
Uji Diagnostik Pemeriksaan Antigen Nonstruktural 1 untuk Deteksi Dini Infeksi Virus Dengue pada Anak

Megariani, Rinang Mariko, Amrin Alkamar, Andani Eka Putra

Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/RSUP dr. M. Djamil, Padang

Latar belakang. Di negara tropis dan subtropis, dengue adalah masalah kesehatan utama. Diagnosis dini sangat penting untuk manajemen infeksi dengue. Nonstruktural 1 merupakan pendekatan baru terhadap diagnosis dengue. Pemeriksaan *rapid* NS1 dilakukan untuk deteksi dini infeksi virus dengue pada anak.

Tujuan. Menentukan nilai diagnostik NS1 mencakup sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, dan keakuratan NS1 untuk deteksi dini infeksi virus dengue.

Metode. Dilakukan penelitian *cross sectional* terhadap 50 orang anak demam hari ke-1, ke-2 atau ke-3 dengan tes *tourniquet* positif pada bulan April sampai Desember 2012. *Rapid test* NS1 dilakukan untuk dibandingkan dengan RT PCR sebagai *gold standard*.

Hasil. Didapatkan 50 orang anak dengan demam dan tes *tourniquet* positif. Duapuluh lima anak NS1 positif dan 26 RT PCR positif. *Rapid test* NS1 memiliki sensitivitas 92,3%, spesifisitas 95,8%, nilai duga positif 96 %, nilai duga negatif 92 %, dan keakuratan 94%.

Kesimpulan. *Rapid test* NS1 mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi untuk deteksi dini infeksi virus dengue pada anak. **Sari Pediatri** 2014;16(2):121-7.

Kata kunci: diagnostik dini, infeksi virus dengue, antigen NS1, anak

Dengue adalah penyakit arbovirus endemik yang saat ini telah menjangkiti lebih dari 100 negara, baik yang terletak di daerah tropis maupun subtropis.^{1,2} Badan kesehatan dunia WHO memperkirakan sekitar 50-100 juta kasus infeksi virus dengue

terjadi dengan 24.000 kematian setiap tahunnya.^{2,3} Di Indonesia, demam berdarah dengue pertama kali dilaporkan di Jakarta dan Surabaya pada tahun 1968. Tahun-tahun selanjutnya, kasus demam berdarah dengue berfluktuasi jumlahnya dan cenderung meningkat dan daerah yang terjangkit semakin luas. Awal tahun 2004, Indonesia kembali diguncang wabah dengue, lebih dari 10.000 kasus terjadi di Jakarta dengan angka kematian dilaporkan 603 orang.^{4,5} Kemudian pada tahun 2006, insiden DBD adalah 52,48 per 100.000 penduduk dan meningkat

Alamat korespondensi:

Dr. Rinang Mariko, SpA. RSUD Sungai Dareh. Jl. Lintas Sumatera KM I, Pulau Punjung, Dhamas Raya, SUMBAR. E-mail: rinang_mariko@idai.or.id.

menjadi 71,78 per 100.000 penduduk pada tahun 2007.⁶ Di Sumatera Barat, kasus DBD tahun 2006 adalah 23,9 per 100.000 penduduk dan meningkat tajam menjadi 48,05 per 100.000 penduduk pada tahun 2007.⁷

Kekhawatiran sekarang adalah apabila virus dengue menjadi semakin ganas sehingga menyebabkan pandemi penyakit yang lebih mematikan sementara vaksin yang efektif belum berhasil dikembangkan. Alasan lain adalah masalah sanitasi lingkungan yang buruk, populasi penduduk padat, dan mobilitas tinggi. Semua ini merupakan kondisi ideal bagi virus untuk mempertahankan dan memperluas mata rantai siklusnya melalui perantara vektor (*Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*) sehingga memberikan peluang virus berevolusi menghasilkan varian-varian baru yang semakin ganas.⁸

Gejala awal infeksi virus dengue sering tidak khas sehingga terjadi keterlambatan diagnosis. Perjalanan penyakit bisa sangat cepat dalam beberapa hari, bahkan dalam hitungan jam penderita bisa masuk dalam keadaan kritis.⁹⁻¹² Untuk menghindari keterlambatan diagnosis, perlu diketahui deteksi dini terhadap infeksi virus ini. Saat ini, telah dikembangkan suatu pemeriksaan baru terhadap antigen nonstruktural 1 (NS1) yang dapat mendeteksi atau mendiagnosis infeksi virus dengue lebih awal, bahkan pada hari pertama onset demam karena protein NS1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut.^{1,13-18} Adanya pemeriksaan NS1 ini sangat penting karena dapat dilakukan terapi suportif dan pemantauan pasien segera dan dapat mengurangi risiko komplikasi maupun kematian.¹⁹⁻²¹

Libraty dkk²² meneliti 18 orang anak dengan DBD, didapatkan NS1 sudah terdeteksi pada hari ke-2 demam dan kadar tertinggi didapatkan pada hari ke-3 demam, sedangkan kadar terendah didapatkan pada hari ke-8 demam. Dussart dkk,¹ meneliti 299 pasien demam dengue di Perancis. Didapatkan sensitivitas NS1 pada hari 1-4 demam adalah 87,6% dan 43,5% pada hari 5-10 demam. Penelitian lain dilakukan oleh Kumarasamy dkk,¹⁸ diperoleh hasil bahwa sensitivitas reagen komersial antigen dengue NS1 untuk infeksi virus dengue akut 93,4% dan spesifisitas 100%. Nilai ramal positif dan negatif masing-masing 100% dan 97,3%. Lastere dkk²³ meneliti 181 pasien DHF di Polinesia, Perancis, didapatkan sensitifitas NS1 76,5% dan spesifisitas 96,2%.

Metode

Penelitian dilakukan di Poliklinik Ilmu Kesehatan Anak RSUP dr M.Djamil, Puskesmas di lima kecamatan di Kotamadya Padang yang mempunyai prevalensi DHF tertinggi (Kuranji, Koto Tengah, Padang Utara, Nanggalo, Padang Timur) dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dimulai pada bulan April sampai Desember 2012. Sampel dipilih secara *non probability sampling* dengan teknik konsekutif sehingga semua populasi yang dicurigai dengan infeksi virus dengue dan memenuhi kriteria inklusi dimasukkan ke dalam penelitian. Kriteria inklusi adalah pasien demam pada hari ke-1, ke-2 atau hari ke-3 dengan uji *tourniquet* positif dan menyetujui ikut penelitian. Kriteria eksklusi adalah pasien yang secara klinis menderita penyakit infeksi lain, seperti infeksi saluran nafas, saluran pencernaan atau saluran kemih, dan menderita penyakit imuno defisiensi

Hasil

Karakteristik dari sampel penelitian tertera pada Tabel 1. Terlihat umur rata-rata 8,98 (SD 3,673) tahun dengan rentang umur sampel berkisar antara 6 bulan sampai 17 tahun. Didapatkan laki-laki lebih banyak dari perempuan, yaitu 27 (54%) orang. Status gizi ditemukan lebih banyak gizi kurang (62%). Lama demam 28 (56%) orang yang datang pada demam hari ke-3, 21 (42%) hari ke-2, dan 1 (2%) pada hari ke-1 (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik(n=50)	Hasil
Umur (tahun)/rerata (SD)	8,98 (3,673)
Jenis kelamin	
Laki-laki (n,%)	27 (54,0)
Perempuan (n,%)	23 (46,0)
Status gizi (n,%)	
Kurang	31 (62,0)
Baik	13 (26,0)
Lebih	4 (8,0)
Obesitas	2 (4,0)
Lama demam (hari, (n,%)	
1	1 (2,0)
2	21 (42,0)
3	28 (56,0)

Dari 50 sampel, 19 (38%) sampel dirawat di rumah sakit, meskipun NS1 positif hanya 18 sampel. *Follow-up* saat dirawat, 4 (8%) sampel mengalami demam dengue, 7 (14%) DHF *grade* 1, dan 8 (16%) DHF *grade* 2. Terdapat 7 (14%) sampel penelitian dengan NS1 positif, tetapi tidak dirawat. Sampel tetap diamati dan diperiksa laboratorium untuk konfirmasi diagnosis, didapatkan 6 (12%) sampel demam dengue dan 1 (2%) DHF *grade* 1. Dari 19 (38%) sampel yang dirawat, 17 (34%) PCR positif. Sebaliknya, dari 31 (62%) sampel yang tidak dirawat, 9 (18%) positif dengan pemeriksaan PCR.

Berdasarkan lama demam, 15 (30%) sampel hasil NS1 positif lebih banyak pada demam hari ke-3, disusul 10 (20%) sampel demam hari ke-2. Hasil uji *chi square* didapatkan nilai tidak bermakna ($p=0,5$).

Sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif dan akurasi NS1 untuk diagnosis infeksi virus dengue

Sensitivitas, spesifisitas, nilai duga, dan akurasi untuk membuktikan kemampuan NS1 untuk diagnosis infeksi virus dengue dibandingkan dengan PCR sebagai *gold standar* (Tabel 3).

Tabel 3 memperlihatkan bahwa 50 sampel yang dicurigai, mengalami infeksi virus dengue. Duapuluh empat sampel positif benar menderita DBD (a), 1 sam-

pel positif palsu (b), 2 negatif palsu (c), dan 23 negatif benar (d). Sensitivitas NS1 92,3%, spesifisitas 95,8, nilai prediksi positif 96%, nilai prediksi negatif 92%, dan akurasi NS1 untuk diagnosis infeksi virus dengue 94%. Terdapat 24 sampel yang menderita infeksi virus dengue baik dengan pemeriksaan PCR maupun dengan NS1. Didapatkan 26 orang menderita infeksi virus dengue dengan menggunakan PCR, sedangkan 25 orang dengan menggunakan NS1. Hasil uji Kappa didapatkan nilai 0,88 yang memperlihatkan adanya kesesuaian hasil antara PCR dengan *rapid test* NS1 untuk diagnosis infeksi virus dengue ($p=0,000$).

Serotipe virus dengue

Terlihat hasil RT-PCR. Ditemukan 26 sampel terinfeksi virus dengue dengan proporsi serotipe virus dengue yang berbeda (Gambar 1). Infeksi oleh DEN-2 merupakan kasus terbanyak, yaitu 12 (46,15%), disusul oleh DEN-1 dan DEN-4, masing-masing 4 (15,38%) kasus. Infeksi oleh DEN-3 ditemukan pada 3 (11,54%) kasus. Dari 26 sampel dengan PCR positif, ditemukan 3 sampel dengan 2 serotipe pada saat bersamaan (*concurrent infection*), yaitu 2 (7,7%) sampel dengan serotipe 2 dan 3, serta 1 (3,8%) dengan serotipe 1 dan 3.

Berdasarkan serotipe virus Den 1, Den 2, Den 4 memperlihatkan sensitivitas NS1 100% dan Den-3 sensitivitas 33,3% (Tabel 4).

Tabel 2. Hasil pemeriksaan NS1 berdasarkan lama demam

Lama demam (hari)	NS 1	
	positif (n,%)	Negatif (n,%)
1	0 (0%)	1 (2%)
2	10 (20%)	11 (22%)
3	15 (30%)	13 (26%)

$p>0,05$ (tidak bermakna)

Tabel 3. Hasil uji NS1 dengan PCR

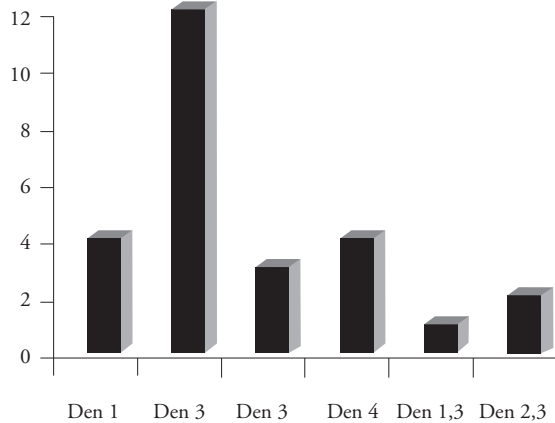
	PCR		Jumlah
	Positif (n)	Negatif(n)	
NS1 Positif (n)	24	1	25
Negatif (n)	2	23	25
Jumlah	26	24	50

Sensitivitas : 92,3%
 Spesifisitas : 95,8%
 Nilai duga positif : 96%
 Nilai duga negatif : 92%
 Akurasi : 94%

Pembahasan

Dari 50 orang sampel yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue didapatkan rentang umur sampel berkisar antara 6 bulan sampai 17 tahun dengan rata-rata 8,98 (SD 3,673) tahun. Hasil tersebut tidak jauh berbeda

dengan yang didapatkan Libraty dkk,²² umur rata-rata sampel yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue adalah 9,5 tahun (rentang umur 2,9-13,5 tahun). Kalayanarooj dkk²⁴ di Timor Leste, mendapatkan umur rata-rata sampel anak yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue adalah 2,5 tahun dengan kelompok umur terbanyak adalah usia 1-4 tahun.



Gambar 1. Distribusi virus dengue berdasarkan serotipe

Tabel 4. Sensitivitas NS1 berdasarkan serotipe

Serotipe	Sensitivitas NS1
Den 1	100 %
Den 2	100 %
Den 3	33,3 %
Den 4	100 %

Berdasarkan jenis kelamin, didapatkan jumlah anak laki-laki lebih banyak dari pada perempuan, yaitu 27 (54%) orang. Serupa dengan penelitian Libraty dkk²² yang mendapatkan penderita anak laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan dengan rasio 2,2:1. Berbeda dengan penelitian molekular yang dilakukan oleh Kalayanarooj dkk²⁴ di Timor Leste, pasien yang dicurigai mengalami infeksi virus dengue lebih banyak anak perempuan. Di Indonesia dan di Filipina, tidak terdapat perbedaan antara anak perempuan dan anak laki-laki yang menderita demam berdarah.²⁵

Rothman dkk²⁶ menyebutkan bahwa rendahnya persentase perempuan penderita DBD dibandingkan laki-laki disebabkan sistem imun perempuan lebih baik dari laki-laki. Pada perempuan, produksi sitokin anti inflamasi lebih banyak sehingga perempuan yang terinfeksi DBD memberikan keluhan klinis yang kurang jelas dan jarang yang dirawat. Soedarmo

dkk²⁵ menyebutkan bahwa kromosom XX pada anak perempuan mempunyai peran dalam mengelola produksi imunoglobulin secara kuantitatif. Namun, penelitian Halstead dkk²⁷ membuktikan bahwa tidak terdapat perbedaan antara respon infeksi anak perempuan dan anak laki-laki.

Sebagian besar subjek penelitian memiliki status gizi kurang (62%), gizi baik (26%), gizi lebih (8%), dan obesitas (4%). Hal tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hadinegoro dkk²⁸ dan Hartoyo²⁹ yang mendapatkan sampel penelitian dominan dengan gizi baik. Penelitian di Taiwan dan penelitian terbaru di St. *Jude Children's Research Hospital*, Salvador, menemukan bahwa status gizi tidak memengaruhi keparahan penyakit pada infeksi virus dengue.³⁰ Thisyakorn dan Nimmannitya³¹ melaporkan malnutrisi kalori dan protein derajat ringan akan terhindar dari DSS. Pichainarong dkk³² melaporkan pasien obesitas memiliki risiko menderita DBD derajat berat lebih tinggi. Status nutrisi memengaruhi derajat berat ringannya penyakit berdasarkan teori imunologi, yaitu gizi baik meningkatkan respon antibodi. Reaksi antigen dan antibodi yang berlebihan menyebabkan infeksi dengue lebih berat. Walaupun demikian, mekanisme peningkatan kejadian DSS pada obesitas masih belum jelas, apakah hal ini berhubungan dengan pelepasan sitokin pro-inflamasi oleh sel adiposit jaringan lemak.³³

Persentase NS1 positif lebih besar pada hari ke-3 demam dibandingkan hari ke-2, tetapi tidak didapatkan nilai yang bermakna secara statistik. Dussart dkk¹ meneliti 299 pasien demam dengue di Perancis. Didapatkan sensitivitas NS1 pada hari 0-4 demam 87,6%, dan 43,5% pada hari 5-10 demam. Datta dkk,⁴⁰ di India tahun 2010, membandingkan NS1 pada fase akut dan konvalesen, didapatkan NS1 positif 71,42% pada fase akut, sedangkan pada fase konvalesen NS1 positif hanya 6,38%. Sensitivitas NS1 yang tinggi pada fase awal demam karena protein NS1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut, baik pada infeksi primer maupun sekunder.^{1,16} Kadar NS1 yang tinggi sampai hari ke-5 demam berhubungan dengan waktu terjadinya viremia karena merupakan periode replikasi virus dan belum terdapatnya antibodi terhadap virus. Kadar viremia dan kadar NS1 juga tergantung pada karakteristik intrinsik dari *strain* virus yang menginfeksi dan status imunitas dari penderita sendiri.³

Dari 50 sampel penelitian didapatkan 24 subjek

positif dengue (a), 1 pasien positif palsu (b), 2 subjek negatif palsu (c) dan 23 pasien benar negatif (d). Dari hasil tersebut dapat dihitung sensitivitas 92,3%, spesifisitas 95,8%, nilai duga positif 96%, nilai duga negatif 92%, serta akurasi 94%. Hasil yang hampir sama didapatkan oleh Zainah dkk²⁰ dengan sensitivitas 90,4% dan spesifisitas 99,5%. Ty Hang dkk²¹ melakukan penelitian pada 138 pasien mendapatkan sensitivitas 83,2%, spesifisitas 100%, nilai duga positif 100%, nilai duga negatif 38,2%. Sementara itu, Osorio dkk⁴¹ mendapatkan sensitivitas lebih rendah, yaitu 70,8%, spesifisitas 91,3%, nilai duga positif 95,5% dan nilai duga negatif 57,5%.

Perbedaan hasil tersebut bisa disebabkan oleh perbedaan kit yang dipakai. Kit yang memakai antibodi monoklonal untuk mendeteksi antigen NS1 hasilnya lebih baik dari pada kit dengan antibodi poliklonal karena antibodi monoklonal lebih spesifik dibanding antibodi poliklonal.³⁴ McBride dkk³⁷ membandingkan kit monoklonal dengan poliklonal, didapatkan sensitivitas kit monoklonal 73,6% sedangkan sensitivitas kit poliklonal 63,7%. Dussart dkk³⁸ juga membandingkan 2 kit tersebut. Kit monoklonal lebih sensitif (87,4%) dibanding poliklonal (60,4%). Antibodi monoklonal sebagai dasar pemeriksaan memiliki keunggulan dibanding poliklonal, yaitu lebih mudah untuk distandarisasi pada laboratorium yang berbeda-beda.³⁶ Penelitian ini menggunakan kit dari *SD Bioline Dengue NS1 Ag* yang menggunakan antibodi monoklonal.

Dilakukan pengamatan terhadap sampel penelitian dengan NS1 positif, dari 25 sampel NS1 positif, 18 sampel dirawat dan 7 sampel tidak dirawat. Setelah dikonfirmasi dengan klinis dan laboratorium, didapatkan demam dengue 9 (36%) sampel, DHF *grade* 1 dan *grade* 2 masing-masing 8 (32%) sampel. Dari 18 sampel yang dirawat, didapatkan 2 (8%) mengalami syok. Pemeriksaan dengan RT-PCR terhadap sampel yang syok, 1 dengan serotipe Den 2 dan 1 lagi dengan Den 3. Penelitian molekular yang dilakukan oleh Kalayanarooj dkk²⁴ dari 38 orang anak yang dikonfirmasi mengalami infeksi virus dengue, 2,6% mengalami demam dengue.

Proporsi serotipe virus dengue berbeda, infeksi oleh Den 2 merupakan kasus terbesar. Hasil tersebut sama dengan yang didapatkan Shu dkk¹⁴ di Taiwan. Sebaliknya, di Vietnam, Ty Hang dkk²¹ mendapatkan serotipe virus dengue yang terbanyak adalah Den 1 dan Den 3.³⁵

Didapatkan 3 sampel dengan 2 serotipe virus dengue

dalam 1 sampel darah setelah dilakukan pemeriksaan RT-PCR (*concurrent infection*). Dua (7,7%) sampel dengan serotipe Den 2 dan Den 3, serta 1 (3,8%) sampel dengan serotipe Den 1 dan Den 3. Kejadian ini juga dilaporkan oleh Shu dkk¹⁴ di Taiwan, yang melakukan pemeriksaan RT PCR saat terjadi *outbreak* infeksi dengue. Didapatkan 2 sampel terinfeksi virus Den 2 dan Den 3 sekaligus dari 21 sampel yang diperiksa. Datta dkk⁴⁰ juga menemukan hal yang sama di India dengan angka kejadian *concurrent infection* yang lebih besar yaitu 21 (56,8%) sampel dari 37 sampel yang diperiksa. Delapanbelas sampel dengan serotipe 2 dan 3, 2 sampel dengan serotipe 1 dan 2, dan 1 sampel ditemukan 3 serotipe sekaligus yaitu Den 1, 2, dan 3. Kejadian ini disebabkan vektor terinfeksi lebih dari 1 serotipe virus dengue.⁴¹

Penelitian ini mendapatkan sensitivitas NS1 yang tinggi untuk setiap serotipe, kecuali Den 3. Den 1, Den 2, dan Den 4 yang mempunyai sensitivitas 100%, sedangkan Den 3 memiliki sensitivitas terendah (33,3%). Penelitian Ramirez dkk²⁵ mendapatkan sensitivitas untuk Den 1 paling tinggi (90%), selanjutnya Den 3 (65%), sensitivitas Den 4 (30%) dan Den 2 (20%). Penelitian Ty Hang dkk²¹ mendapatkan sensitivitas Den 1 (98%), Den 3 (96%), Den 2 (85%) dan Den 4 (40%). Perbedaan sensitivitas untuk masing-masing serotipe disebabkan adanya perbedaan kombinasi reagen imun yang memiliki kemampuan yang rendah untuk serotipe tertentu. Selain itu, bisa juga disebabkan perbedaan geografis dari daerah.²⁵

Kesimpulan

Disimpulkan bahwa protein nonstruktural 1 (NS1) memiliki sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif dan akurasi yang tinggi untuk diagnosis dini infeksi virus dengue. Pada demam hari ke-3, NS1 positif lebih banyak, tetapi tidak didapatkan nilai yang bermakna secara statistik. Serotipe infeksi virus dengue yang terbanyak adalah virus Den 2 dan sensitivitas NS1 lebih tinggi pada serotipe Den 1, Den 2, dan Den 4.

Daftar pustaka

1. Dussart P, Labeau B, Lagathu G. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. *Clin Vaccine Immunol*

- 2006;13:1185-9.
2. World Health Organization . Dengue haemorrhagic fever : Diagnosis, treatment, prevention and control. Edisi ke-2. Geneva:WHO;1997.h.1-84.
3. Nimmannitya S. Dengue haemorrhagic fever: A scourge of South-East Asian Region. Global innovation to fight dengue. 2nd International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. Phuket: Thailand;2008.h.22.
4. Suroso T, Umar AI. Epidemiologi dan penanggulangan penyakit demam berdarah dengue (DBD) di Indonesia. Dalam: Hadinegoro SR, Satari HI, penyunting. Tata laksana kasus DBD. Naskah lengkap pelatihan bagi dokter spesialis anak dan dokter spesialis penyakit dalam. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 2004.h.14-31.
5. Suwandono A, Kosasish H, Nurhayati. Four dengue virus serotypes found circulating during an outbreak of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Jakarta, Indonesia, during 2004. Trans R Soc Trop Med 2006;100:855-62.
6. Departemen Kesehatan RI. Peta Kesehatan Indonesia; 2007.
7. Dinkes Tk I. Prop. Sumatera Barat. Data DBD Propinsi Sumatera Barat tahun 2006/2007.
8. Raekiansyah M, Sudiro TM. Genetic variation among dengue virus that possibly correlate with pathogenesis. Med J Indones 2004;13:190-4 .
9. Setiabudi D. Pemeriksaan dengue NS1 antigen. Dalam: Gunardi H, Tehuteru E, Kurniati N dkk, penyunting. Kumpulan tips pediatri. Edisi kedua. Jakarta: Badan Penerbit Ikatan Dokter Anak Indonesia;2011.h.127-8.
10. Soegijanto S. Patogenesis dan perubahan patofisiologi pada infeksi virus dengue. Dalam : Soegijanto S, penyunting. Kumpulan makalah penyakit tropis dan infeksi di Indonesia. Jilid 3. Surabaya : Airlangga University Press; 2005.h.195-212.
11. Soedarmo SP. Infeksi virus dengue. Dalam : Soedarmo SP, Garna H, Hadinegoro SR, Satari HI, penyunting. Buku ajar infeksi dan pediatrik tropis. Edisi kedua. Jakarta : Badan penerbit FKUI; 2008.h.155-81 .
12. Chen K, Pohan PT, Sinto R. Diagnosis dan terapi cairan pada demam berdarah dengue. Medicinus 2000;22:3-7.
13. Alcon S, Talarmin A, Debryne M, Falconar A, Deubel V and Flamand M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. J Clin Microbiol 2002;40:376-81.
14. Shu PY, Chen LK, Chang SF. Comparison of capture IgM and IgG enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nonstructural protein NS1 serotype-specific IgG ELISA for differentiation of primary and secondary dengue virus infection. Clin Diagn Lab Immunol 2003;10:622-30 .
15. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vomdam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1992;30:545-51.
16. Sudiro TM, Ishiko H, Green S. Rapid diagnosis of dengue viremia by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Am J Trop Hyg 1997;56:424-9.
17. Koraka P, Burghoorn CP, Falconar A. Detection of immune complex dissociated nonstructural 1 antigen in patients with acute dengue virus infections. J Clin Microbiol 2003; 41:4154-9.
18. Kumarasamy V, Chua SK, Hassan Z, Wahab AH, Chem YK, Mohamad M, dkk. Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen-capture Elisa for early diagnosis of acute dengue infection. Singapore Med J 2007;48:669-73.
19. Sekaran D, Lan EC, Maheswarappa KB, Appanna R, Subramaniam G . Evaluation of a dengue NS1 capture ELISA assay for the rapid detection of dengue. J Infect Developing Countries 2007;1:182-8.
20. Zainah S, Wahab A, Mariam M. Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. J Virol Methods 2009;155:157-60.
21. Ty Hang V, Mihn Nguyet N, The Trung D. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. Plos Negl Trop Dis 2009;3:1-7.
22. Libraty DH, Young PR, Pickering D. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. JID 2002;186:1165-8
23. Lastere S, Goffard N, Teissier A, Zisou K. Assessment of NS1 antigen detection tests during DEN-4 epidemic in French Polynesia. Pacific Public Health Surveillance Network 2010.
24. Kalayanaraj S, Rimal HS, Andjaparidze A. Short report: clinical intervention and molecular characteristics of a dengue hemorrhagic fever outbreak in Timor Leste. Am J Trop Med Hyg 2007;77:534-7.
25. Soedarmo SSP. Demam berdarah dengue pada anak.

- Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 2009.h.95-174.
26. Rothman AL. Pathogenesis of dengue virus infection. Dalam: Up To Date. Boston: Elsevier;2007.
 27. Halstead SB. Dengue fever and dengue haemorrhagic fever. Dalam: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. Nelson's textbook of pediatrics. 18th edition. Philadelphia : Saunders; 2004.h.1092-4.
 28. Hadinegoro SR, Citaresmi E, Akib AP. Diagnosis dan tata laksana demam berdarah dengue pada kejadian luar biasa tahun 2004 di enam rumah sakit di Jakarta. *Sari Pediatri* 2007;8:8-14.
 29. Hartoyo E. Spektrum klinis demam berdarah dengue pada anak. *Sari Pediatri* 2008 : 10 : 145-9.
 30. Maron GM, Clara AW, Diddle JW. Association between nutritional status and severity of dengue infection in children in El Salvador. *Am J Trop Med Hyg* 2010;8:324-9.
 31. Thisyakorn U, Nimmannitya S. Nutritional status of children with dengue hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis* 1993;16:295-7.
 32. Pichainarong N, Mongkalagoon N, Katayanarooj S, Chaveepojnkamjorn W. Relationship between body size and severity of dengue hemorrhagic fever among children aged 0-14 years. *South East Asian J Trop Med Public Health* 2006;3:283-8.
 33. Lastere S, Goffard N, Teissier A, Zisou K. Assessment of NS1 antigen detection tests during DEN-4 epidemic in French Polynesia. *Pacific Public Health Surveillance Network* 2010.
 34. Datta S, Wattal C. Dengue NS1 antigen detection : A useful tool in early diagnosis of dengue virus infection. *Indian J Med Microbiol* 2010;28:107-10.
 35. World Health Organization. Demam berdarah dengue. Jakarta: EGC;1997.h.17-28
 36. Trayhurn P, Wood LS. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochem Soc Transact* 2005;33:078-81.
 37. McBride WJH. Evaluation of dengue NS1 test kits for the diagnosis of dengue fever. *Diagnostic Microbiol and Infect Dis* 2009;64:31-6.
 38. Dussart P, Petit L, Labeau B. Evaluation of two new commercial tests for the diagnosis of acute dengue virus infection using NS1 antigen detection in human serum. *Plos Neglected Tropical Disease* 2008;2:1-8.
 39. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proceedings of the nutrition society* 2001;60:349-56.
 40. Datta S, Wattal C. Dengue NS1 antigen detection : A useful tool in early diagnosis of dengue virus infection. *Indian J Med Microbiol* 2010;28:107-10.
 41. Osorio L, Ramirez M, Bonelo A. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1- based diagnostic test for early dengue infection. *Virology* 2010;7:361.