Chanteau *et al.*²¹ melaporkan bahwa terdapat korelasi positif antara antigen beredar dengan jumlah mikrofilaria di dalam darah penderita *W. bancrofti*.

Ada yang berpendapat bahwa korelasi antara antigen beredar dengan jumlah mikrofilaria, sangat bergantung pada spesifisitas antibodi monoklonalnya. Antibodi monoklonal yang kurang baik spesifisitasnya selain bereaksi dengan antigen beredar juga akan bereaksi dengan protein lain sehingga dengan cara *sandwich* ELISA kadar antigen beredar tidak dapat dinilai dengan tepat. Hal ini dapat ditunjukkan dengan antibodi monoklonal HC11 anti protein ES *W. bancrofti* yang masih bereaksi silang dengan protein nematoda lainnya, ternyata tidak ada korelasi antara jumlah mikrofilaria di dalam darah dengan kadar antigen beredar¹⁴.

SIMPULAN

1. Antigen beredar di dalam serum penduduk yang bermukim di daerah endemik filariasis malayi dapat dideteksi dengan cara *sandwich* ELISA menggunakan antibodi monoklonal Fes₁ sebagai berikut:
 - a. Pada kelompok penduduk mikrofilaremia simptomatik ditemukan 100% positif antigen beredar.

- b. Pada kelompok penduduk amikrofilaremia simptomatik ditemukan 35,7% positif antigen beredar.
 - c. Pada kelompok penduduk mikrofilaremia asimtomatik ditemukan 89,2% positif antigen beredar.
 - d. Pada kelompok penduduk amikrofilaremia asimtomatik ditemukan 26,3% positif antigen beredar.
2. Kadar antigen beredar di dalam serum mempunyai korelasi positif dengan jumlah mikrofilaria yang ditemukan di dalam darah vena.
 3. Cara deteksi antigen beredar dalam serum dapat dipakai untuk membantu diagnosis filariasis malayi yang sulit didiagnosis dengan cara klinis maupun parasitologis yaitu pada kelompok amikrofilaremia asimtomatik

SARAN

Masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fluktuasi antigen beredar di dalam serum penderita filariasis dan korelasi antara antigen beredar dengan jumlah cacing dewasa di dalam habitatnya.

KEPUSTAKAAN

1. Burgess GW. Teknologi ELISA dalam diagnosis dan penelitian (Terjemahan oleh Wayan T. Artama). Yogyakarta; Gadjah Mada University Press, 1995.

2. Franks, M.B. Specific soluble antigen in the blood of filarial patients. *J. Parasitol.* 1946; 32: 400-406.
3. Lal RB, Paranjape RS, Briles DE, Nutman TB, and Ottesen EA. Circulating parasite antigens in lymphatic filariasis: use of monoclonal antibodies to phosphorilcholine for immunodiagnosis. *J Immunol.* 1987; 138 (10): 3454-60.
4. Kaushal NA, Hussain R, Nash TE, and Ottesen EA. Identification and characterization of excretory-secretory products of *Brugia malayi*, adult filarial parasites. *J. Immunol.* 1982; 129(1): 338-42.
5. Cheiramaraj K, & Harinath BC. Humoral immune response to infective larval antigen in *Brugia malayi* infected *Mastomys natalensis*. *Acta Trop.* 1991; 48: 305-12.
6. Harnett W, Meghji M, Worms MJ, and Parkhouse RME. Quantitative and qualitative changes in production of excretions secretions by *litomosoides carinii* during development in the jird (*Meriones unguiculatus*). *Parasitology* 1986; 93: 317-31.
7. Lightowlers MW, & Rickard MD. Excretory-secretory products of helminth parasites: effects on host immune responses. *Parasitology.* 1988; 96: 123-66.
8. Wyler DJ. Immunology of lymphatic filariasis. Modern parasite biology: cellular, immunological and molecular aspects. New York: Freeman and Company, 1990.
9. Lim PKC. Recent advances in diagnostic techniques in filariasis. *The Southeast Asian J Trop Med Publ Hlth.* 1993; 24 (supp 2): 45-50.
10. Brown A, Griffiths G, Brophy PM, Furnidge BA, and Pritchard DI. The production and analysis of helminth excretory-secretory (ES) products. *Analytical Parasitology.* Springer Lab. Manual, 1996.
11. Maizels RM, Sartono E, Kurniawan A, Partono F, Selkirk ME, and Yazdanbaksh M. T cell activation and the balance of antibody isotypes in human lymphatic filariasis. *Parasitol Today.* 1995; 29: 553-62.
12. Snedecor GW, & Cochran WG. *Statistical Methods* 7th Ed. The IOWA USA. 1980; 441-2.
13. Soeyoko. Pengembangan antibodi monoklonal spesifik terhadap antigen beredar *Brugia malayi* untuk diagnosis filariasis malayi. Tesis, Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1998.
14. Huijun Z, Zhenghou T, Reddy MVR, Harinath BC, and Piessens WF. Parasites antigens in sera and urine of patients with bancroftian and brugian filariasis detected by Sandwich ELISA with monoclonal antibodies. *Am J Trop Med Hyg.* 1987; 36(3): 554-60.
15. Cheiramaraj K, Reddy M, and Harinath BC. Diagnostic use of polyclonal antibodies raised in mouse ascitic fluid in bancroftian filariasis. *J Immunoassay.* 1991; 11(4): 429-44.
16. Dasgupta A, Bala S, and Dutta SN. Lymphatic filariasis in man: demonstration of circulating antigens in *Wuchereria bancrofti* infection. *Parasite Immunol.* 1984; 6: 341-48.
17. Yang W, Shen Y, and Zhang Z. Parasitic circulating antigens in hosts with filaria bancrofti. *Chung Hua I. Hsueh Tsa Chih.* 1994; 74(3): 155-7.
18. Ramzy RM, Gad AM, Faris R, and Weil GJ. Evaluation of monoclonal antibody based antigen assay for diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection in Egypt. *Am J Trop Med Hyg.* 1991; 44: 691-5.
19. Soeyoko & Sumarni S. The use of monoclonal antibody in the detection of circulating antigens in malayan filariasis cases. *BIKed.* 1993; 25(3): 115-9.
20. More SJ, Copeman DB. A highly specific and sensitive monoclonal antibody based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. *Trop Med Parasitol.* 1990; 41: 403-6.
21. Chanteau S, Moulia Pelat JP, Glaziou P, Nguyen NL, Luquiaud P, and Plichart C., OG4C3 circulating antigen: a marker of infection and adult worm burden in *Wuchereria bancrofti* filariasis. *J. Infect Dis* 1994; 170(1): 247-50.