

Sensitifitas dan Spesifisitas Pemeriksaan *Helicobacter pylori* pada Saliva Penderita Gastritis Kronik dengan PCR

Aida Farida, Mezfi Unita¹, Fifie Yulianita¹, Mutiara Budi Azhar², Yuwono³.

Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Palembang

Abstrak

Sebanyak 90-95% penderita gastritis kronik diinfeksi oleh *Helicobacter pylori*. Lima puluh persen dari penderita gastritis kronik tanpa menunjukkan gejala klinis. Identifikasi *H. Pylori* sangat penting untuk menegakkan diagnosis. Sejauh ini terdapat dua pendekatan untuk mengidentifikasi *H. Pylori* yaitu dengan pendekatan invasif dan noninvasif. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi *H.pylori* pada saliva penderita gastritis kronik dengan metode PCR (polymerase chain reaction). Penelitian ini adalah uji dignostik dengan subjek penelitian 26 orang penderita laki-laki dan 24 orang perempuan yang didiagnosis gastritis kronik nonatrofik secara endoskopi dan gastritis kronik secara histopatologi. Pemeriksaan saliva dengan PCR dilakukan berdasarkan metode Hakayama dan kawan-kawan yang dimodifikasi. Hasil pemeriksaan histopatologi didapatkan 15 orang (30%) didiagnosis sebagai gastritis kronik aktif-*H.pylori* dengan metaplasia intestinal, 1 orang (2%) gastritis kronik aktif-*H.pylori* dengan metaplasia intestinal dan fokal atrofik, serta 34 orang (68%) gastritis kronik inaktif dengan metaplasia intestinal. Hasil pemeriksaan saliva dengan PCR didapatkan 47 orang (94%) positif dan 3 orang (6%) negatif. Nilai sensitifitas adalah 93,75%, nilai spesifisitas adalah 5,8% dengan prediksi positif sebesar 31,9% dan prediksi negatif sebesar 66,67%.

Kesimpulan: berdasarkan hasil ini disimpulkan bahwa metode PCR untuk mendeteksi *H. pylori* memiliki nilai sensitifitas yang tinggi.

Kata kunci: *Helicobacter pylori*, gastritis kronik, Uji dignostik, PCR.

**SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF *HELICOBACTER PYLORI*
EXAMINATION
IN CHRONIC GASTRITIS PATIENTS' SALIVA THROUGH PCR**
Aida farida, Mezfi Unita¹, Fifie Yulianita¹, Mutiara Budi Azhar², Yuwono³
Faculty of Medicine Sriwijaya University
Palembang

Abstract

Ninety to ninety five percent chronic gastritis patients are infected by *Helicobacter pylori*. Fifty chronic gastritis patients show no clinical symptoms. Identification of *H. pylori* is very critical to establish a diagnosis. Up to present, there are 2 approaches to identify *H. Pylori*, invasive and non invasive. This study aims to identify *H. pylori* in chronic gastritis patients' saliva through PCR(Polimerase Chain Reaction). The studi is a diagnostic test in 26 male and 24 female patients diagnosed as having non athropic chronic gastritis endoscopically and chronic gastritis histopathologically. Saliva examination through PCR conducted modified Hakayama et al methods. Result of histopathology examination confirmed 15 patients diagnosed with active *H. pylori* chronic gastritis with intestinal metaplasia, 1(2%) active *H. pylori* chronic gastritis with intestinal metaplasia and athropic focal, and 34(68%) inactive chronic gastritis with intestinal metaplasia. Result of saliva examination through PCR confirmed 47 (94%) positive and 3 patients (6%) negative. Sensitivity value was 93,75%, specificity was 5,8% with positive prediction 31,9% and negative prediction 66,67%.

Conclusion: According to this result concluded that PCR methods is to detect *H. pylori* having high sensitifity value.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Chronic Gastritis, diagnostics test, PCR

1. Bagian/Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Moh. Hoesin/F.K Unsri , Palembang.
2. Departemen Mikrobiologi RSUP Dr. Moh. Hoesin/F.K Unsri, Palembang.
3. Unit Penelitian Kedokteran dan Kesehatan F.K Unsri, Palembang.

Perbaikan 28/5/08

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF *HELICOBACTER PYLORI* DETECTION USING PCR FROM SALIVA SAMPLES IN CHRONIC GASTRITIS PATIENTS

Aida Farida*, Mezfi Unita*, Fifie Yulianita*, Mutiara Budi A, Yuwono*****

*** Departement of Anatomy Pathology-Faculty of Medicine University of Sriwijaya**

**** Medical Research Unit-Faculty of Medicine University of Sriwijaya**

*** **Departement of Microbiology-Faculty of Medicine University of Sriwijaya**

Abstract

Ninety to ninety five percent chronic gastritis patients are infected by *Helicobacter pylori*. Fifty percent of these patients show no clinical symptoms. Identification of *H. pylori* is very critical to establish a diagnosis. There are two approaches to identify *H. Pylori* i.e. invasive methods and non invasive methods. The aim of this study is to identify *H. pylori* in saliva of chronic gastritis patients using polimerase chain reaction (PCR). The subject the study were 26 male and 24 female patients **who** were endoscopically diagnosed as nonatropic chronic gastritis and histopathologically were diagnosed as chronic gastritis. PCR is conducted to *H. pylori* in saliva according to modification of Hakayama *et al* method. The result of histopathology examination confirmed that 15 (30%) patients were diagnosed as *H. pylori* chronic gastritis with intestinal metaplasia, 1 (2%) patient was diagnosed as *H. pylori* chronic gastritis with intestinal metaplasia and athropic focal, and 34 (68%) patients were diagnosed as inactive chronic gastritis with intestinal metaplasia. The result of PCR confirmed that 47 (94%) samples are positive and 3 (6%) samples are negative. The result of PCR examination show that its sensitivity was 93,75%, specificity was 5,8%, positive prediction value 31,9% and negative prediction value 66,67%. According to this result, we concluded that PCR method has high sensitifity to detect *H. pylori* in chronic gastritis patients.

Keywords: *Helicobacter pylori*, chronic gastritis, PCR

Corresponding author. Mailing address: Dept. Anatomy pathology RSUP Dr. M Hoesin/ Faculty of Medicine University of Sriwijaya, Palembang. Telp (0711) 360435. e-mail aida_f_ahmad@yahoo.com.

Latar belakang

Di negara berkembang *H.pylori* menginfeksi orang dewasa sebanyak 80-90% dari populasi terutama pada masyarakat usia produktif. Gastritis kronik yang diinfeksi oleh bakteri ini antara 90% sampai 95% kasus. Faktor utama penyebab infeksi adalah karena sanitasi lingkungan buruk, tempat tinggal yang padat, sosioekonomi rendah serta gizi yang rendah.^(1,2,3)

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mendeteksi adanya infeksi *Helicobacter pylori* dengan pengambilan sampel secara invasif maupun noninvasif. Salah satu metode noninvasif adalah pemeriksaan saliva yang menggunakan PCR.⁽³⁾

H. pylori adalah bakteri gram negatif, nonspora yang tumbuh lambat namun sangat patogenik dengan habitat utamanya adalah mukosa lambung manusia. Tetapi bakteri ini dapat hidup secara transien pada rongga mulut manusia. Transmisinya diperkirakan melalui oral-oral, fekal-oral, gastrik –oral dan iatrogenik. Perjalanan bakteri ini sehingga dapat sampai ke rongga mulut diperkirakan melalui peristiwa refluks esofagus yang sering menyertai penderita gastritis kronik. Jika infeksi berlangsung bertahun-tahun dan menetap akan menimbulkan perubahan menjadi neoplasia. Sejak tahun 1994 bakteri ini dimasukkan ke dalam kelompok *carcinogen gastric class I*.^(5,7,8)

Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai sensitifitas dan spesifisitas pemeriksaan *H.pylori* pada saliva penderita gastritis kronik dengan menggunakan PCR.

Metode

Sampel saliva serta jaringan biopsi lambung bagian antrum dan korpus berasal dari 50 orang penderita gastritis kronik nonatrofik terdiri dari 26 orang laki-laki dan 24 orang wanita dewasa, didiagnosis secara endoskopi dan histopatologi yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan.

Kriteria penerimaan adalah semua penderita dengan dispepsia, laki-laki dan wanita dewasa yang berobat ke poliklinik atau dirawat di Bagian/Departemen Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Mohammad Hoesin, Palembang. Sedangkan kriteria penolakan terdiri dari penderita gastritis kronik nonatrofik yang didiagnosis secara endoskopi, tidak bersedia dilakukan biopsi lambung bagian antrum dan korpus serta hasil pemeriksaan histopatologi tidak dijumpai lamina propria.

Sampel dari saliva diperiksa dengan metode Hakayama dan kawan-kawan yang dimodifikasi menggunakan PCR untuk mendeteksi adanya gen 16 sRNA dari *H.pylori*, sedangkan biopsi diperiksa secara histopatologi dengan menggunakan pengecatan hematoksilin-eosin dan giemsa untuk melihat adanya *H.pylori*. Diagnosis secara histopatologi ditegakkan berdasarkan Sydney system sesuai dengan *Grading The Morphological Variables* dengan menggunakan skala analogi visual.⁽⁹⁾

Hasil

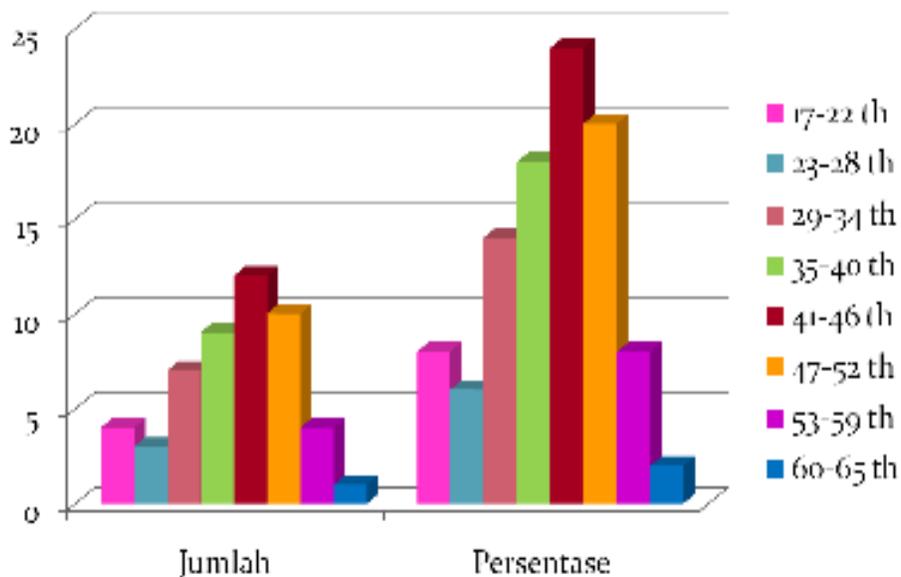
Penderita yang mengikuti penelitian ini sebanyak 69 orang, yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan hanya 50 orang (N) terdiri dari 26 orang (52%) laki-laki dan 24 orang (48%) wanita, seperti yang tertera pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Distribusi penderita yang dilakukan biopsi pada antrum dan korpus lambung menurut jenis kelamin.

Jenis Kelamin	n	%
Laki-laki	26	52
Wanita	24	48
N	50	100

Penderita gastritis kronik paling banyak terdapat pada kelompok usia produktif yaitu antara 41 tahun sampai 46 tahun. Sedangkan yang paling sedikit terjadi pada usia antara 60 tahun sampai 65 tahun sebagaimana diagram berikut.

Diagram 1. Distribusi penderita yang dilakukan biopsi pada antrum dan korpus lambung menurut umur.



Tabel 2. Jenis gastritis kronik yang didiagnosis berdasarkan hasil pemeriksaan secara histopatologi.

No.	P	Identitas	PMN		HP	Metap	Atrofik
			+	-			
1	6	Perempuan/44 th	√	-	+	√	+
2	7	Laki-laki/18 th	√	-	-	√	-
3	8	Perempuan/42 th	√	-	-	√	-
4	9	Perempuan/51 th	-	-	-	√	-
5	12	Perempuan/49 th	√	-	-	√	-
6	13	Laki-laki/20 th	√	-	-	√	-
7	14	Perempuan/49 th	√	√	√	√	-
8	15	Perempuan/30 th	-	-	-	√	-
9	16	Perempuan/36 th	√	-	-	√	-
10	17	Perempuan/45 th	√	√	√	√	-
11	18	Perempuan/23 th	-	-	-	√	-
12	20	Laki-laki/ 25 th	√	√	√	√	-
13	21	Laki-laki/ 48 th	√	-	-	√	-
14	22	Laki-laki/35 th	√	√	√	√	-
15	25	Perempuan/43 th	√	√	√	√	-
16	26	Laki-laki/39 th	√	√	√	√	-
17	28	Perempuan/17 th	√	-	-	√	-
18	29	Perempuan/35 th	√	√	√	√	-
19	31	Perempuan/42 th	√	√	√	√	√
20	32	Laki-laki/19 th	√	-	-	√	-
21	34	Laki-laki/35 th	√	-	-	√	-
22	35	Laki-laki/35 th	√	√	√	√	-
23	36	Perempuan 45 th	√	-	-	√	-
24	37	Perempuan/24 th	√	-	-	√	-
25	38	Perempuan/39 th	√	-	-	√	-

No.	P	Identitas	PMN		HP	Metap	Atrofik
			+	-			
26	39	Laki-laki/33 th	√	-	+	√	+
27	42	Perempuan/29 th	√	-	-	√	-
28	43	Perempuan/43 th	-	-	-	√	-
29	44	Perempuan/48 th	√	√	√	√	-
30	45	Laki-laki/58 th	√	√	√	√	-
31	46	Perempuan/45 th	√	√	√	√	-
32	47	Laki-laki/30 th	√	√	√	√	-
33	48	Laki-laki/29 th	√	√	√	√	-
34	50	Perempuan/42 th	√	-	-	√	-
35	51	Perempuan/51 th	√	-	-	√	-
36	55	Laki-laki/32 th	-	-	-	√	-
37	56	Laki-laki/39 th	√	-	-	√	-
38	57	Laki-laki/42 th	√	-	-	√	-
39	58	Laki-laki/46 th	√	-	-	√	-
40	59	Perempuan/55 th	√	-	-	√	-
41	60	Laki-laki/47 th	√	-	-	√	-
42	61	Laki-laki/33 th	√	-	-	√	-
43	62	Laki-laki/47 th	-	-	-	√	-
44	63	Laki-laki/37 th	√	-	-	√	-
45	64	Laki-laki/48 th	-	-	-	√	-
46	65	Perempuan/44 th	√	-	-	√	-
47	66	Laki-laki/61 th	√	√	√	√	-
48	67	Laki-laki/56 th	√	-	-	√	-
49	68	Laki-laki/49 th	√	-	-	√	-
50	69	Laki-laki/59 th	√	-	-	√	-

Dari pemeriksaan biopsi antrum dan korpus lambung didapatkan data masing-masing 15 orang terdiri dari 8 orang laki-laki (16%) dan 7 orang wanita (14%) dengan gastritis kronik aktif-*H. pylori* dengan metaplasia intestinal. Seorang wanita dengan gastritis kronik aktif-*H. pylori* dengan metaplasia intestinal dan fokal atrofik, 27 orang (54%) terdiri dari 12 orang (24%) laki-laki dan orang 15 orang (30%) wanita dengan gastritis kronik aktif dengan metaplasia intestinal, serta sebanyak 7 orang terdiri dari 5 orang (10%) laki-laki dan 2 orang (4%) wanita didiagnosis sebagai gastritis kronik inaktif dengan metaplasia intestinal baik pada antrum saja, korpus saja maupun pada kedua lokasi tersebut. Jadi semua penderita gastritis kronik secara histopatologi mengalami metaplasia intestinal.

Tabel 3 dibawah ini menunjukkan perbandingan adanya *H. pylori* pada hasil biopsi lambung, tanpa memandang apakah dari antrum atau korpus saja atau berasal dari keduanya dengan hasil PCR.

Tabel 3. Hasil uji sequen DNA Helicobacter pylori

Hasil Uji	Histopatologi			
		Hp Positif	Hp Negatif	Jumlah
Saliva Dengan PCR	Hp Positif	15	32	47
	Hp Negatif	1	2	3
	Jumlah	16	34	50

Untuk hasil pemeriksaan sequen DNA *Helicobacter pylori* pada saliva penderita gastritis kronik didapatkan 47 orang atau 94% terdiri dari 23 orang (46%) laki-laki 24

orang wanita (48%) adalah positif dan 3 orang laki-laki atau (6%) dengan hasil pemeriksaan negatif.

Data yang didapat menunjukkan bahwa pemeriksaan sequen DNA *H. pylori* pada saliva memiliki nilai sensitifitas sebesar 93,75% dari baku emas, dan nilai spesifisitas sebesar 5,8% dari baku emas dengan prediksi positif sebesar 31,9% dan prediksi negatif sebesar 66,67%. Pada penelitian ini *H. pylori* secara histopatologi dijumpai pada 16 orang (32%) sedangkan sequen DNA yang diambil dari saliva dijumpai positif pada 47 orang (94%).

Pembahasan

Sequen *H. pylori* dijumpai pada saliva lebih banyak dari pada hasil biopsi antrum, korpus ataupun keduanya. Hal ini dapat terjadi karena

1. Secara histopatologi:

- tujuan pemeriksaan adalah melihat *H. pylori* secara utuh
- prosedurnya dengan melakukan pulasan giemsa
- *H. pylori* dinyatakan positif jika bakteri ini tampak utuh sesuai dengan diskripsi gambaran morfologinya dan berwarna biru. Negatif jika ragu-ragu atau benar-benar negatif.

2. Secara PCR:

- tujuan adalah amplifikasi gen target dalam hal ini 16 sRNA.
- prosedur bahwa primer secara spesifik akan melekat pada gen target.
- hasil pemeriksaan dinyatakan positif jika terlihat pita DNA pada gel elektroforesis di 100 bpairs (bp). Dan negatif jika gel elektroforesis kosong.

Jika secara histopatologi positif, PCR positif berarti ada *H. pylori* karena gen 16 sRNANYA dengan PCR akan terdeteksi (+).

Jika secara histopatologi negatif, PCR positif berarti tidak ada *H. pylori* atau bakteri ini ditemukan dalam bentuk fragmen. Bakteri dalam bentuk fragmen masih mungkin untuk menghasilkan PCR positif.

Jika histopatologi positif sedangkan PCR negatif, kemungkinan disebabkan metode PCR gagal secara teknis sehingga tidak ada bakteri atau target gen 16 sRNA pada saliva.

Jika dengan pemeriksaan histopatologi negatif dan pemeriksaan PCR juga negatif berarti kemungkinan memang tidak ada infeksi oleh *H. pylori*.

Pada hasil penelitian ini dijumpai infiltrasi PMN yang sangat minimal (1-2 PMN) pada beberapa sediaan namun *H. pylorinya* negatif. Mungkin keadaan ini terjadi karena adanya infeksi atau penyakit lain.

Faktor yang mempengaruhi hasil penelitian ini adalah pada proses pengolahan jaringan di Laboratorium Patologi Anatomi mulai dari memfiksasi jaringan sampai pemulasan dapat menyebabkan kesalahan dalam menginterpretasikan hasil secara mikroskopik. Contoh pemakaian formalin yang bukan buffer menyebabkan timbulnya bentukan pigmen formalin pada sediaan saat dilihat dibawa mikroskop atau penanaman jaringan yang tidak rata atau jika salah satu jaringan ukurannya terlalu kecil menyebabkan kehabisan salah satu jaringan lebih cepat dari yang lain. Juga pemotongan jaringan yang terlalu banyak untuk satu sediaan menyebabkan jaringan cepat habis sebelum dilakukan pemotongan untuk pemulasan giemsa. Pemakaian kaca objek yang tidak sesuaipun dapat menyebabkan perubahan warna pada sediaan dimana seharusnya

sediaan berwarna biru berubah menjadi ungu. Dan pemotongan jaringan yang tebal menyebabkan sediaan sulit untuk diinterpretasi.

Selain itu faktor yang mempengaruhi hasil adalah saat dilakukan proses pemeriksaan saliva dengan menggunakan PCR mulai dari proses isolasi DNA hingga *running* dengan elektroforesis.

Dari pembahasan diatas didapatkan hasil pemeriksaan DNA *H. pylori* dengan PCR merupakan uji sensitifitas yang dapat dipakai untuk mendeteksi adanya *H. pylori* pada saliva penderita gastritis kronik selain pemeriksaan secara histopatologi. Spesifisitas PCR tidak bisa disimpulkan lebih rendah dibanding pemeriksaan histopatologi karena pemeriksaan histopatologi menghendaki bakteri teridentifikasi secara utuh sedangkan pada PCR fragmen genome sekalipun sudah cukup mendeteksi.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa gastritis kronik banyak terjadi pada penderita berusia produktif, sehingga penyakit ini dapat mengganggu produktifitas kerja dengan perbandingan laki-laki dan perempuan hampir sama. Gastritis kronik dengan metaplasia dijumpai pada semua penderita gastritis kronik, apakah itu hanya antrum atau korpus saja atau pada keduanya. Nilai sensitifitasnya yang tinggi dan spesifisitasnya rendah menyebabkan penelitian pemeriksaan sequen DNA *H. pylori* pada saliva penderita gastritis kronik menggunakan PCR ini hanya sensitif untuk penderita gastritis kronik. Hasil penelitian ini juga dapat digunakan untuk melakukan eradikasi terhadap bakteri *H. pylori* khususnya pada penderita gastritis kronik.

Ucapan Terima Kasih

Kami ucapkan terima kasih kepada Dr. Diah Rini Hanjari, SpPA dari Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah membantu dalam konsultasi mendiagnosis secara histopatologi. Juga diucapkan terima kasih kepada Bapak Djamio, Madi Santoso dan Sularmi dari Bagian/Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. M, Hoesin/ Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang dan Bapak Herri dari Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah membantu dalam memroses jaringan hingga pemulasan secara histopatologi.

Rujukan

1. Chen Liu, James M, Crawford. Gastrointestinal tract. In: Robbins SL and Cotran RS, Pathologic basis of disease. Elsevier saunders, 2005, 7th ed, 813-814.
2. Kusumobroto Hernowo. *Helicobacter pylori* infection. Dalam: Pendidikan kedokteran berkelanjutan ilmu penyakit dalam XVII. 2002.
3. Hegar. B. Infeksi *Helicobacter pylori* pada anak. Pada Prosiding simposium temu ilmiah akbar 2002, 137-148.
4. Syam AF, Kolopaking MS, Rani AA. *Helicobacter pylori*: Diagnosis and Treatment. Medical Progress, 2001, July, 16-18.
5. M Ellin D. Food research institute, UW-Madison. Update to *Helicobacter pylori* Briefing January 1997. <http://www.wisc.edu/fri/hpylori.htm>, 12/25/2006.
6. Yoewono VD. Pemeriksaan patologi anatomi mukosa lambung pada dispepsia. *Dyspepsia : Sains dan Aplikasi Klinik*. Editor Rani AA dkk. Pusat informasi dan penerbitan bag ilmu penyakit dalam FKUI. Jakarta, 2004, edisi ke 2, 95-101.
7. Fardah A, Ranuh RG dkk. Infeksi *Helicobacter pylori* pada anak, pada Continuing education Ilmu kesehatan anak XXXVI, Kapita selekta ilmu kesehatan anak VI, 2006, Juli.
8. El-Omar Emad M. *Helicobacter pylori* in gastric cancer. *Gastrointestinal cancer Abstract* 10 spring 2003.
9. H:\List of IARC Group 1 carcinogens - Wikipedia, the free encyclopedia.mht. 6/1/2008.

