

Analisis Gambaran Morfologi Limfadenitis Tuberkulosis Menggunakan Metode Biopsi Aspirasi Jarum Halus dan *Polymerase Chain Reaction*

Dedy Suryadi, Delyuzar, Soekimin

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
Medan

Penulis korespondensi: Dr. dr. Delyuzar, SpPA(K).

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
Jl. Universitas No. 1
Medan 20155.

e-mail: dr_delyuzar@yahoo.com; e-mail: pedy51yp@yahoo.com

ABSTRAK

Latar belakang

Indonesia termasuk negara kedua dengan kasus TB (tuberkulosis) terbanyak di dunia, sehingga TB di Indonesia harus dikendalikan dengan cara meningkatkan kapasitas dan membangun akses universal yang dibutuhkan untuk menegakkan diagnosis laboratorium yang cepat dan akurat. Kemajuan dalam mengontrol TB dan mengurangi konsekuensinya dapat dipercepat melalui diagnosis dini dan pengobatan yang tepat. Penelitian ini menggunakan pemeriksaan *polymerase chain reaction* (PCR) sebagai baku emas, walaupun untuk diagnosis rutin membutuhkan biaya yang lebih mahal. Oleh karena itu sangat dibutuhkan metode diagnostik yang cepat, akurat dan tidak mahal yaitu biopsi aspirasi jarum halus (BAJAH) dengan gambaran morfologi berupa epiteloid dan nekrosis. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis gambaran morfologi limfadenitis TB menggunakan BAJAH dan PCR.

Metode

Penelitian ini merupakan studi analitik dengan pendekatan potong lintang. Jumlah sampel adalah n sampel, yaitu semua pasien limfadenitis tuberkulosis. Kriteria gambaran morfologi yang berupa epiteloid dan nekrosis pada pemeriksaan sitologi BAJAH dan PCR, kemudian dilakukan uji *chi-square*.

Hasil

Gambaran morfologi limfadenitis TB yang berupa epiteloid dan nekrosis pada pemeriksaan sitologi BAJAH menunjukkan hasil pemeriksaan PCR 100% positif. Analisis statistik menggunakan *Fisher exact* antara grup I dan grup II, grup II dan grup III menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p=0,074$); sedangkan antara grup I dan grup III menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0,05$).

Kesimpulan

Metode PCR dapat digunakan untuk mengkonfirmasi gambaran morfologik (epiteloid dan nekrosis) limfadenitis TB.

Kata kunci: TB, limfadenitis, biopsi aspirasi, morfologi, PCR.

Analysis Morphological of Tuberculosis Lymphadenitis Features between Cytology Biopsy of Fine Needle Aspiration Polymerase Chain Reaction Methods

ABSTRACT

Background

Indonesia is the 2nd largest of tuberculous (TB) cases in the world. Therefore, TB must be controlled by increasing the capacity and developing universal access needed for TB diagnose accurately and quickly. Progression in controlling TB and decreasing the consequence can be accelerated through early detection and prompt treatment. This study used PCR test as gold standard, albeit the high cost. Thus, quick, accurate and low cost diagnostic method is needed. In this case morphologic features requirement include the existence of epithelioid and necrosis in FNAB smears. Objective was to analyze morphologic features of tuberculosis lymphadenitis using FNAB and PCR methods.

Methods

This study is a cross sectional analysis. N samples are all kind of lymphadenitis tuberculosus. Morphologic features in FNAB cytology must be confirmed using PCR test and performing chi-square test respectively.

Results

Epithelioid and necrosis features of TB lymphadenitis on FNAB showed 100% positive on PCR methods. This study divided into three groups. Statistic analyses between group I and II, group II and III showed in significant differences ($p=0.074$); while between group I and III showed significant differences ($p<0.05$).

Conclusions

PCR method could confirmed morphologic features (epithelioid and necrosis) of TB lymphadenitis.

Key words: TB, lymphadenitis, aspiration biopsy, morphology, PCR.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) masih merupakan masalah utama kesehatan global. Indonesia termasuk negara kedua dengan kasus TB terbanyak di dunia.¹ Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit kronis sistemik dan serius, paling sering berhubungan dengan *M. tuberculosis*. TB kelenjar adalah peradangan satu atau lebih kelenjar yang biasanya disebabkan oleh fokus infeksi primer di tempat lain di dalam tubuh. *M. tuberculosis* berbentuk batang atau terkadang sedikit melengkung, tidak berspora maupun berkapsul. Ukuran panjang 1-4 µm dan lebar 0,3-0,6 µm. Penularan TB biasanya langsung, melalui inhalasi organisme dalam bentuk aerosol yang dihasilkan oleh proses ekspektorasi.² Salah satu langkah dalam mengendalikan TB adalah meningkatkan sumber daya manusia termasuk kemampuan tenaga kesehatan dalam penemuan kasus dengan harapan dapat menurunkan penularannya.³ Ahli Patologi Anatomi sendiri sangat berperan dalam menegakkan diagnosis limfadenitis TB, didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyimpulkan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam menegakkan diagnosis limfadenitis TB. Dalam mengontrol TB, diperlukan peningkatan kapasitas dan akses *universal* untuk diagnosis dini.⁴ Deteksi TB yang terlambat akan meningkatkan risiko penularan, namun dengan diagnosis dini dan pengobatan yang tepat, maka TB akan dapat dikendalikan.⁵

Selain TB paru, lokasi yang paling sering adalah Kelenjar Getah Bening (KGB), saluran urogenital, pleura, tulang dan sendi, meningen dan sistem saraf pusat, peritoneum dan organ perut lainnya.⁶ Penderita TB ekstra paru di Amerika Serikat dan Jerman dilaporkan masing-masing sebanyak 41% dan 50%. Limfadenitis TB di India terbanyak pada usia 11-20 tahun, sedangkan di Amerika Serikat sering pada usia 25-50 tahun. Perbandingan antara laki-laki dengan perempuan adalah 1:1,3.⁷ Epidemiologi TB menurut data survei di India lebih besar dari perkiraan, walaupun angka kejadian dan kematian TB menurun secara global.¹ Pertumbuhan TB akan meningkat apabila terdapat kemiskinan, kepadatan penduduk dan penyakit kronis yang menyebabkan disabilitas. Demikian juga, pada orang berdaya tahan tubuh rendah dan lanjut usia, rentan tertular penyakit TB. Jumlah kasus baru di

Indonesia setiap tahun bertambah 25% dan sekitar 140.000 kematian disebabkan oleh TB.⁸

Limfadenitis TB dapat dideteksi melalui pemeriksaan sitologi biopsi aspirasi jarum halus. Dalam menegakkan diagnosis limfadenitis TB secara sitologi tidak selalu mudah dan kultur negatif tidak mutlak menyingkirkan TB, sehingga perlu teknik lain sebagai baku emas. Kriteria diagnostik TB secara sitologi apabila dijumpai kelompokan sel histiosit tipe epiteloid dan sel-sel datia berinti banyak dari tipe Langhans, dengan atau tanpa nekrosis.¹⁰⁻¹⁵

Limfadenopati sering dijumpai dalam praktek klinis. Penggunaan sitologi BAJAH pada pemeriksaan limfadenopati telah menjadi teknik minimal invasif yang dapat diterima dan dipraktikkan secara luas. Hal ini sangat menghemat biaya dan akurat sebagai lini pertama untuk pemeriksaan berbagai kondisi inflamasi, dan keganasan.¹⁶ Sitologi biopsi aspirasi sangat mudah, cepat, murah dan dapat diterapkan pada negara yang berkembang dengan fasilitas yang terbatas.¹⁷ Sedangkan, pada penelitian yang lain menyimpulkan hal yang berbeda, di mana klinisi harus konsisten untuk melakukan pemeriksaan *M. tuberculosis* pada pembengkakan di leher dan biopsi jarum halus.¹⁸

Untuk menegakkan diagnosis limfadenitis TB dapat dilakukan kultur, dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* dan gambaran histopatologi maupun imunohistokimia. Teknik terbaru yang diperkenalkan adalah *Radiometric BECTEC system* dan PCR. PCR merupakan suatu teknik perbanyakan (amplifikasi) potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA *template* nya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vivo* yang bersifat semi konservatif. Teknik ini mampu memperbanyak urutan 105-106 kali lipat dari jumlah nanogram DNA *template*. PCR dapat digunakan untuk amplifikasi urutan nukleotida, menentukan kondisi urutan nukleotida suatu DNA yang mengalami mutasi, bidang kedokteran forensik, melacak asal-usul seseorang dengan membandingkan sidik jari, mendeteksi DNA mikrobiologi seperti *M. tuberculosis*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis gambaran morfologi limfadenitis TB menggunakan BAJH dan PCR.

METODE

Penelitian ini merupakan studi analitik dengan desain potong lintang (*cross sectional*). Seluruh sampel merupakan penderita dengan pembesaran KGB sesuai dengan kriteria inklusi yaitu peradangan spesifik maupun non spesifik, sampel diperoleh secara *non probability consecutive sampling*. Aspirasi jarum halus dilakukan pada setiap sampel dan dibuat 2 sediaan apusan untuk pemeriksaan sitologi dan pemeriksaan PCR.

Pada sediaan pertama dilakukan aspirasi pada lesi, diambil aspirat dan dibuat sediaan apus. Sediaan dikeringkan diudara dan diwarnai dengan *May Grunewald Giemsa*, lalu dinilai kriteria gambaran morfologi sitologi berupa epiteloid dengan nekrosis, epiteloid tanpa nekrosis dan nekrosis tanpa epiteloid kemudian dikonfirmasi dengan pemeriksaan PCR.

Selanjutnya pada sediaan kedua dengan cara yang sama diambil aspirat dari tempat yang sama dengan aspirat pertama dan dibuat sediaan untuk PCR dengan metode konvensional untuk menentukan *M. tuberculosis complex*. Referensi strain bakteri mycobacterial dan nonmycobacterial diperoleh dari American Type Culture Collection (ATCC; Rockville, Md.) yang digunakan pada amplifikasi PCR sesuai dengan instruksi ATCC: *M. tuberculosis* ATCC 25177. DNA seluler yang dimurnikan diampifikasi dengan DNAase polimeraseTaq termostabil dalam thermal cycler (Perkin-Elmer Cetus; Norwalk, Conn.) sebagai *M. tuberculosis* positif. Campuran reaksi amplifikasi DNA 100- μ l mengandung 10 mMTris hidroklorida (pH 8,3); 50 mM potassium chloride; 1,5 mM magnesium klorida; 0,01% gelatin; 20 pmol masing-masing dari dua primer; 2,5 nmol dari masing-masing dari empat trifosfat deoksiribonukleosida; 1 U dari Taq DNA polimerase (Perkin-Elmer Cetus); dan jumlah spesimen DNA, DNA kontrol positif, atau DNA kontrol negatif yang sesuai. Suhu campuran reaksi pertama-tama dinaikkan menjadi 94°C selama 20 detik, untuk mendenaturasi DNA, dan kemudian didinginkan hingga 63°C selama 20 detik. Suhu campuran reaksi kemudian dinaikkan menjadi 72°C selama 1 menit, untuk memper-panjang pertumbuhan rantai DNA. Proses ini diulangi 32 kali, dengan inkubasi 10 menit pada 72°C pada akhirnya. Sepersepuluh dari campuran reaksi yang diampifikasi difraksinasi secara elektro-

foresis dalam gel agarosa 2% yang mengandung 0,5 μ g etidium bromida per ml dan diperiksa secara visual di bawah sinar UV untuk pita-pita DNA dengan ukuran yang sesuai. Jika hasil awal negatif, sebagian (biasanya seperlima) dari campuran reaksi yang diampifikasi untuk 32 siklus lainnya dalam kondisi yang sama dengan deoksiribonukleosida trifosfat, primer, dan Taq DNA polimerase yang ditambahkan baru-baru ini. Sepasang oligonukleotida sintetis 24-basa yang mengurung wilayah kode gen 165-basa untuk antigen 65-kilodalton telah disintesis. Urutan primer oligonukleotida adalah (dari ujung 5' sampai 3') CTAG GTCGGGACGGTGAGGCCAGG dan CATTGCGAAGT GATTCTCCGGAT. Oligonukleotida lain dengan panjang 40 pangkalan yang terletak di antara dua primer disintesis untuk digunakan sebagai penyelidikan internal, dan urutannya adalah (dari ujung 5' hingga the 3') AGCGTAAGTAGCGGGGTTGCCGT CACCCGGTGACCCCGT. Perbedaan setiap kategori akan dianalisis dengan menggunakan uji *fisher exact test* dengan menggunakan perangkat lunak uji statistik.

HASIL

Penelitian ini terdiri atas 97 sampel penderita limfadenitis yang dilakukan tindakan biopsi aspirasi jarum halus di Laboratorium Patologi Anatomik di kota Medan. Hasil penelitian tersebut ditampilkan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian berdasarkan pemeriksaan FNAB.

Pemeriksaan FNAB	Jumlah	Persentase (%)
TB	39	40,2
Proses radang kronik non spesifik	34	35,1
Abses	24	24,7
Total	97	100

Pada Tabel 1 hasil pemeriksaan biopsi aspirasi jarum halus menunjukkan 39 (40,2%) sampel diagnosis TB; 34 (35,1%) sampel proses radang kronik non spesifik; 24 (24,7%) sampel diagnosis abses.

Tabel 2. Distribusi kasus berdasarkan morfologi & PCR positif.

Group	Tampilan morfologi	Jumlah	PCR positif
I	Epiteloid dengan nekrosis	22	100%
II	Epiteloid tanpa nekrosis	12	100%
III	Nekrosis tanpa epiteloid	5	60%
Total		39	

Berdasarkan tampilan morfologi dapat dibagi menjadi *group* I, II dan III. Dari 39 kasus dengan gambaran TB dijumpai 22 (100%) kasus dengan tampilan epiteloïd dengan nekrosis didapati 100% PCR positif, serta 12 (100%) kasus dengan tampilan morfologi berupa epiteloïd tanpa nekrosis dengan hasil 100% PCR positif. Sedangkan tampilan morfologi nekrosis tanpa epiteloïd yang terdiri atas 5 kasus didapati 60% PCR positif.

Tabel 3. Perbedaan statistik antara *group* morfologi.

Group	Morfologi	Positif	Negatif	Fisher Exact Test (p)
I	Epiteloïd dengan nekrosis	22	0	p=0,074
II	Epiteloïd tanpa nekrosis	12	0	
III	Nekrosis tanpa epiteloïd	3	2	p=0,028
I	Epiteloïd dengan nekrosis	22	0	
III	Nekrosis tanpa epiteloïd	3	2	

Berdasarkan perbedaan antara *group* morfologi, dengan menggunakan *fisher exact test* kemudian dibandingkan antara *group* I dengan *group* II didapatkan hasil PCR konstan oleh karena 100% PCR positif. Lalu dibandingkan *group* II dengan *group* III didapatkan perbedaan yang tidak signifikan ($p=0,074$). Selanjutnya dibandingkan antara *group* I dan *group* III didapatkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$).

DISKUSI

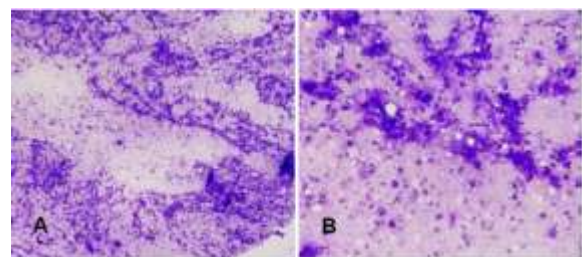
Tabel 1 menunjukkan bahwa dari 97 sampel, dijumpai 40,2% sampel pasien TB, 35,1% sampel proses radang kronik non spesifik dan 24,7% sampel abses. Pada penelitian terdahulu menunjukkan 50% sampel limfadenitis non spesifik, 36% sampel TB dan 10% sampel abses.¹⁶

Hasil penelitian ini sesuai dengan peneliti terdahulu yang menyatakan bahwa hampir 40% kasus positif TB sesuai dengan data WHO.

Pada Tabel 2 dapat dilihat gambaran morfologi yang lain digunakan sebagai pembandingan. Tampilan morfologi limfadenitis TB yang dikonfirmasi dengan PCR terdapat 39 sampel pemeriksaan PCR positif TB yang diteliti menunjukkan adanya gambaran epiteloïd dengan nekrosis dijumpai pada 22 kasus. Gambaran epiteloïd tanpa nekrosis dijumpai

pada 12 kasus. Sedangkan, gambaran nekrosis tanpa epiteloïd dijumpai hanya 5 kasus. Kasus limfadenitis sering ditemukan, di mana secara klinis bisa saja dicurigai sebagai TB. Namun, menegakkan diagnosis berdasarkan gambaran morfologi adalah sangat penting untuk memulai pengobatan pada kasus limfadenitis TB. Sitologi biopsi aspirasi jarum halus sangat sederhana, noninvasif, murah dan memiliki sensitifitas yang tinggi. Berdasarkan rujukan morfologi yang dinilai adalah epiteloïd dengan nekrosis, epiteloïd tanpa nekrosis dan nekrosis tanpa epiteloïd.¹¹

Pada Tabel 3 dapat dilihat perbedaan statistik masing-masing *group* morfologi, di mana perbedaan *group* I dan II didapatkan hasil PCR konstan, hal ini disebabkan pada pemeriksaan PCR baik *group* I dan *group* II didapatkan 100% positif. Perbedaan antara *group* II dan *group* III pada penelitian ini tidak dijumpai perbedaan yang bermakna, sedangkan pada *group* I dan *group* III terdapat perbedaan yang bermakna dalam menegakkan diagnosis TB. Sejalan dengan penelitian terdahulu yang membandingkan antara sitomorfologi epiteloïd dan nekrosis dijumpai pada 72 (40,0%) kasus, epiteloïd tanpa nekrosis 53 (29,5%) kasus, sedangkan nekrosis tanpa epiteloïd 55 (30,5%) kasus.¹⁰ Sedangkan penelitian terdahulu, dalam membandingkan pola limfadenitis TB dijumpai epiteloïd dengan nekrosis 102 (48,1%) kasus, epiteloïd tanpa nekrosis 40 (18,9%), sedangkan nekrosis tanpa epiteloïd 70 (33%) kasus.¹¹



Gambar 1. Nekrosis dan epiteloïd A. 100x. B. 400x.

Gambaran morfologi epiteloïd dengan nekrosis dijumpai pada seluruh kasus TB pada penelitian ini yang terjadi oleh karena adanya inflamasi dan kerusakan jaringan yang disebabkan oleh stimulasi makrofag untuk mengeradikasi *mycobacteria*, sehingga respon Th1 menimbulkan pembentukan granuloma dan nekrosis. Makrofag yang teraktivasi bisa membentuk

sitoplasma yang banyak menyerupai sel-sel epitel yang disebut sel epiteloid. Beberapa makrofag yang teraktivasi akan bergabung membentuk satu *multinucleated giant cell*. Dari uraian di atas morfologi epiteloid dan nekrosis dapat menjadi pegangan sebagai kriteria minimal dalam menegakkan diagnosis TB.² Pada sebagian kecil kasus infeksi TB berkembang karena usia lanjut atau immunosupresi, sehingga respon imun yang terjadi hanya nekrosis tanpa epiteloid.³

Berdasarkan studi yang dilakukan penulis sebelumnya, didapatkan bahwa pemeriksaan biopsi aspirasi jarum halus pada limfadenitis TB memiliki akurasi 94,85%. Sedangkan sensitivitas dan spesifisitas masing-masing 92,50% dan 96,49%, sehingga dapat digunakan sebagai pemeriksaan yang lebih cepat, murah dan akurat dalam menegakkan diagnosis limfadenitis TB.¹⁹

KESIMPULAN

Metode PCR dapat digunakan untuk mengkonfirmasi gambaran morfologik (epiteloid dan nekrosis) lymfadenitis TB.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2016, WHO/HTM/TB/2016.13, Switzerland, 2016.
2. Robbins SL, Cotran RS. Tuberculosis in: Pathologic Basis of Disease. 9th ed. USA: Elsevier; 2015. p. 371-6.
3. Delyuzar. 2009. "Korelasi Antara Massa Eosinofilik Dengan Partikel Coklat Gelap dan Keberadaan M. Tuberkulosa Dalam Jaringan". Disertasi. Universitas Sumatera Utara.
4. Parsons LM, Somosko"vi A, Gutierrez C, Lee E, Paramasivan CN, Abimiku A, *et al*. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis in Resource-Poor Countries: Challenges and Opportunities. Clin Microbiol Rev. 2011; 24: 314-50.
5. World Health Organization [Internet]. Geneva: Early TB Detection; 2016 [cited 2016 November 24]. Available from: <http://www.who.int/tb/areas-of-work/laboratory/en/>
6. Sandgren A, Hollo V, van der Werf MJ. Extrapulmonary Tuberculosis In The European Union and European Economic Area, 2002-2011. Eurosurveillance

[Internet]. Volume 18, Issue 12. 2013 March 21 [cited 2016 November 24]. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/viewarticle.aspx?articleid=20431>

7. Eliandy S, Lubis HMND, Delyuzar. Hubungan Gambaran Bercak-bercak Gelap (Dark Specks) pada Latar Belakang Material Nekrotik Granular Eosinofilik dengan Kadar CD4 Penderita Limfadenitis Tuberkulosis Servikalis yang Disertai HIV/AIDS. Maj Patol Indones. 2011; 20(3): 8-14.
8. Indonesia. TBC Masalah Kesehatan Dunia. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2011.
9. Gupta SK, Chugh TD, Sheikh ZA, Al Rubah NA. Cytodiagnosis of tuberculous lymphadenitis. A correlative study with microbiologic examination. Acta Cytol. 1993; 37: 329-32.
10. Mitra SK, Misra RK, Raj P. Cytomorphological patterns of tubercular lymphadenitis and its comparison with Ziehl-Neelsen staining and culture in eastern up. (Gorakhpur region): Cytological study of 400 cases. Indian Academy of Cytologists. J Cytol. 2017;34:139-43.
11. Masilamani S, Arul P, Akshatha C. Correlation of cytomorphological patterns and acid-fast Bacilli positivity in tuberculous lymphadenitis in a rural population of southern India. J Nat Sci Biol Med. 2015; 6: S134-8.
12. Chaudari S, Batra N, Halwal D, Bhat S. FNAC of tubercular lymph node-An alternative to excision biopsy. Indian J Pathol Oncol. 2016; 3: 237-41.
13. Koss LG, Melamed MR. Granulomatous lymphadenitis. In: Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 1193-97.
14. Orell SR, Sterett FG, Whitaker D. Granulomatous lymphadenitis. In: Fine Needle Aspiration Cytology. USA; Elsevier Saunders; 2005. p. 93-95.
15. Giri S, Singh K. Fine needle aspiration cytology for the diagnostic of tuberculous lymphadenitis. Int J Cur Res Rev. 2012; 4: 124-30.
16. Patel VK, Sheth R, Shah K. A retrospective study on role of fine needle aspiration cytology in diagnosis of cervical lymphadenopathy. Int J Med Sci Pub Health. 2016; 5: 1588-91.

17. Joachim HL, Medeiros LJ. Mycobacterial Lymphadenitis In: Lymph Node Pathology. 4th ed. Philadelphia: Lippincot William & Wilkins, 2009. p. 130-136.
18. Harrison AC, Jayasundera T. Mycobacterial cervical adenitis in Auckland: diagnosis by fine needle aspirate. NZ. Med J. 1999; 112: 7-9.
19. Suryadi D, Delyuzar, Soekimin. Diagnostic accuracy of tuberculous lymphadenitis fine needle aspiration biopsy confirmed by PCR as gold standard. IOP conf. ser. Earth Environ Sci. 2018; 125: 012048.