



INTISARI SAINS MEDIS

Published by Intisari Sains Medis

Nilai diagnostik pemeriksaan *Antinuclear Antibody* (ANA) secara kuantitatif dengan metode *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA) pada pasien dengan penyakit autoimun



CrossMark

Indah Adhita Wulanda¹, Hani Susianti¹, Dian Sukma Hanggara¹, Kusworini Handono¹,
Raymond Poeng^{2*}, I Komang Adi Widana², Deasy Ayuningtyas Tandio²

¹Departemen/SMF Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang, Indonesia

²PPDS Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang, Indonesia

*Korespondensi:

Raymond Poeng; PPDS Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang, Indonesia;
raymondpoeng30@gmail.com

Diterima: 24-12-2021
Disetujui: 10-02-2022
Diterbitkan: 18-02-2022

ABSTRACT

Background: Many serological examination methods have been developed to assist in diagnosing autoimmune diseases, one of which is the Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) method. The CLIA method is an alternative method that is faster and estimated to have the same accuracy with IFA as the gold standard examination. It can help diagnose autoimmune diseases more quickly and easily. This study aims to determine the diagnostic value and conformity of the Anti-Nuclear Antibody (ANA) examination using the IFA method with the CLIA method in patients with autoimmune diseases.

Methods: The research design is a cross sectional study with consecutive sampling methods in autoimmune disease patients at Dr. Saiful Anwar Hospital Malang. ANA examination using the IFA method and the CLIA method. The data obtained by examining the IFA method is categorical, and the CLIA method is numerical. The diagnostic test uses the ROC curve and

generates the AUC to determine the cut-off point. Furthermore, the suitability test was carried out using the Cohen's Kappa analysis technique. Data were analyzed using SPSS version 25 for Windows.

Results: The research sample collected was 110. Patients with positive ANA IFA results showed the same results with the CLIA method (58,18%). The diagnostic test using the cut-off value of serum ANA levels of 41.79 AU/mL showed a sensitivity value of 98.4%, specificity 95.5%, a positive predictive value of 95.63% and a negative predictive value of 98.35% with an AUC of 0.990. The suitability value of the ANA examination with the IFA and CLIA methods with the Cohen's Kappa test showed very good results, which was 0.908 (p=0.000).

Conclusion: There is a very good suitability value in examining the ANA parameters of the IFA method and the CLIA method. ANA CLIA examination has good diagnostic value.

Keywords: ANA, IFA, CLIA, autoimmune disease.

Cite This Article: Wulanda, I.A., Susianti, H., Hanggara, D.S., Handono, K., Poeng, R., Widana, I.K.A., Tandio, D.A. 2022. Nilai diagnostik pemeriksaan *Antinuclear Antibody* (ANA) secara kuantitatif dengan metode *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA) pada pasien dengan penyakit autoimun. *Intisari Sains Medis* 13(1): 79-82. DOI: [10.15562/ism.v13i1.1223](https://doi.org/10.15562/ism.v13i1.1223)

ABSTRAK

Latar Belakang: Banyak metode pemeriksaan serologi yang berkembang untuk membantu penegakan diagnosis penyakit autoimun, salah satunya metode *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA). Metode CLIA merupakan alternatif metode yang lebih cepat dan diperkirakan memiliki keakuratan yang sama dengan pemeriksaan baku emas *Immunofluorescence Assay* (IFA), sehingga dapat membantu menegakkan diagnosa penyakit autoimun dengan lebih cepat dan mudah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik dan kesesuaian hasil pemeriksaan *Anti-Nuclear Antibody* (ANA) metode IFA dengan metode CLIA pada pasien dengan penyakit autoimun.

Metode: Desain penelitian adalah studi potong lintang dengan metode *consecutive sampling* pada pasien penyakit autoimun di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Pemeriksaan ANA menggunakan metode IFA dan metode CLIA. Data yang diperoleh dengan pemeriksaan metode IFA bersifat kategorikal, dan metode CLIA bersifat numerik. Uji diagnostik menggunakan kurva ROC dan menghasilkan AUC untuk menentukan *cut-off-point*. Selanjutnya dilakukan uji kesesuaian dengan teknik analisis *Cohen's Kappa*. Data dianalisis dengan SPSS versi 25 untuk Windows.

Hasil: Sampel penelitian terkumpul 110. Pasien dengan hasil ANA IFA positif yang menunjukkan hasil

yang sama dengan metode CLIA adalah (58,18%). Uji diagnostik menggunakan nilai *cut-off* kadar ANA serum 41,79 AU/mL menunjukkan nilai sensitivitas 98,4%, spesifisitas 95,5%, nilai ramal positif 95,63% dan nilai ramal negatif 98,35% dengan AUC 0,990. Nilai kesesuaian pemeriksaan ANA dengan metode IFA dan CLIA dengan uji *Cohen's Kappa* menunjukkan hasil

yang sangat baik secara bermakna yaitu sebesar 0,908 ($p=0.000$)

Kesimpulan: Terdapat nilai kesesuaian yang sangat baik pada pemeriksaan parameter ANA metode IFA dan metode CLIA. Pemeriksaan ANA CLIA memiliki nilai diagnostik yang bagus

Kata kunci: ANA, IFA, CLIA, penyakit autoimun.

Sitasi Artikel ini: Wulanda, I.A., Susianti, H., Hanggara, D.S., Handono, K., Poeng, R., Widana, I.K.A., Tandio, D.A. 2022. Nilai diagnostik pemeriksaan *Antinuclear Antibody* (ANA) secara kuantitatif dengan metode *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA) pada pasien dengan penyakit autoimun. *Intisari Sains Medis* 13(1): 79-82. DOI: 10.15562/ism.v13i1.1223

PENDAHULUAN

Penyakit autoimun merupakan penyebab utama kematian diantara wanita muda dan paruh baya di Amerika Serikat. Sekitar 75% wanita memiliki resiko yang lebih tinggi untuk terkena penyakit autoimun dibandingkan dengan pria, dan resiko tersebut meningkat seiring bertambahnya usia.¹ Kematian karena penyakit Lupus eritematosus sistemik (LES) dilaporkan mencapai angka yang cukup tinggi, dimana penyebab kematian disebabkan oleh adanya gangguan jantung, infeksi, dan yang paling sering terjadi adalah komplikasi lupus pada ginjal atau dikenal dengan lupus nefritis yang ditemukan pada 50% penderita.² Penyakit autoimun akan sangat mempengaruhi kualitas hidup dari penderita dan bahkan bisa berakibat kecacatan seumur hidup. Dari segi biaya, pasien yang terdiagnosis autoimun akan membutuhkan biaya pengobatan yang mahal. Hal itu akan menjadi lebih buruk bila terjadi keterlambatan diagnosis sehingga pasien berada pada stadium lanjut. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penegakkan diagnosis sedini mungkin untuk mencegah morbiditas dan mortalitas.³

Kadar autoantibodi sebenarnya sudah dapat terdeteksi dalam beberapa bulan atau bahkan beberapa tahun sebelum terjadi manifestasi klinis yang jelas dari penyakit autoimun.⁴ Saat ini pemeriksaan *Anti-Nuclear Antibody* (ANA) menggunakan metode *Immunofluorescence Assay* (IFA) masih digunakan sebagai baku emas penegakkan diagnosis penyakit autoimun.⁵ Pemeriksaan IFA memiliki kelemahan seperti biaya yang mahal, membutuhkan

keahlian operator pelaksana dan belum adanya standarisasi pemeriksaan.⁶ Saat ini pemeriksaan serologi mengalami perkembangan dalam pemilihan metode pemeriksaan seperti metode *chemiluminescent immunoassay* (CLIA).⁷ Parameter pemeriksaan ANA dengan metode CLIA memiliki beberapa keunggulan seperti biaya yang lebih murah, sepenuhnya bisa diotomatisasi, dan dikerjakan dalam waktu singkat jika dibandingkan dengan metode IFA.⁸

Untuk mendiagnosis penyakit autoimun masih merupakan tantangan bagi tenaga kesehatan khususnya dokter spesialis dikarenakan keterbatasan pemilihan metode pemeriksaan seperti IFA yang memerlukan tenaga ahli, waktu pengerjaan yang lama, serta biaya yang mahal sehingga bisa mengakibatkan penentuan diagnosis penyakit autoimun terhambat. Diperlukan alternatif metode pemeriksaan lain yang lebih cepat dan memiliki keakuratan yang sama dengan pemeriksaan baku emas IFA, sehingga bisa membantu klinisi menegakkan diagnosis penyakit autoimun dengan lebih cepat. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi nilai diagnostik serta nilai kesesuaian parameter pemeriksaan ANA dengan metode IFA dan metode CLIA pada pasien dengan penyakit autoimun di RSUD Saiful Anwar Malang, Indonesia.

METODE

Penelitian ini merupakan studi potong lintang (*cross-sectional*) dengan metode *consecutive sampling* terhadap pasien-

pasien penyakit autoimun yang dilakukan perawatan (rawat inap/rawat jalan) di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang yang bersedia mengikuti penelitian ini pada bulan September 2019 – Februari 2020. Diagnosis penyakit autoimun ditentukan oleh dokter penanggungjawab poliklinik imunologi rawat jalan sesuai dengan kriteria diagnosa. kriteria inklusi subyek penelitian yaitu wanita yang terdiagnosis penyakit autoimun (LES, sindroma Sjogren, dan sistemik Sklerosis), yang diperiksakan pemeriksaan ANA metode IFA (*cytobead* ANA) dan CLIA (*maglumitm*).

Sampel pasien yang diperiksakan berupa serum. Pemeriksaan parameter ANA metode IFA menggunakan *cytobead* ANA secara kualitatif menghasilkan pola untuk selanjutnya diinterpretasikan positif dan negatif. Pemeriksaan parameter ANA metode CLIA menggunakan *maglumitm* secara kuantitatif menghasilkan satuan Au/mL, dan hasilnya dikatakan positif jika kadarnya $\geq 41,79$ AU/mL, dan negatif jika kadarnya kurang dari itu.

Analisis statistik menggunakan *software IBM SPSS* versi 25 untuk Windows. Uji diagnostik menggunakan kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), yaitu kurva yang dihasilkan dari tarik ulur antara sensitivitas dan spesifisitas pada berbagai titik potong. Prosedur ROC ini akan menghasilkan *Area Under Curve* (AUC) untuk menentukan sensitivitas dan spesifisitas pada metode CLIA dengan metode IFA sebagai baku emas. Menentukan nilai *Cut-off-point* optimum dengan sensitivitas dan spesifisitas yang paling besar. Nilai *cut-*

off-point akan dipakai untuk mengubah data numerik (metode CLIA) menjadi kategorikal. Dibawah nilai *cut-off-point* metode CLIA dianggap negatif, diatas nilai *cut-off-point* dianggap positif. Kedua data kategorikal (CLIA dan IFA) diproses menggunakan analisis bivariat dengan teknik analisis *Cohen's kappa value* untuk uji korelasi antara ANA metode IFA dan metode CLIA.

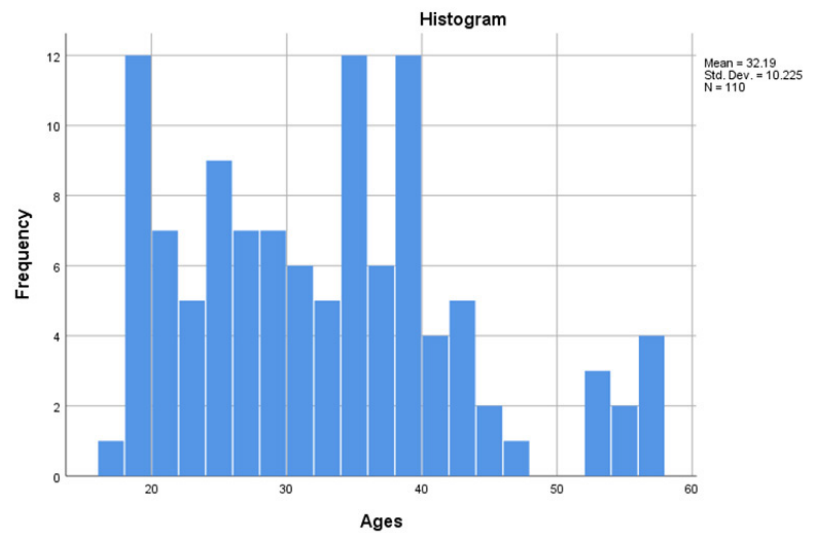
HASIL

Terdapat 110 orang subjek penelitian dengan penyakit autoimun yang dilibatkan dalam penelitian ini, terdiri dari kelompok hasil pemeriksaan ANA positif (58,18) baik dengan metode pemeriksaan IFA dan CLIA. Komposisi subyek penelitian terdiri dari 110 subyek berjenis kelamin perempuan dengan median usia partisipan penelitian adalah 32,18 tahun (**Gambar 1**). Pasien dengan hasil ANA IFA positif pada pasien autoimun menunjukkan hasil 58,18% dan pada pemeriksaan ANA metode CLIA memiliki hasil positif sebesar 58,18% (**Table 1**)

Uji diagnostik pasien autoimun menggunakan nilai *cut-off* untuk kadar ANA dalam serum adalah sebesar 41,79 AU/mL. Hasil uji diagnostik tersebut menunjukkan nilai sensitivitas 98,4%, spesifisitas 95,5%, nilai ramal positif 95,63% dan nilai ramal negatif 98,35% dengan AUC 0,990 (**Gambar 1** dan **Table 2**). Sedangkan Nilai kesesuaian ANA dengan metode IFA dan CLIA menunjukkan hasil yang sangat baik, yaitu sebesar 0,908 ($p=0,000$) (**Table 3**).

PEMBAHASAN

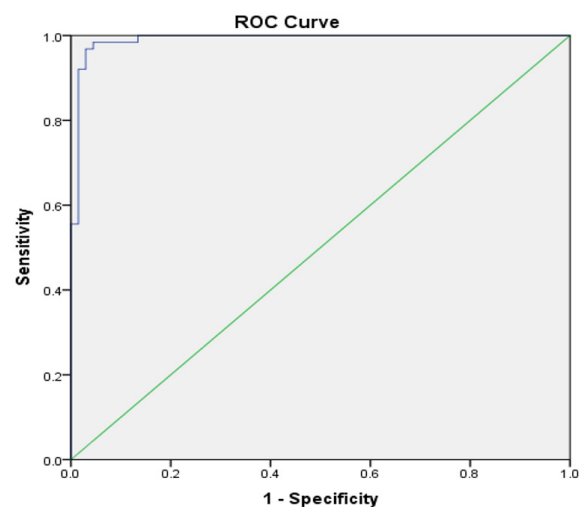
Pada penelitian ini didapatkan frekuensi LES seluruhnya pada jenis kelamin wanita yang memenuhi kriteria inklusi. Hasil penelitian ini sejalan dengan teori yang menyebutkan bahwa pada penyakit autoimun, prevalensi pada wanita lebih tinggi dibanding pria.⁹ Sebagian besar penyakit autoimun adalah wanita dengan angka sekitar 65%. Selain itu sekitar 3% populasi di Amerika Serikat menderita penyakit autoimun. Ada beberapa faktor seperti faktor hormonal, faktor kromosom X dan variasi lain yang belum jelas. Pada jenis kelamin wanita, faktor hormonal merupakan faktor resiko terjadinya LES.⁹



Gambar 1. Histogram usia pada populasi penelitian

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian parameter ANA, anti-Ro/SSA dan anti-La/SSB metode CLIA terhadap metode IFA

Parameter	Metode IFA (N=100)		Metode CLIA (N=100)	
	Positif (%)	Negatif (%)	Positif (%)	Negatif (%)
ANA (AU/mL)	64 (58,18)	46 (41,81)	64 (58,18)	46 (41,81)



Gambar 2. Kurva ROC ANA terhadap penyakit autoimun

Tabel 2. Hasil penilaian ROC ANA berdasarkan nilai *cut-off*, sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV, dan AUC

Keterangan	ANA
Nilai <i>Cut-Off</i>	41,79 AU/mL
Sensitivitas (%)	98,4
Spesifisitas (%)	95,5
Nilai Ramal Positif/PPV (%) Nilai	95,63
Ramal Negatif/NPV	98,35

Tabel 3. Hasil kesesuaian pemeriksaan parameter ANA metode IFA dan CLIA berdasarkan analisis Cohen's Kappa

Parameter pemeriksaan	Nilai kesesuaian CLIA dan IFA	P
ANA	0,908(P=0,000)	0,000*

ANA: Anti-Nuclear Antibody; CLIA: Chemiluminescent Immunoassay; IFA: Immunofluorescence Assay; *Secara statistik bermakna apabila nilai p kurang dari 0,05.

Hormon yang berperan adalah estrogen dan prolaktin yang akan meningkatkan autoimunitas dan meningkatkan faktor produksi aktivasi sel B dan memodulasi aktivasi limfosit. Selain itu, penggunaan kontrasepsi yang mengandung estrogen dan terapi pengganti hormone pada wanita postmenopause juga sering dihubungkan dengan insidens terjadinya LES.¹⁰ Karakteristik dari segi usia, pasien penderita penyakit autoimun pada populasi penelitian ini adalah 31-32 tahun. Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa penyakit autoimun dapat dijumpai pada semua usia, tetapi yang paling banyak pada usia 16-40 tahun pada saat masa reproduksi.⁴ Pada pemeriksaan IFA, untuk hasil interpretasi pembacaan pola imunofluoresens mengikuti panduan dari konsensus internasional pola ANA.¹¹

Analisis kurva ROC terhadap variable kadar ANA metode CLIA menunjukkan nilai AUC sebesar 0,990 yang artinya menunjukkan hasil yang baik antara penggunaan metode CLIA dibandingkan dengan metode IFA yang mana 69 pasien dari 110 pasien autoimun menunjukkan hasil yang positif. Hal ini hampir sama dengan hasil penelitian lain yang membandingkan dua metode yang menunjukkan kesesuaian dari metode pemeriksaan CLIA dengan metode IFA adalah 89%.¹²

Pada populasi subyek penelitian ini ada 41 pasien penyakit autoimun dengan hasil pemeriksaan ANA pada metode IFA dan CLIA dengan hasil negatif. Ini kemungkinan karena ada beberapa pasien yang sudah diterapi kortikosteroid, sehingga titer antibodi pada pasien berkurang. Selain itu pengenceran yang digunakan dalam pemeriksaan IFA juga berpengaruh dalam menentukan hasil pemeriksaan. Dalam hal ini belum ada Lembaga yang mengatur mengenai

standarisasi pengenceran dalam pemeriksaan IFA. Pada penelitian ini menggunakan pengenceran 1/80 yang merupakan pengenceran yang sering dipakai dalam pemeriksaan IFA. Hal ini sesuai dengan yang disebutkan pada penelitian yang menyebutkan bahwa meningkatkan pengenceran pemeriksaan IFA akan memaksimalkan spesifisitas dan sensitivitas dari pemeriksaan ANA.¹³

SIMPULAN

Pemeriksaan parameter ANA metode CLIA memiliki nilai diagnostik yang sangat baik dengan sensitivitas serta spesifisitas yang tinggi, sehingga parameter ANA metode CLIA baik untuk diagnosis penyakit autoimun. Terdapat kesesuaian yang sangat baik antara parameter pemeriksaan ANA metode IFA dengan metode CLIA.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan (*conflict of interest*) pada penulisan laporan penelitian ini.

PERSETUJUAN ETIK

Peneliti sudah memperoleh surat kelayakan etik dengan nomor 400/266/K.3/302/2019 dari komisi etik penelitian RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia sebelum penelitian berjalan.

PENDANAAN

Penulis bertanggung jawab terhadap seluruh pembiayaan dalam pembuatan laporan penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Seluruh penulis memiliki sumbangsih yang setara dalam pembuatan dan penulisan laporan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Mitratza M, Klijs B, Hak AE, Kardaun JWPF, Kunst AE. Systemic autoimmune disease as a cause of death: mortality burden and comorbidities. *Rheumatology (Oxford)*. 2021;60(3):1321-1330.
- Li D, Yoshida K, Feldman CH, Speyer C, Barbhayia M, Guan H, et al. Initial disease severity, cardiovascular events and all-cause mortality among patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(3):495-504.
- Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *J Intern Med*. 2015;278(4):369-395. doi:10.1111/joim.12395
- Pashnina IA, Krivolapova IM, Fedotkina TV, Ryabkova VA, Cheresheva MV, Churilov LP, et al. Antinuclear Autoantibodies in Health: Autoimmunity Is Not a Synonym of Autoimmune Disease. *Antibodies (Basel)*. 2021;10(1):9.
- Bonilla E, Francis L, Allam F, Ogrinc M, Neupane H, Phillips PE, et al. Immunofluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients. *Clin Immunol*. 2007;124(1):18-21.
- Goulvestre C. Antinuclear antibodies. *Presse Med*. 2006;35(2 Pt 2):287-295.
- van der Pol P, Bakker-Jonges LE, Kuijpers JHSAM, Schreurs MWJ. Analytical and clinical comparison of two fully automated immunoassay systems for the detection of autoantibodies to extractable nuclear antigens. *Clin Chim Acta*. 2018;476:154-159.
- Cinquanta L, Fontana DE, Bizzaro N. Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection?. *Auto Immun Highlights*. 2017;8(1):9.
- Cooper GS, Stroehla BC. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2003;2(3):119-125.
- Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2011;365(22):2110-2121.
- von Mühlen CA, Garcia-De La Torre I, Infantino M, Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, et al. How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on HEp-2 cells: guidelines from the ICAP initiative. *Immunol Res*. 2021;69(6):594-608.
- Callado MR, de Alencar Barroso MN, Alves VM, de Lima Abreu MA, Muniz LM, Lima JR. Antinuclear antibodies: two-step detection strategy. *Immunol Invest*. 2014;43(1):86-95.
- Choi MY, Clarke AE, St Pierre Y, Hanly JG, Urowitz MB, Romero-Diaz J, et al. Antinuclear Antibody-Negative Systemic Lupus Erythematosus in an International Inception Cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71(7):893-902.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution