

## Pemeriksaan helicobacter pylori dengan PCR dari lambung penderita gastritis kronis

**Novi Triana, Mezfi Unita, Jusuf Fantoni, Theodorus, Yuwono**

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya Palembang*

### ABSTRAK

#### Latar belakang

*Helicobacter pylori* (*H.pylori* atau *Hp*) adalah bakteri yang hidup pada mukus dan epitel lambung manusia. Bakteri ini merupakan salah satu penyebab terjadinya gastritis, ulkus duodenum dan lambung, atau salah satu faktor penyebab keganasan lambung. Di negara berkembang prevalensi *H.pylori* dilaporkan lebih tinggi dibandingkan negara maju. Angka prevalensi juga tergantung dari status sosioekonomi, budaya, lingkungan dan genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan nilai sensitifitas dan spesifisitas pemeriksaan PCR dengan pemeriksaan histopatologik dalam mendeteksi *H.pylori* serta mengetahui nilai dugaan positif dan negatif pemeriksaan PCR.

#### Metode

Sampel diambil dari arsip slide dan blok parafin di Laboratorium Patologi Anatomi, dan cairan lambung dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/Rumah Sakit Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Jumlah sampel yang diperlukan untuk penelitian ini sebanyak 30 sampel, kemudian dilakukan review oleh spesialis Patologi Anatomi, dilakukan pulasan Giemsa dan pemeriksaan PCR untuk cairan lambung.

#### Hasil

Pada penelitian ini didapatkan 30 sampel, tujuh sampel (23,3%) dengan atrofi kelenjar, 5 sampel (16,7%) dengan metaplasia intestinal dan 14 sampel *H.pylori* positif (46,7%). Hasil pemeriksaan sequen DNA *H.pylori* positif sebanyak 28 orang (93,3%) dan sequen DNA *H.pylori* negatif sebanyak 2 orang (6,7%). Setelah dilakukan uji diagnostik didapati nilai sensitifitas 92,85%, spesifisitas 6,25%, prediksi positif 46,4% dan prediksi negatif 50%. Sampel terbanyak (27) adalah gastritis kronik aktif, diikuti oleh gastritis kronik nonaktif.

#### Kesimpulan

Untuk mengetahui adanya *H.pylori* pada lambung, pemeriksaan dengan metode PCR ini bisa dijadikan pemeriksaan alternatif apabila pasien menolak untuk dilakukan biopsi lambung.

**Kata kunci :** *H.pylori*, biopsi, cairan lambung, PCR

### ABSTRACT

#### Background

*Helicobacter pylori* (*H. pylori* or *Hp*) grows in human gastric epithelial tissue and mucus. This bacteria caused chronic inflammation, duodenal ulcer, and also involved in the development of gastric cancer. In many developing countries the prevalence of *Helicobacter pylori* is higher than developed countries. The prevalence of this infection has depend on the low socioeconomic status, culture, genetic, hygiene and sanitation. The objective of this research is to compare the sensitivity and specificity value of the PCR and histopathology technique for detect *H. Pylori* in gastric juice, and also the value of positive and negative prediction.

#### Methods

The diagnostic test was done in Microbiology Laboratory. Sample was taken from slide and paraffin block achieved at Anatomic Pathology Laboratory, and the gastric juice was from Microbiology Laboratory of Medicine Faculty of Sriwijaya University/Dr. Mohammad Hoesin Hospital Palembang. Then all the samples are reviewed by pathologist, stained for Giemsa and examined with PCR.

#### Result

They were 30 samples drawn in this study, seven samples (23,3%) with atrophic glands, 5 samples (16,7%) with intestinal metaplasia and 14 samples were positive *H.pylori* (46,7%). The result of DNA squence positive *H.pylori* were 28 samples (93,3%) and DNA squence negative *H.pylori* were 2 samples (6,7%). The sensitivity and spesificity value of PCR are 92,85% and 6,25% while the positive and negative prediction value are 46,4% and 50%. The majority of samples (27) were active chronic gastritis, followed by nonactive chronic gastritis.

#### Conclusion

In conclusion, this study showed that the examination of gastric juice with PCR method can be alternatively method for diagnosed *H.pylori*. Furthermore, this examination can be recommended for patient with chronic dyspepsia refused gastric biopsy.

**Key words :** *H.pylori*, biopsy, gastric juice, PCR

**PENDAHULUAN**

*Helicobacter pylori* (*H.pylori* atau *Hp*) adalah bakteri yang hidup berkoloni pada mukosa saluran cerna manusia dan merupakan salah satu penyebab terjadinya gastritis, ulkus duodenum dan lambung, atau salah satu faktor penyebab keganasan lambung. Infeksi didapatkan secara oral-oral, fekal-oral, dan iatrogenik, sebagian besar ditularkan antar anggota keluarga, terutama pada keluarga besar.<sup>1,2,3</sup> Diperkirakan 50% penduduk dunia telah terinfeksi oleh kuman *H.pylori* ini. Namun hanya sebagian kecil saja yang kemudian berkembang menjadi tukak peptik dan karsinoma lambung. Prevalensi infeksi *H.pylori* di negara berkembang dilaporkan lebih tinggi dibandingkan negara maju. Di negara berkembang, prevalensi pada orang dewasa 70-90%, sedangkan anak-anak berkisar 30-80%. Sedangkan di negara maju diperkirakan pada orang dewasa sebesar 25-50%, dan anak-anak 10%. Angka prevalensi juga tergantung dari status sosial-ekonomi, budaya, lingkungan dan genetik.<sup>2,4,5,6</sup>

Penegakan diagnosis infeksi *H.pylori* dapat dilakukan dengan metode invasif dan non invasif. Metode invasif meliputi endoskopi dan biopsi yang diikuti oleh pemeriksaan histopatologi, biakan, atau uji urease. Pemeriksaan dengan metode non invasif antara lain tes serologi, uji C-urea nafas, *stool antigen*, serta pemeriksaan cairan lambung, *saliva* dan *dental plaque* dengan menggunakan *polimerase chain reaction (PCR)*.<sup>7,8,9,10</sup>

Pemeriksaan cairan lambung masih digolongkan dalam pemeriksaan yang non invasif, karena tidak dilakukan biopsi.

Di Indonesia, terutama di Sumatera Selatan belum ada penelitian tentang uji diagnostik untuk menilai sensitifitas dan spesifisitas *H.pylori* dari cairan lambung dengan menggunakan *PCR*. Penelitian seperti ini pernah dilakukan oleh Basso D. dkk., 1996 dan Kearney DJ dkk., 2008 didapatkan hasil nilai sensitifitas 92% dan spesifisitas 93%.<sup>11,12,13</sup>

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan *H.pylori* dengan menggunakan metode *PCR* serta dibandingkan dengan pemeriksaan histopatologik sebagai baku emas yang bertujuan mencari metode lain untuk mendiagnosis *Helicobacter pylori* pada penderita gastritis kronis.

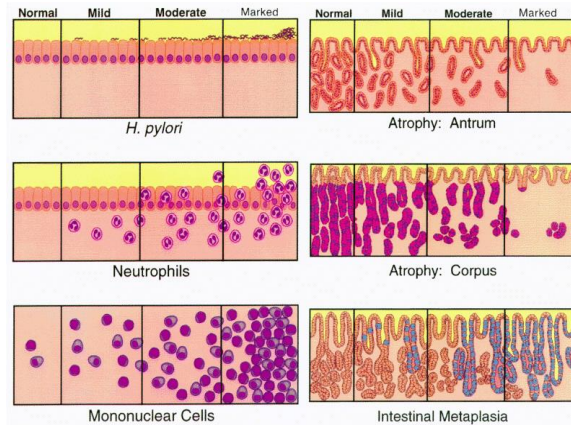
**BAHAN DAN CARA KERJA**

Penelitian dilaksanakan mulai 11 Mei 2009 sampai dengan 30 Juli 2009 di Bagian Patologi

Anatomik dan Mikrobiologi Rumah Sakit Dr. Mohammad Hoesin/Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang. Didapatkan sebanyak 30 sampel yang memenuhi kriteria inklusi. Kemudian dilakukan review slide H&E dan blok parafin Selanjutnya dilakukan pulasan Giemsa untuk mencari *H.pylori*. Sedangkan sampel cairan lambung diambil di laboratorium mikrobiologi yang disimpan didalam freezer dan terlebih dahulu dicairkan pada suhu ruangan sebelum dilakukan pemeriksaan *PCR*.

**Penilaian secara histopatologi**

Penegakan diagnosis gastritis kronik akibat infeksi *H.pylori* berdasarkan *Sydney system* sesuai dengan *Grading The Morphological Variabes* dengan menggunakan skala *analogi visual* seperti dibawah ini.<sup>23,24</sup>



**Gambar 1.** skala visual analogue<sup>24</sup>

**Proses pemeriksaan dengan PCR**

Sediaan atau sampel cairan lambung dicairkan terlebih dahulu, kemudian dilakukan isolasi *DNA* dilanjutkan dengan proses *PCR*, *running*, pembacaan *PCR* dalam gel block, dan hasilnya disimpan dalam file.<sup>25</sup>

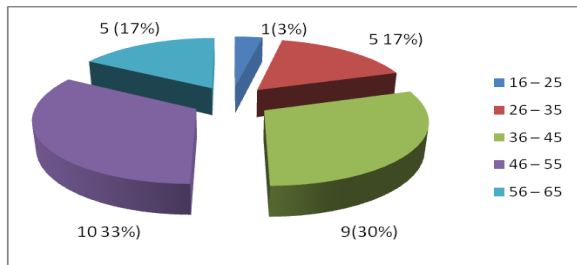
**HASIL**

Review slide H&E mendapatkan kelompok gastritis kronik aktif seperti terpapar pada tabel 1.

Umur penderita yang paling muda berusia 16 tahun sebanyak 1 orang (3%) dan paling tua berusia 60 tahun sebanyak 1 orang (3%). Gambar 1 di bawah ini menunjukkan kelompok umur terbanyak dijumpai pada kelompok umur 46-55 tahun sebanyak 10 orang (33%) dan yang paling sedikit terdapat pada kelompok umur 16-25 tahun sebanyak 1 orang (3%). Rata-rata usia (mean) adalah 42 tahun.

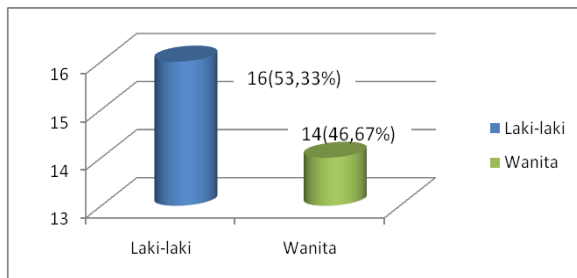
**Tabel 1.** Diagnosis Gastritis kronik dan sebaran *H.pylori*.

No	Diagnosis	Jumlah
1.	GKA, Hp negatif	12
2.	GK inaktif	3
3.	GKA, Hp + antrum & korpus	4
4.	GKA, atrofi antrum & korpus, Hp + antrum & korpus	1
5.	GKA, atrofi antrum, Hp + antrum	1
6.	GKA, Hp + korpus	1
7.	GKA, atrofi antrum, metaplasia intestinal antrum & korpus, Hp + antrum	1
8.	GKA, atrofi & metaplasia intestinal pada korpus, Hp + korpus	1
9.	GKA, metaplasia intestinal antrum & korpus	1
10.	GKA, atrofi korpus, Hp + antrum & korpus	1
11.	GKA, atrofi & metaplasia intestinal antrum & korpus, Hp + antrum & korpus	1
12.	GKA, atrofi antrum, Hp + antrum	1
13.	GKA, metaplasia intestinal korpus, Hp+ korpus	1



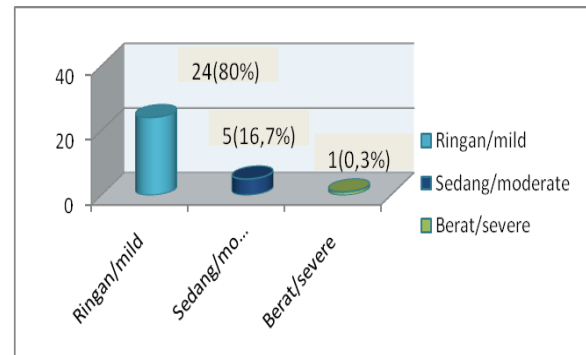
**Gambar 2.** Distribusi penderita gastritis kronik menurut umur.

Pada penelitian ini sampel dari penderita laki-laki sebanyak 16 orang (53,3%) dan penderita perempuan sebanyak 13 orang (46,6%), seperti yang tertera pada gambar 3.

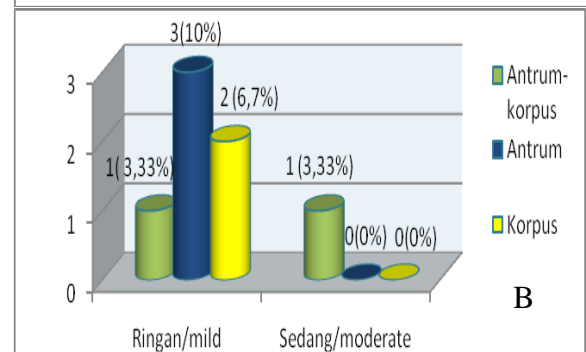
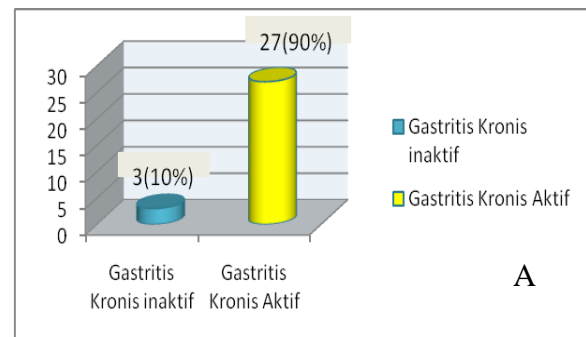


**Gambar 3.** Distribusi penderita gastritis kronik menurut jenis kelamin.

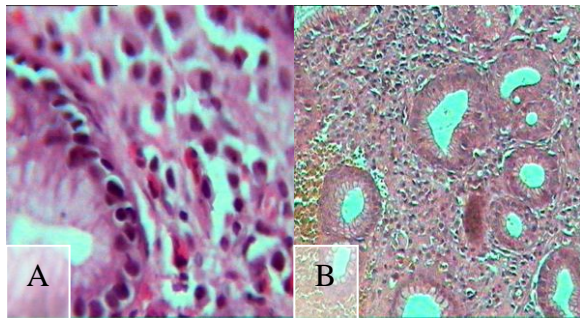
Diantara 30 sampel slide penderita pulasan hematoksin eosin didapatkan penderita dengan gastritis kronis derajat kepadatan infiltrasi sel radang MN ringan/*mild* sebanyak 24 (80%) orang, sedang/*moderate* sebanyak 5 (16,7%) orang, dan berat/*severe* 1 (0,3%) orang (Gambar 4). Dari semua penderita gastritis kronis didapatkan 27 penderita (90%) dengan gastritis kronis aktif yang diinfiltrasi oleh sel-sel radang pmn, sedangkan sisanya 3 penderita (10%) adalah gastritis kronis yang inaktif, dapat dilihat pada gambar 5A dan gambar 6A.



**Gambar 4.** Distribusi derajat kepadatan infiltrasi sel radang MN



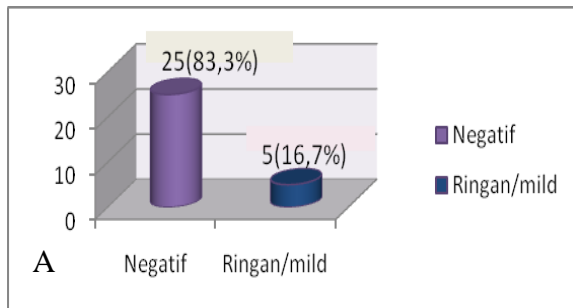
**Gambar 5.** Distribusi jenis gastritis kronis dan derajat atrofik kelenjar. A. Kasus terutama terdiri atas Gastritis kronis aktif (90%) dan B. Distribusi derajat atrofik pada gastritis kronis aktif, terbanyak adalah atrofi derajat ringan di antrum (10%).



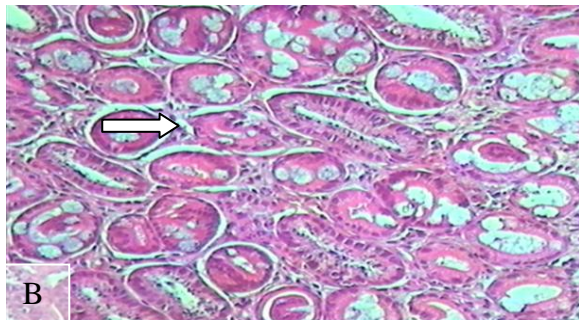
**Gambar 6.** Gastritis kronik aktif dengan atrofi kelenjar. A. Tampak sebaran sel pmn dalam stroma diantara kelenjar. B. Gambaran kelenjar atrofik.

Gambaran atrofi kelenjar dinilai dari antrum dan korpus, semuanya berjumlah 7 sampel (23,3%). Pada antrum saja dijumpai 3 sampel (10%) dengan derajat ringan, pada korpus saja dijumpai 2 sampel (6,7%) dengan derajat ringan, sedangkan dikedua tempat baik antrum maupun korpus masing-masing 1 sampel (3,33%) dengan derajat ringan dan 1 sampel (3,33%) dengan derajat sedang (Gambar 5B dan Gambar 6B).

Distribusi gambaran metaplasia intestinal pada penelitian ini hanya dijumpai pada 5 orang penderita (16,7%) (gambar 7A), itupun hanya dengan gambaran metaplasia intestinal derajat ringan.



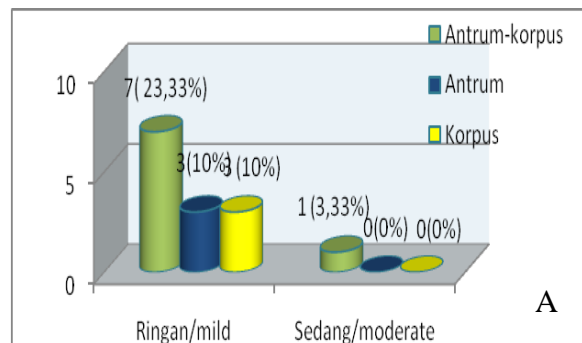
**Gambar 7A.** Distribusi metaplasia intestinal.



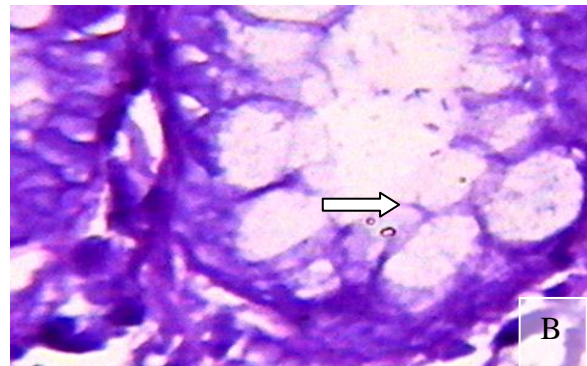
**Gambar 7.** Gambaran histopatologik kelenjar dengan meta plasia intestina (panah putih)

Di antara lima penderita dengan metaplasia intestinal, 4 penderita dengan *H.pylori* positif dan 1 penderita dengan *H.pylori* negatif. Metaplasia akan meningkat prevalensinya sesuai dengan lamanya penyakit dan merupakan predisposisi suatu keganasan pada lambung. Pada penelitian ini dijumpai 3 penderita (10%) yang mengalami metaplasia yang disertai atrofi kelenjar.<sup>23,24</sup>

Pada pulasan Giemsa didapatkan 14 penderita (46,7%) dengan infeksi *H. pylori* positif yang positif pada antrum saja 3 penderita (10%), pada korpus saja 3 penderita (10%) yang positif pada antrum dan korpus 8 penderita (26,7%), 7 diantara dengan derajat ringan dan 1 dengan derajat sedang.



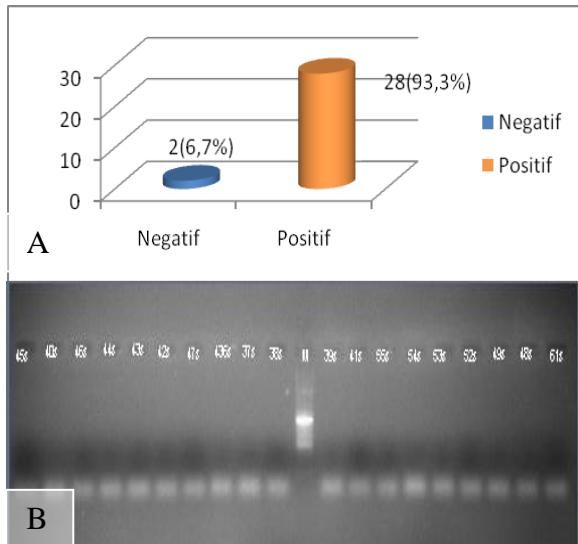
**Gambar 8A.** Distribusi *H. Pylori* positif.



**Gambar 8B.** *H.pylori* pada pengecatan Giemsa (panah putih)

Hasil pemeriksaan PCR pada 30 sampel cairan lambung penderita gastritis kronik dapat dilihat pada gambar 9 terlihat hasil pemeriksaan sequen DNA *H.pylori* positif sebanyak 28 orang (93,3%) dan sequen DNA *H.pylori* negatif sebanyak 2 orang (6,7%), sedangkan gambaran hasil pemeriksaan PCR dapat dilihat pada gambar 9.





**Gambar 9. A.**Sebaran kasus Gastritis kronik dengan *H.pylori* positif pada pemeriksaan dengan PCR. **B.** Gambaran gel electrophoresis PCR-RFLP kasus dengan *H. Pylori* positif pada cairan lambung

Dari kedua hasil PCR yang negatif ternyata ada satu penderita yang positif secara histopatologik, ini kemungkinan disebabkan kesalahan interpretasi *H.pylori* secara histopatologik atau kesalahan dalam proses pemeriksaan PCR.

**Hasil Uji Diagnostik Pemeriksaan H.pylori dengan metode PCR**

Hasil uji diagnostik *H.pylori* dari sampel cairan lambung dengan menggunakan metode PCR dibandingkan dengan pemeriksaan histopatologik dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Perbandingan hasil Uji diagnostik *H.pylori* dengan metode PCR dengan pemeriksaan histopatologik menggunakan pulasan Giemsa.

PCR	Histopatologi			Jumlah
	Positif	Negatif	Jumlah	
Positif	13	15	28	
Negatif	1	1	2	
Jumlah	14	16	30	

Dari hasil perhitungan pada tabel 2x2 didapatkan nilai sensitifitas 92,85%, spesifisitas 6,25%, nilai dugaan positif 46,4% dan nilai dugaan negatif sebesar 50%.

**PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini kelompok umur yang paling banyak *H. pylori* positif adalah umur 46-55 tahun.

Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya di RSMH 1997 oleh Mediarty dengan hasil yang terbanyak adalah pada kelompok umur 31-40 tahun.

Jenis kelamin laki-laki pada penelitian ini sedikit lebih banyak dari pada perempuan. Hal ini sama seperti penelitian Duyhoven Y.T.H.P dan Jonge R tahun 2001 yang mengatakan bahwa insiden pada laki-laki lebih banyak dibandingkan wanita.<sup>4,14</sup>

Pada penelitian ini atrofi ditemukan baik pada antrum maupun korpus saja atau pada kedua jenis mukosa lambung.

Kesemua sampel slide dengan atrofi kelenjar baik yang ringan maupun sedang termasuk dalam gastritis kronik aktif dengan *H.pylori* positif. Atrofi berat dapat menyebabkan kerusakan mukosa hingga terjadi erosi dan ulserasi, keadaan ini dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker. Dari semua gastritis kronik aktif dengan positif *H.pylori*, dijumpai 2 penderita (6,7%) yang mengalami metaplasia intestinal saja, 4 penderita (13,3%) dengan atrofi kelenjar saja yang kesemuanya derajat ringan. Sedangkan dijumpai 3 penderita (10%) yang mengalami metaplasia intestinal dan atrofi kelenjar. Hasil ini memperkuat teori yang menyatakan bahwa infeksi *H. pylori* dapat menyebabkan terjadinya atrofi dan metaplasia intestinal pada kelenjar lambung.<sup>15,16</sup>

Berdasarkan karakteristik penderita secara umum, gambaran histopatologik dan PCR, didapatkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Namun hasil uji diagnostik didapatkan nilai sensitivitas 92,85% yang ternyata kurang lebih sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Basso D dkk.(1996)<sup>16</sup>, dan spesivisitas 6,25% jauh lebih rendah dari hasil penelitian Kearney DJ dkk (2008)<sup>17</sup>. Nilai spesifisitas yang rendah pada penelitian ini disebabkan cara pengambilan sampel slide hanya berasal dari penderita yang didiagnosis dispepsia kronik secara klinis, sedangkan pada penelitian-penelitian sebelumnya populasi sampel diambil secara acak sehingga hasil spesifisitas tinggi.<sup>16,17</sup>

Nilai dugaan positif yang didapatkan pada penelitian ini 46,4% dan nilai dugaan negatif sebesar 50%. Hal ini menerangkan

bahwa kemungkinan adanya kesalahan dalam menegakkan diagnosis histopatologik maupun PCR.

Kesalahan pada pemeriksaan histopatologik dapat terjadi mulai dari proses pengambilan biopsi sampel yang tidak tepat pada daerah koloni *H.pylori* atau biopsi terlalu kecil sehingga pada pemeriksaan histopatologik tidak dijumpai *H.pylori*. Pada proses pengolahan jaringan mulai dari *embedding* sampai pewarnaan dapat pula terjadi kesalahan, sehingga akan menyebabkan terjadi kesalahan dalam menginterpretasikan hasil secara mikroskopik.

Kesalahan dalam pemeriksaan PCR dapat menyebabkan hasil positif palsu maupun negatif palsu, positif palsu pada pemeriksaan PCR mungkin saja terjadi, namun insidennya sangat kecil hanya  $\pm 1\%$  misalnya: adanya *sharring gen* antara *H.pylori* dengan *H.helmannii*, dimana terjadi transfer gen dari *H.pylori* ke *H.helmannii* dengan cara transformasi, transduksi maupun konjugasi. Negatif palsu terjadi karena target strain gen bakteri yang dideteksi tidak dijumpai pada strain primer yang digunakan untuk PCR, gen bakteri yang akan dideteksi sangat heterolog sehingga primer yang digunakan tidak dapat mendeteksinya, bakteri *H.pylori* hanya sedikit sekali dijumpai pada cairan lambung sehingga tidak terdeteksi, juga akibat adanya hambatan pada enzim *tag polimerase* oleh kon-taminan yang terdapat pada cairan lambung.<sup>18,19</sup> Selain itu, penggunaan agarose yang telah dipakai berkali-kali dapat menyebabkan hasil pembacaan pada layar monitor tidak terlalu jelas, hal ini dapat menyebabkan kesalahan dalam interpretasi hasil.<sup>19,20</sup>

Dari hasil penelitian ini dapat diambil suatu kesimpulan bahwa pemeriksaan PCR dengan sampel cairan lambung dapat dilakukan untuk mendeteksi bakteri *H.pylori* sehingga dapat dijadikan pilihan lain selain pemeriksaan histopatologik yang merupakan pemeriksaan invasif.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Isaacson PG. Non Neoplastic Stomach. In: Gastrointestinal Pathology: An Atlas and Text. Third Edition. Lippincott Williams & Wilkins 2008.p. 169-174.
2. Hegar B. Infeksi *Helicobacter pylori* pada anak. Pada Prosiding simposium temu ilmiah akbar 2002; 137-148.

3. Peek RM. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Original Paper. Springer Semin Immun. 2005; 197-215[cited 2008 March 25].
4. Duynhoven YTHP and Jonge R. Transmission of Helicobacter pylori: a role for food?. Buletin of World Health Organization 2001; 79: 455-60.
5. Kusumobroto H. *Helicobacter pylori* infection from molecular biology to clinical practice. Presented at: Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Ilmu Penyakit Dalam XVII FK UNAIR RSUD Dr.Soetomo Surabaya, 2002.
6. Kusters JG, Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev. Juli 2006[cited 2008 Apr 21].
7. Egi Y, Ito M, Tanaka S, Imagawa S, Takata S, Yoshihara M, et all. Role of *Helicobacter pylori* Infection and Chronic Inflammation in Gastric Cancer in The Cardia. Japanese J Clin Oncol 2007;37: 365-9.
8. Syam AF, Kolopaking MS, Rani AA. *Helicobacter pylori*: Diagnosis and treatment. Medical Progress July 2001; 16-8.
9. Allen M. *Helicobacter pylori*. In Pathology Update. The Departement of Pathology Texas Tech University Health Science Center at El Paso. No.5 Feb 2005[cited 2009 Jan 3].
10. Valentine J.L. Arthur RR, Mobley HLT, Dick JD. Detection of *Helicobacter pylori* by using the Polymerase Chain Reaction. J Clin Microbiol, 1991:689-95.
11. Basso D et al. Gastric Juice polymerase chain reaction: an alternative to histology in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 1996; 159-164.
12. Allaker RP, Young KA, Hardie JM, Domizio P. Prevalence of *Helicobacter pylori* at oral and gastrointestinal sites in children: evidence for possible oral-to-oral transmission. In J Med Microbiol. 2002; 51:312-7.
13. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. Rev Art Med Progress. 2002; Vo347. 1175-86.
14. Hirlan. Gastritis Kronis. Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FKUI. 2006; 377-9.
15. Clayton C.L, Kleanthous H, Morgan DD, Tabaqchali S. Sensitive Detection of Helicobacter pylori by Using Polmerase Chain Reaction. J Clin Microbiol. 1992;192-200.

Pemeriksaan helicobacter pylori dengan PCR dari lambung penderita gastritis kronis-  
*N.Triana, M.Unita, J.Fantoni, Theodorus, Yuwono.*

16. Kearney DJ. Gastric-juice amonia assay for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the relationship of amonia concentration to gastritis severity. Am J Gastroenterol. 2000;95. 3399-403.
17. Yoewono VD. Pemeriksaan patologi anatomi mukosa lambung pada dispepsia. Dyspepsia : Sains dan Aplikasi Klinik. Editor Rani AA, dkk. edisi ke 2. Pusat informasi dan penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Jakarta. 2004; 95-101.
18. Michael DF, Robert GM, John YH, Pelayo C. Classification and grading of gastritis : The updated Sydney system. Am J Surg Pathol. 1996;20:1-13.
19. Monteiro L, Biraco C, Megraud F. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy by Polymerase Chain Reaction. In *Helicobacter pylori: techniques for clinical diagnosis and basic research*. Saunders Company Ltd. London. 1996; 112-9.