

## Antibodi Mutated Citrullinated Vimentin Sebagai Biomarker Deteksi Dini Arthritis Rematoid

Febtarini Rahmawati

Email : [febtapatklin@gmail.com](mailto:febtapatklin@gmail.com)

Patologi Klinik

Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

### Abstrak

*Antibodi terhadap mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) merupakan penanda spesifik untuk arthritis rematoid. Arthritis rematoid adalah suatu kelainan sendi yang sulit diketahui secara dini. Anti-MCV & RF rapid test ICT digunakan untuk mendeteksi antibodi anti-MCV & RF pada penderita arthritis rematoid dengan cepat, dengan maksud pasien dapat di terapi lebih awal sebelum terjadi kerusakan persendian lebih lanjut. Pemeriksaan antibodi pada proses inflamasi pasien rawat jalan arthritis di poli reumatologi RSUD Dr Soetomo Surabaya menggunakan anti-MCV & RF imunokromatografi. Mengetahui sensitivitas, spesifisitas diagnostik, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif uji anti-mutated citrullinated vimentin dan rheumatoid factor (anti-MCV & RF) rapid test pada penderita arthritis rematoid. Pemeriksaan cepat (rapid test) anti-MCV & RF metode ICT merupakan suatu lateral flow immunoassay yang mendeteksi secara bersamaan antibodi anti-MCV dan RF. Sampel yang digunakan adalah 10 µl darah utuh dari pembuluh darah kapiler ujung jari pasien nyeri sendi. Anti-MCV & RF mendeteksi secara kualitatif dalam waktu 15 menit. Hasilnya tampak garis merah yang terbentuk di daerah kontrol dan tes. Pemeriksaan anti-MCV & RF rapid test dibandingkan dengan uji anti-MCV & RF ELISA. Analisis dilakukan terhadap sampel darah penderita arthritis rematoid (n = 30) sebagai kelompok pasien dan arthritis karena penyakit rematik lainnya (n = 30) sebagai kelompok kontrol. Sensitivitas pemeriksaan cepat antibodi terhadap MCV adalah 97% dan spesifisitasnya 93%. Sensitivitas anti-MCV ELISA adalah 100% dengan spesifisitas 93%. Sedangkan sensitivitas dan spesifisitas rheumatoid factor baik pada rapid test maupun ELISA adalah berturut-turut 77% dan 73%. ELISA anti-MCV mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi untuk diagnosis arthritis rematoid. Anti-MCV bisa digunakan untuk pemantauan kemajuan pengobatan pasien arthritis rematoid. Sedangkan uji anti-MCV dan RF metode imunokromatografi (rapid test) mempunyai sensitivitas yang tinggi untuk diagnosis arthritis rematoid dan bermanfaat dalam praktek klinis karena sederhana, mudah, handal dan membantu skrining pasien arthritis rematoid.*

**Kata kunci** : Arthritis rematoid, anti-mutated citrullinated vimentin antibody, rheumatoid factor, imunokromatografi.

### PENDAHULUAN

#### Latar Belakang

Arthritis rematoid adalah suatu penyakit inflamasi yang mengenai jaringan ikat sendi, bersifat progresif, simetrik dan sistemik. Selain

jaringan ikat sendi serta sendi-sendi yang terkena, penyebaran juga mengenai segenap organ dalam tubuh penderita. Oleh karenanya diperlukan diagnosis lebih dini arthritis rematoid sebelum terjadinya destruksi sendi

yang mengakibatkan deformitas sendi (Vastesaegeer N, et. al. 2009. Aletaha D. et.al, 2010).

Penderita artritis rematoid lebih sering terjadi pada wanita, terutama diatas usia 40 tahun. Organisasi kesehatan sedunia (WHO) menyatakan bahwa angka kejadian penderita penyakit sendi akan meningkat tajam karena banyaknya orang yang berumur lebih dari 50 tahun pada tahun 2020, semakin banyaknya urbanisasi, peningkatan industri dan pencemaran lingkungan. Di Indonesia penduduk berusia diatas 40 tahun didapatkan prevalensi artritis rematoid 0,5% di daerah kotamadya dan 0,6% di daerah kabupaten. Prosedur diagnostik dengan berbagai alat canggih penunjang diagnosis artritis rematoid dirasakan semakin mahal, terutama bagi masyarakat ekonomi menengah kebawah yang merupakan sebagian besar masyarakat Indonesia. Tuntutan akan pelayanan yang lebih baik, akurat dan cepat dengan harga yang terjangkau oleh masyarakat, melatarbelakangi maksud dilaksanakannya penelitian ini sebagai upaya mengatasi masalah diagnosis dini artritis rematoid. Diagnosis dini artritis rematoid sangat penting untuk mencegah terjadinya kecacatan pada pasien karena kerusakan sendi (Majithia V, 2007).

Artritis rematoid merupakan suatu penyakit autoimun dengan karakteristik peradangan sendi, sehingga menyebabkan kerusakan dan hilangnya fungsi persendian. Diagnosis yang cepat dan tepat adalah penting untuk mencegah kerusakan sendi secara luas. Prosedur diagnostik yang cukup rumit dan biaya reagen yang semakin mahal melatar belakangi dilakukannya penelitian ini untuk mencari cara pemeriksaan serologi artritis rematoid yang lebih praktis, mudah, cepat dan sederhana yakni dengan uji cepat metode imunokromatografi. Tujuh puluh lima persen penderita artritis rematoid memberikan hasil parameter *rheumatoid factor* positif. *Rheumatoid factor* yang tidak spesifik untuk artritis rematoid, diperlukan penanda serologi artritis rematoid lainnya yang lebih spesifik yaitu *anti-citrullinated protein* (anti-CCP) dan *anti-mutated citrullinated vimentin* (anti-MCV) (Nishimura K, 2007. Holger et. al. 2007, Jinxia, et. al. 2010, Avouac J,2010).

Berdasarkan kriteria klasifikasi terbaru artritis rematoid dari *the American College of Rheumatology (ACR)* dan *the European League Against Rheumatism (EULAR)* tahun

2010, berdasarkan analisis hasil beberapa penelitian *cohorts* pasien sinovitis, yakni (Aletaha D, 2010) :

1. *The number and size of involved joints (score : 0-5)*
2. *Results of rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibody testing (score : 0-3)*
3. *Abnormal sedimentation rate or elevated C-reactive protein level (1 point)*
4. *Symptom duration > 6 weeks (1 point)*

Skor maksimal adalah 10. Pasien dinyatakan terkena artritis rematoid bila skor  $\geq 6$  dan keluhan dirasakan lebih dari enam minggu. Pentingnya deteksi dini antibodi *rheumatoid factor* sebagai penanda artritis rematoid bertujuan untuk mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut, mencegah hilangnya fungsi, mengurangi nyeri, mencapai remisi secepat mungkin karena terapi lebih awal sehingga prognosis lebih baik dan pasien dapat bekerja seperti sediakala. Uji cepat untuk identifikasi dini penderita artritis rematoid dengan metode imunokromatografi membantu laboratorium sederhana (puskesmas, poliklinik, poli rawat jalan) yang tidak memiliki sarana pemeriksaan alat modern seperti ELISA (Tabushi Y, 2008. Renger F. et. al, 2009). Tujuan penelitian adalah Menilai sarana penunjang diagnosis artritis rematoid yang mempunyai nilai diagnostik (sensitivitas dan spesifisitas diagnostik) tinggi, cepat dan praktis.

### **Tinjauan Pustaka** **Artritis rematoid**

Artritis adalah peradangan sendi. Sangat penting menegakkan diagnosis lebih awal dari peradangan sendi untuk bisa diberi pengobatan sehingga meringankan penderitaan pasien dan mencegah kelainan sendi lebih lanjut. Artritis dapat terjadi akut atau kronis, mengenai satu sendi (monoartritis) juga bisa menyerang banyak sendi (poliartritis) (Sibuea W.H. et.al. 2005).

Penyakit artritis rematoid merupakan penyakit sistemik yang bersifat progresif dengan proses inflamasi membran sinovial sendi diartroidial. Sendi yang terkena secara simetris, membengkak, nyeri dan dapat menyebabkan kerusakan bagian dalam sendi (Landre-Beauvais AJ,2001).

Artritis rematoid merupakan suatu inflamasi kronik dengan manifestasi utama poliartritis progresif dan bisa melibatkan

seluruh organ tubuh. Proses radang serta proliferasi membran sinovial menyebabkan kerusakan pada sendi, tulang rawan, tulang, jaringan ikat dan tendon. Arthritis rematoid disebut juga sebagai penyakit rematik artikuler kronik, penyakit rematik yang sesungguhnya atau penyakit poliarthritis kronik (Egerer K. et. al. 2009).

#### **Epidemiologi dan manifestasi klinik**

Penyakit arthritis rematoid merupakan suatu penyakit yang telah lama dikenal dan tersebar diseluruh dunia serta melibatkan semua ras dan kelompok etnik. Penyakit ini terjadi sekitar 0,6% dari jumlah penduduk Indonesia dan wanita 3-4 kali lebih sering dibandingkan pria terutama di usia lebih dari 40 tahun (Iain B, 2007). Beberapa manifestasi klinik pada penderita arthritis rematoid sangat bervariasi, yaitu :

- a. Berbagai gejala konstitusional, misalnya malaise/lelah, kurang nafsu makan, penurunan berat badan dan demam.
- b. Poliarthritis simetris (peradangan sendi pada sisi kiri dan kanan) terutama pada sendi perifer. Hampir semua sendi diartrodial (sendi yang dapat digerakkan dengan bebas) dapat terserang arthritis.
- c. Kekakuan di pagi hari selama lebih dari satu jam dapat bersifat umum terutama menyerang sendi-sendi. (Pada osteoarthritis peradangan tulang dan sendi, berlangsung beberapa menit kurang dari satu jam).
- d. Arthritis erosif pada gambaran radiologi. Peradangan sendi kronik mengakibatkan pengikisan tepi tulang.
- e. Deformitas : kerusakan struktur penunjang sendi dengan perjalanan penyakit. Pergeseran ulnar atau deviasi jari, pergeseran sendi pada tulang telapak tangan dan jari. Tulang rawan dari sendi-sendi hancur dan mengakibatkan deformitas. Pada kaki terdapat tonjolan kaput metatarsal yang timbul sekunder dari subluksasi metatarsal. Sendi-sendi besar juga dapat terserang dan mengalami pengurangan kemampuan bergerak terutama dalam melakukan gerakan ekstensi.
- f. Nodula-nodula reumatoid adalah massa subkutan. Lokasi tersering deformitas adalah bursa olekranon (sendi siku) atau disepanjang permukaan ekstensor lengan.
- g. Manifestasi ekstra-artikular (diluar sendi), reumatik juga menyerang organ-organ lain diluar sendi seperti keratokonjungtivitis, sistem kardiovaskular.

#### **Patogenesis arthritis rematoid**

Penyebab arthritis rematoid berkaitan dengan disfungsi sistem imun. Hal tersebut dapat terjadi karena faktor keturunan/herediter atau faktor genetik dan faktor didapat yaitu adanya pemicu terjadinya reaksi autoimun dalam tubuh, misalnya faktor lingkungan berupa rokok, infeksi bakteri, mikoplasma, virus serta faktor hormonal, obesitas dan usia. Destruksi jaringan sendi terjadi melalui dua cara, pertama adalah destruksi oleh protease, kolagenase dan enzim hidrolitik lain. Enzim-enzim tersebut memecah kartilago, ligamen, tendon dan tulang pada sendi, serta dilepaskan bersama-sama dengan radikal  $O_2$  dan metabolit asam arakidonat oleh leukosit polimorfonuklear dalam cairan sinovial. Kedua faktor infeksi karena mikroorganisme menghasilkan antigen tipe II kolagen dari tulang rawan sendi penderita (Westwood OM, 2006. Ozkan Y, et. al. 2006).

Membran sinovial pada penderita arthritis rematoid mengalami hiperplasia, peningkatan vaskularisasi dan infiltrasi sel-sel pencetus inflamasi. Persendian yang terkena bisa mengenai sendi besar, kecil dan bersifat kronik progresif. Mula-mula dekalsifikasi tulang di daerah sekitar persendian, kemudian terjadi kerusakan tulang, kapsul artikuler dan tulang rawan artikuler. Semakin lama nyeri semakin bertambah hingga fungsi sendi menurun. Akumulasi autoantibodi dari persendian selanjutnya mengikuti sirkulasi darah sistemik menyebabkan gangguan terhadap organ-organ lain di seluruh tubuh, seperti jantung, pembuluh darah, ginjal, hati, dll. Oleh karenanya diagnosis yang tepat sangat penting agar dapat diterapi lebih awal sehingga mencegah komplikasi ( Ernest, et. al, 2001).

Di bidang genetik, arthritis rematoid berhubungan dengan *major histocompatibility complex class II* antigen HLA-DRB 1 0404 dan DRB1 0401. Fungsi utama molekul HLA class II adalah untuk mempresentasikan antigenik peptida kepada  $CD4^+$  sel T yang menunjukkan bahwa arthritis rematoid disebabkan oleh artritogenik. Antigen ini bisa berupa antigen eksogen seperti virus atau protein antigen endogen yakni *rheumatoid factor* dan *citrullinated* protein.

Antigen eksogen dan endogen tersebut mengaktifasi sel T  $CD4^+$  yang kemudian menstimulasi monosit, makrofag dan sinovial fibroblas untuk memproduksi interleukin 1, interleukin 6 dan  $TNF\ \alpha$  untuk mensekresikan matriks *metalloproteinase* melalui hubungan antar sel dengan bantuan  $CD69$  dan  $CD\ 11$

melalui pelepasan mediator-mediator pelarut seperti interferon  $\gamma$  dan interleukin 17. Interleukin 1, interleukin 6 dan TNF  $\alpha$  merupakan kunci terjadinya inflamasi pada artritis rematoid. (Mc Innes I B, Schett G, 2007).

Aktifasi sel T CD4<sup>+</sup> juga menstimulasi sel B melalui kontak sel secara langsung dan ikatan dengan  $\alpha 1\beta 1$  integrin, CD40 ligan dan CD 28 memproduksi immunoglobulin meliputi *rheumatoid factor* dan berbagai jenis *citrullinated* protein. *Rheumatoid factor* dan anti-*citrullinated* protein mengaktifkan komplemen melalui pembentukan imun kompleks.

Aktifasi CD4<sup>+</sup> sel T juga mengekskresikan osteoklastogenesis yang menyebabkan gangguan sendi. Aktifasi makrofag, limfosit dan fibroblas juga menstimulasi angiogenesis sehingga terjadi peningkatan vaskularisasi yang ditemukan pada sinovial penderita artritis rematoid.

#### **Rheumatoid Factor**

*Rheumatoid factor* merupakan antibodi poliklonal yang mempunyai determinan antigenik pada fragmen Fc immunoglobulin. *Rheumatoid factor* mempunyai struktur suatu immunoglobulin G didalam immunoglobulin M. Immunoglobulin M *rheumatoid factor* dapat dideteksi keberadaannya dan diukur konsentrasinya baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Determinan antigenik atau epitop pada fraksi C immunoglobulin G *rheumatoid factor* dapat mengikat antigen lainnya. Oleh karenanya, *rheumatoid factor* tidak spesifik untuk artritis rematoid. *Rheumatoid factor* di cairan sendi diproduksi oleh limfosit dalam membran sinovial dan cairan sinovial. Titer *rheumatoid factor* yang tinggi menunjukkan prognosis yang buruk dan kecenderungan bermanifestasi ekstraartikuler. Deteksi keberadaan *rheumatoid factor* yang telah diketahui adalah dengan uji aglutinasi, presipitasi, pengikatan komplemen, immunofluoresensi, *radioimmunoassay* dan EIA. *Rheumatoid factor* merupakan penanda serologis sensitif untuk artritis rematoid selama lebih dari 50 tahun. (Rose NR, 2002).

Diagnosis artritis rematoid sesuai dengan kriteria ACR-EULAR 2010 adalah berdasarkan manifestasi klinis dan pemeriksaan serologi.

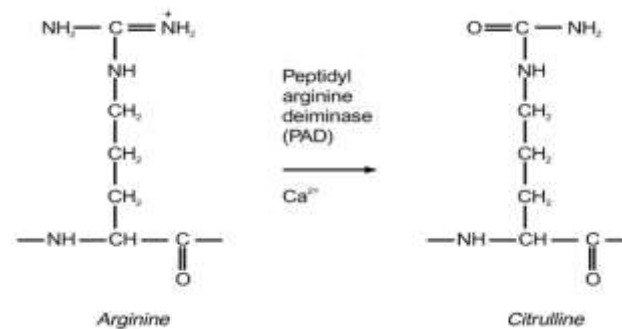
Pemeriksaan serologi terutama untuk mengetahui keberadaan autoantibodi Ig M *rheumatoid factor* sebagai penanda artritis rematoid. Autoantibodi perinuklear ini terbentuk sebagai respons imun antigen yang merupakan faktor perinuklear *filaggrin (filament-aggregating protein)* pada proses inflamasi artritis rematoid. *Rheumatoid factor* yang semakin meningkat di sinovial memperburuk gejala artritis rematoid. (Egerer K. et.al. 2009).

*Rheumatoid factor* merupakan autoantibodi yang diketahui pertama kali dan memiliki hubungan dengan artritis rematoid. Pemeriksaan serologi *rheumatoid factor* telah digunakan secara luas untuk mendeteksi penyakit artritis, namun tidak spesifik pada diagnosis artritis rematoid. (Liu X, et.al, 2009). Oleh karena *rheumatoid factor* yang tidak spesifik tersebut, diperlukan suatu penanda yang lebih spesifik untuk artritis reumatoid yaitu *anti-citrullinated peptide antibody (ACPA)*. (Syversen S.W. et. al, 2009).

#### **Anti-MCV (Anti-Mutated citrullinated vimentin)**

Vimentin adalah suatu protein sitoskeleton atau sitokeratin yang ikut membantu membentuk struktur mikrotubulus sebagai kerangka pada sistem muskuloskeletal. Pada keadaan fisiologis, vimentin mengalami sitrulinasi menjadi vimentin tersitrulinasi. Proses sitrulinasi meningkat pada inflamasi sinovial dan diproduksi antibodi terhadap vimentin / anti-vimentin / anti-Sa oleh sel plasma sebagai respons imun. Perubahan yang terjadi pada vimentin tersitrulinasi karena proses inflamasi sinovial disebut sebagai *Mutated citrullinated vimentin (MCV)* dan antibodi terhadap MCV dikenal dengan anti-MCV. Terbentuknya anti-MCV menunjukkan adanya proses inflamasi yang sedang aktif di sinovial. Anti-MCV merupakan antibodi alami (*innate invivo antibody*). (Coenen D, 2007. Tilleman K, 2008. Steendam, 2011).

Modifikasi autoantigen selama proses apoptosis menyebabkan timbulnya berbagai macam antigen di sinovial artritis rematoid seperti *filaggrin (FLG)*, *vimentin (VIM)* dan *citrullin*. Proses *citrullination* (perubahan protein *arginine* menjadi *citrulline*) oleh enzim *peptidylarginine deiminase (PAD)*. (Makrygiannakis et.al, 2006. Walther J Van venrooij, 2011).



#### Proses *citrullination*

Sumber : Egerer K, Feist E, Burmester GB. The Serological Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. Dtsch Arztebl 2009 ; 106 (10) : 159-163.

Proses sitrulinasi sebenarnya suatu proses fisiologis di sistem muskuloskeletal. Hasil dari mekanisme metabolisme protein yang telah didistribusikan melalui sirkulasi darah ke setiap sistem jaringan, selanjutnya dipergunakan oleh masing-masing jaringan dalam memenuhi kebutuhan mempertahankan keseimbangan aktivitasnya. Demikian halnya di dalam sistem muskuloskeletal. Protein filagrin, arginin, vimentin yang dihasilkan dari hidrolisis protein oleh enzim proteolitik, sangat bermanfaat membantu pembentukan kerangka mikrotubulus sitoskeleton, sitokeratin dalam sistem muskuloskeletal. Dalam keadaan normal, terjadi keseimbangan sintesis, hidrolisis dan apoptosis protein tersebut di dalam sistem muskuloskeletal. Jika ada proses inflamasi atau pemicu yang didapat seperti hipoksia, stress, faktor hormonal, usia, merokok serta genetik penyakit autoimun, juga keadaan yang dapat menurunkan sistem imun musculoskeletal, menyebabkan peningkatan aktivitas enzim proteolitik. Peningkatan enzim proteolitik memicu meningkatnya proses sitrulinasi, sehingga penumpukan protein tersitrulinasi (*cyclic citrullinated protein* (CCP), *citrullinated vimentin*) di sinovial, menyebabkan *bone erosion*, osteoporosis dan proses pengikisan sendi. Peradangan sinovial menyebabkan perubahan sifat dari sebagian vimentin tersitrulinasi menjadi *mutated citrullinated vimentin* (MCV). (Coenen 2007, Egerer 2009, Syversen 2009, Renger 2010, Steendam 2011).

Pada proses inflamasi arthritis rematoid, hanya antibodi anti-CCP yang bisa dibuat invitro dengan target antifilagrin antibodi (AFA) dan telah banyak digunakan pada pemeriksaan serologi arthritis rematoid.

Sedangkan protein vimentin sitrulinasi merupakan biomarker alami yang baru diketahui dengan target anti-SA. Anti-MCV merupakan salah satu *anti-citrullinated peptide antibody* (ACPA) yang di produksi oleh sel plasma setelah aktivasi sel B sebagai respons terhadap antigen *citrullinated*. (Mathsson L, 2008. Liu X, 2009)

Autoantibodi *citrullinated* dan *mutated citrullinated vimentin* (MCV) merupakan penanda biokimia atau parameter serologi spesifik untuk arthritis rematoid. Pemeriksaan anti-MCV dengan metode ELISA indirek memberikan spesifisitas hingga lebih dari 95% pada arthritis rematoid. (Luime J. et.al, 2009. Renger F. et. al. 2009. Roland N.et.al. 2008).

*Anti-mutated citrullinated vimentin* (anti-MCV) merupakan antibodi alami (Ig G) yang disekresi oleh sel mesenkim dan makrofag pada proses inflamasi sinovial pasien arthritis rematoid. (Liu X, et. al, 2009).

#### **Kriteria arthritis rematoid berdasarkan klasifikasi ACR-EULAR 2010.**

Konferensi organisasi rematik sedunia *American College of Rheumatology/ACR*, *European League Against Rheumatism/EULAR* dan *International League of Association for Rheumatology/ILAR*, telah membuat suatu konsensus baru tentang klasifikasi arthritis rematoid pada September 2010. Bahwa diagnosis arthritis rematoid ditegakkan berdasarkan manifestasi klinis persendian yang terkena, pemeriksaan laboratorium dan lamanya gejala sakit. Skor terdiri dari empat bagian besar (A s/d D), minimal mengenai satu sendi, baik sendi besar atau kecil, disertai pembengkakan atau tidak. Semakin banyak sendi kecil yang terkena maka skor semakin

besar. Berikut ini adalah kriteria artritis rematoid menurut ACR-EULAR 2010 (Aletaha D. et. al. 2010) :

- a. Skor 0 jika mengenai satu sendi besar (sendi bahu, siku, panggul, pangkal paha, lutut, pergelangan kaki).  
Skor 1 bila mengenai 2-10 sendi besar  
Skor 2 jika yang terkena 1-3 sendi kecil (disertai nyeri sendi besar atau tidak).  
Skor 3 jika mengenai 4-10 sendi kecil (dengan atau tanpa nyeri sendi besar)  
Skor 5 jika mengenai lebih dari 10 persendian (minimal ada 1 sendi kecil yang terkena)
- b. Pemeriksaan penanda serologi artritis rematoid (*rheumatoid factor*, *citrullinated protein*).  
Skor 0 = FR – dan ACPA –  
Skor 2 = FR + atau ACPA + (nilai rendah)  
Skor 3 = FR + atau ACPA + (nilai tinggi)
- c. Reaktan fase akut  
Skor 0 = CRP dan LED normal  
Skor 1 = CRP atau LED tidak normal
- d. Lamanya gejala (nyeri, bengkak, disfungsi sendi :  
< 6 minggu = skor 0  
≥ 6 minggu = skor 1

Diagnosis artritis rematoid bila skor A + B + C + D ≥ 6 s/d 10

### Hasil dan Pembahasan

Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan antibodi IgM *rheumatoid factor* dan IgG anti-MCV pada penderita artritis rematoid dengan menggunakan anti-MCV & RF ICT. Anti-MCV & RF ICT merupakan uji diagnosis dini artritis rematoid metode imunokromatografi dalam bentuk strip.

Teknik statistik inferensial yang digunakan untuk menguji hipotesis penelitian ini adalah statistik non parametris dalam bentuk data nominal dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh rerata usia  $46,63 \pm 9,22$  dengan median 50 pada kelompok artritis rematoid, rerata  $47,7 \pm 9,05$  dengan median 51 pada kelompok artritis lain ( $p < 0,05$ ). Nilai diagnostik menggunakan tabel 2X2 dan uji statistik untuk melihat adakah perbedaan bermakna uji anti-MCV & RF ICT dengan uji ELISA menggunakan *Mc Nemar* serta uji kesesuaian *Kappa*.

Enam puluh sampel dalam penelitian ini terdiri dari 30 kasus artritis rematoid dan 30 artritis lain dengan distribusi penyakit osteoarthritis 21 kasus (35%), SLE 3 kasus

(5%), spondiloarthritis 3 kasus (5%), *low back pain* 1 kasus, psoriasis artritis 1 kasus dan 1 kasus *arthropathy*.

Reagensia uji anti-MCV dan *rheumatoid factor* metode imunokromatografi yang digunakan dalam penelitian ini tersedia dalam bentuk kit komersial, dalam satu kemasan berisi 10 *cartridge* disertai 3 ml larutan *buffer*. Reagen dapat disimpan dalam jangka panjang pada suhu  $4^{\circ}\text{C} - 28^{\circ}\text{C}$  hingga tanggal kadaluwarsanya ( 28 November 2012).

Cara dan pelaksanaan uji anti-MCV dan *rheumatoid factor* ICT sederhana, mudah, cepat (15 menit) dan praktis, tidak memerlukan peralatan tambahan lainnya (dalam kit sudah lengkap disertai lanset steril). Hal tersebut merupakan kelebihan dari uji anti-MCV dan RF metode ICT, dibandingkan uji diagnostik lainnya yaitu ELISA yang memerlukan waktu satu hari pengerjaannya. Pemeriksaan dengan menggunakan uji anti-MCV & RF *rapid test* ICT bisa secara langsung disamping pasien, sehingga tidak memerlukan laboratorium khusus dalam mengerjakannya. Pada ELISA memerlukan ruangan khusus, pengerjaan sesuai prosedur dengan tahapan-tahapan tertentu dan memerlukan alat khusus dalam pembacaan hasilnya. Biaya pemeriksaan dengan menggunakan uji anti-MCV & RF *rapid test* ICT lebih murah dibandingkan dengan uji ELISA.

Sampel darah utuh yang digunakan hanya satu tetes 10  $\mu\text{l}$  dari ujung jari pasien yang sebelumnya didesinfeksi dengan kapas alkohol dan penusukan dg lanset steril yang telah tersedia di dalam kit. Berbeda dengan sampel ELISA yakni serum penderita 10  $\mu\text{l}$ , memerlukan sentrifus terlebih dahulu untuk mendapatkan spesimen serum tersebut sebelum diperiksa.

Peralatan yang dipakai dalam penelitian ini adalah uji anti-MCV dan *rheumatoid factor* metode imunokromatografi, semuanya telah tersedia dalam kit dan pembacaan hasilnya cukup dibaca dengan mata biasa. Sebaiknya pembacaan dilakukan di tempat yang mempunyai pencahayaan cukup karena bila muncul garis merah meskipun samar sudah dianggap positif.

Data tersebut diatas menyatakan bahwa uji anti-MCV & RF ICT merupakan sarana diagnosis artritis rematoid dini yang andal dan praktis.

Sensitivitas diagnostik RF ICT pada penelitian ini adalah sebesar 76,7% dan sensitivitas diagnostik anti-MCV ICT pada penelitian ini adalah 96,7%. Berdasarkan karakteristik tes suatu uji laboratorium, sensitivitas diagnostik RF ICT termasuk dalam kriteria sedang dan sensitivitas diagnostik uji anti-MCV ICT amat tinggi. Hal tersebut disebabkan karena uji imunokromatografi yang mengandung dua parameter dalam satu strip, salah satu saja positif termasuk dalam skor 2 positif (kriteria ACR-EULAR 2010). Penggunaan dua macam antibodi IgM RF dan IgG anti-MCV dapat meningkatkan sensitivitas, sehingga sensitivitas diagnostik uji anti-MCV & RF ICT sebesar 100%. Sensitivitas diagnostik uji anti-MCV & RF ICT termasuk dalam kriteria amat tinggi. Uji anti-MCV & RF ICT sangat bermanfaat pada pemeriksaan penyaring diagnosis dini artritis reumatoid. Tidak ada perbedaan bermakna antara IgM RF ICT dengan IgM RF ELISA. Anti-MCV ELISA mempunyai sensitivitas yang lebih baik daripada anti-MCV ICT.

Spesifisitas diagnostik RF ICT pada penelitian ini adalah sebesar 73,3% dan spesifisitas diagnostik anti-MCV ICT adalah sebesar 93,3%. Berdasarkan karakteristik tes suatu uji laboratorium, spesifisitas diagnostik RF ICT termasuk dalam kriteria sedang dan spesifisitas diagnostik anti-MCV ICT tinggi. Hal tersebut diatas disebabkan karena *rheumatoid factor* tidak spesifik untuk penyakit artritis reumatoid saja, tetapi juga positif pada penyakit kelainan sendi lainnya. Uji anti-MCV mempunyai spesifisitas yang tinggi untuk membantu menegakkan diagnosis artritis reumatoid. Anti-MCV yang positif menandakan pasien mengalami artritis reumatoid pada fase aktif. Spesifisitas IgM RF ICT tidak ada perbedaan bermakna dengan spesifisitas IgM RF ELISA. Begitu pula untuk spesifisitas anti-MCV ELISA tidak ada perbedaan bermakna dengan spesifisitas anti-MCV ICT.

Hasil positif sejati kasus artritis reumatoid sebanyak 30 sampel, sedangkan hasil positif semu 10 sampel. Nilai ramal positif diagnostik RF ICT dalam penelitian ini adalah sebesar 74,2% merupakan uji laboratorium kriteria sedang. Nilai ramal positif diagnostik anti-MCV ICT adalah 93,5% merupakan uji laboratorium kriteria tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan uji RF metode imunokromatografi yang positif untuk

meramalkan adanya penyakit artritis reumatoid adalah sebesar 74,2% dan anti-MCV ICT 93,5%. Nilai ramal positif diagnostik uji anti-MCV & RF ICT adalah 75% merupakan kriteria sedang. Tidak ada perbedaan bermakna antara nilai ramal positif IgM RF ICT dengan nilai ramal positif IgM ELISA dan nilai ramal positif anti-MCV ELISA dengan nilai ramal positif anti-MCV ICT.

Tidak didapatkan hasil uji negatif semu pada kasus artritis reumatoid, sedangkan hasil negatif sejati sebanyak 20 sampel. Hal ini menunjukkan nilai ramal negatif diagnostik RF ICT pada penelitian ini sebesar 75,9%. Berdasarkan karakteristik tes suatu uji laboratorium termasuk dalam kriteria sedang. Nilai ramal negatif diagnostik anti-MCV ICT pada penelitian ini adalah 96,6% merupakan uji laboratorium kriteria amat tinggi. Berarti bahwa uji anti-MCV & RF metode imunokromatografi dalam meramalkan tidak adanya penyakit artritis reumatoid adalah amat tinggi. Modifikasi antibodi anti-MCV dan RF pada strip meningkatkan sensitivitas pemeriksaan penyaring artritis reumatoid karena penambahan IgG anti-MCV dapat menurunkan pengaruh non spesifik IgM RF. Nilai ramal negatif diagnostik uji anti-MCV & RF ICT adalah 100% merupakan kriteria amat tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan uji anti-MCV & RF ICT bisa menyingkirkan penyakit nyeri sendi yang bukan dikarenakan oleh artritis reumatoid. Tidak ada perbedaan bermakna antara nilai ramal negatif IgM ICT dengan IgM RF ELISA. Nilai ramal negatif anti MCV ELISA lebih baik daripada nilai ramal negatif anti-MCV ICT.

Efisiensi diagnostik merupakan gabungan antara sensitivitas dan spesifisitas diagnostik. Hasil uji yang menunjukkan positif sejati pada kasus artritis reumatoid sebanyak 30 sampel dan kasus artritis lain yang menunjukkan negatif sejati sebesar 20 sampel. Pada penelitian ini diperoleh efisiensi diagnostik untuk uji RF ICT adalah sebesar 75%, sehingga dapat dikatakan bahwa sensitivitas dan spesifisitas diagnostik untuk uji RF ICT dalam menunjang diagnosis penyakit artritis reumatoid sedang. Efisiensi diagnostik untuk anti-MCV ICT adalah 95 %, sehingga uji anti-MCV ICT dalam menunjang diagnosis penyakit artritis reumatoid amat tinggi. Penggabungan dua parameter dalam satu kit yakni anti-MCV & RF ICT

mempunyai efisiensi diagnostik sebesar 83% merupakan kriteria tinggi. Tidak ada perbedaan bermakna efisiensi diagnostik antara IgM RF ICT dengan IgM RF ELISA. Efisiensi diagnostik anti-MCV ELISA (97%), lebih baik daripada anti-MCV ICT (95%).

Hasil uji diagnostik yang baik adalah apabila hasil uji statistik *Mc Nemar* menunjukkan tidak berbeda bermakna (bila harga  $p > 0,05$ ) dan hasil uji statistik *Kappa* menunjukkan ada kesesuaian (bila harga  $p < 0,05$ ).

Dari uji statistik *Mc Nemar* dan uji *Kappa* tersebut diatas, uji anti-MCV ELISA baik digunakan sebagai uji diagnostik karena hasil uji *Mc Nemar* didapatkan harga  $p > 0,05$  dan uji *Kappa* dengan harga  $p < 0,05$ .

Keterbatasan dari penelitian ini adalah, bisa terjadi kesalahan pengelompokan penderita yang termasuk kelompok artritis rematoid dan kelompok penderita nyeri sendi selain artritis rematoid di poli rematologi oleh klinisi, mengingat pemeriksaan fisik bagian A dan D saja belum bisa untuk menentukan skor lengkap klasifikasi artritis rematoid sesuai kriteria ACR-EULAR 2010. Klasifikasi artritis rematoid sesuai ACR-EULAR 2010 baru bisa dilakukan skor setelah seluruh pemeriksaan laboratorium dilakukan, yakni ada hasil pemeriksaan penanda inflamasi CRP atau LED.

*False-positive* bisa terjadi pada hasil pemeriksaan menggunakan uji anti-MCV dan *rheumatoid factor* metode imunokromatografi, misalnya pada pasien dengan insufisiensi ginjal dan atlet atau seseorang dengan peningkatan aktivitas muskuloskeletal.

### Simpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian ini dapat dibuat simpulan sebagai berikut :

1. Uji anti-MCV & RF *rapid test* mempunyai nilai sensitivitas diagnostik yang sangat tinggi (100%), hal ini menunjukkan bahwa uji anti-MCV & RF ICT sangat baik digunakan pemeriksaan penyaring diagnosis dini artritis rematoid. Spesifisitas diagnostik uji anti-MCV & RF ICT sedang (67%) dan bila terbentuk *band* pada garis anti-MCV menandakan bahwa artritis rematoid sedang dalam fase aktif. Nilai ramal positif diagnostik sedang (75%), nilai ramal negatif diagnostik amat tinggi (100%) berarti dapat menyingkirkan non artritis rematoid dan efisiensi diagnostik

tinggi (83%) . Hal ini menunjukkan bahwa uji anti-MCV & RF ICT dapat digunakan pada pemeriksaan penyaring (skrining) penderita artritis rematoid dini. Uji anti-MCV & RF ICT sangat praktis, cepat dan andal dalam pelaksanaannya sebagai alat penunjang diagnosis dini artritis rematoid.

2. Nilai diagnostik uji anti-MCV ELISA lebih baik daripada anti-MCV *rapid test* dan bisa digunakan sebagai parameter pada pemantauan kemajuan pengobatan pasien artritis rematoid. Ada kesesuaian antara anti-MCV *rapid test* dan anti-MCV ELISA.

### Daftar Pustaka

- Avouac J, Gossec L (2006). Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006;65:845-851.
- Aletaha D, Neogi T, Silman A J. et al. (2010). Arthritis & Rheumatism : 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. *American College of Rheumatology* 2010;vol. 62, No. 9, September 2010, pp 2569-2581.
- Bang H, Egerer K. et al. (2007). Mutation and Citrullinated Modifies Vimentin to a Novel Autoantigen for Rheumatoid Arthritis. *American Arthritis & Rheumatism* vol.56, No. 8, August 2007, pp 2503 – 2511.
- Breedveld F, Vollenhoven R. 2009. Advances in the Management of Rheumatoid Arthritis. *Affinity BMJ Group*.
- Coenen D, Verschueren P, Westhovens R, Bossuyt X. 2007. Technical and Diagnostic Performance of Assays for the Measurement of Citrullinated Protein/Peptide Antibodies in the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *Clinical chemistry* 53: 3, p:498 - 504.
- Deo S, Chogle A. R, Mistry K. J. et.al. 2010. Pattern of Antigen Recognition by Anti-citrullinated Peptide Arthritis and Rheumatoid Arthritis. <http://scialert.net/abstract/?doi=rji.2010.157.168>.
- Egerer K, Feist E, Burmester GB. (2009). The Serological Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *Dtsch Arztebl* 2009; 106(10): 159-163.
- Ernest H.S, Choy M.D, Gabriel S.P. 2001. Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis.



- The New England Journal of Medicine. Volume 344: 907-916, March 22.
- Inanc N, Dalkilic E, Kamah. et.al. (2007). Anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clinical Rheumatology* 26: 17-23.
- Konert CI. et. al. 2008. Evaluation of The Rheumachec Express, A Bus Tour Conducted By The Rheumazentrum Rhein-Ruhr : A New Way To Early Diagnosis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67 (SupplII) : 434.
- Liu X, Jia R, Zhao J, Guo Z. 2009. The Role of Anti- Mutated Citrullinated Vimentin Antibodies in the Diagnosis of Early Rheumatoid Arthritis. Department of Rheumatology and Immunology, Peking University, Beijing, China. *The Journal of Rheumatology* 36: 6; doi: 10.3899/jrheum.080796.
- Makrygiannakis D, Klint. E, Lundberg I E. et. al. 2006. Citrullinated is an inflammation-dependent process. *Ann Rheum. Dis.* 2006; 65 : 1219
- Majithia v, Geraci SA. 2007. Rheumatoid arthritis: Diagnosis and Management. *Am. J. Med.* 120(11),p:936 – 969.
- Mc Innes I. B, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature Immunology.* June 7, 429 – 442.
- Mathsson L., Mullazehi M., Marius C. 2008. Antibodies Against Citrullinated Vimentin in Rheumatoid Arthritis. *American College of Rheumatology*, vol. 58, No.1, January 2008, pp 36-45. DOI 10. 1002/art.23188.
- Nishimura K. et.al. 2007. Meta-analysis: Diagnostic Accuracy of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody and Rheumatoid Factor for Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med.*2007;146: 797-808.
- Ozkan Y, Akaydyn S Y, Sepici A. 2007. Oxidative status in rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology* 26 : 64-68.
- Renger F, Bang H, Fredenhagen G. et al. 2010. Novel Rapid Point of care Anti-MCV Antibody Test for the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis using a lateral-flow Immunoassay. Orgentec manual. University of Smedizin Berlin-Buch Germany. Department of Rheumatology.
- Roland NP, Miqnot G. 2008. Antibodies to mutated citrullinated vimentin for diagnosing rheumatoid arthritis in anti-CCP negative patients. *Arthritis Res Ther*, 10 (6) : R 142.
- Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. 2002. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. Sixth Edition. ASM Press Washington, DC. P.5-17.
- Syversen S.W., Goll G.L., Heijde D. 2009. Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin: results from a ten-year prospective. Faculty of Medicine. University of Oslo, Norway.
- Sibuea W.H. et. al. 2005. Intern knowledge, 2<sup>nd</sup> edition, UKI-RK Press, 255-257.
- Soeroso J, Buku Ajar Segi Praktis Penelitian Klinis, Unit Epidemiologi Klinis FK-Unair-RSUD Dr. Soetomo Surabaya, 2010. Hal 12-16.
- Szekanecs Z, Soos L. et.al. 2008. Anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis : as good as it gets? *Clin Rev Allergy Immunol*, Feb; 34 (1) : 26-31.
- Steendam K, Tilleman K, Deforce D. 2011. The relevance of citrullinated vimentin in the production of antibodies against citrullinated proteins and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 50: 830 – 837.
- Tabushi Y, Nakanishi T. et. al. 2008. Detection of Citrullinated proteins in synovial fluids derived from patients with rheumatoid arthritis by proteomics-based analysis. *Ann. Clin.Biochem.* 2008; 45: 413-417.
- Tanikawa C, Ueda K, Nakagawa H. et al. 2011. Regulation of Protein Citrullinated through p53/PAD 14 Network in DNA Damage.
- Tilleman K, Cantaert T. et. al. 2008. Synovial detection and autoantibody reactivity of processed citrullinated isoforms of vimentin in inflammatory arthritides. *Rheumatology* 47: 597 – 604.
- Vastesaeger. N, Stephen, et. al. 2009. A pilot risk model for the prediction of rapid radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 48: 1114-1121.
- Walther J V & Ger J. 2000. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis university of Nijmegen, Nijmegen, the Netherlands *Arthritis Res* 2: 249-251.

Zhao J, Liu X, et. al. 2010. Is it Necessary to Combine Detection of Anticitrullinated Protein Antibodies in the Diagnosis of

Rheumatoid Arthritis? Department of Rheumatology and Immunology, Peking University.

---