



Pemanfaatan Tes BRCA 1/2
Germline Untuk Manajemen
Kanker Herediter

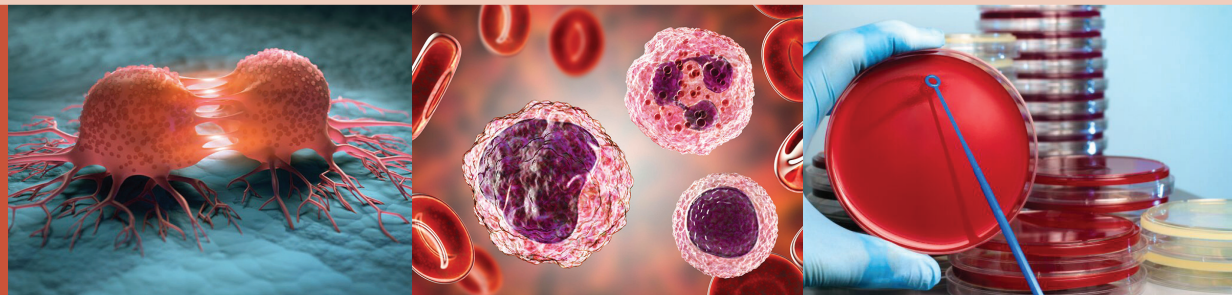
1

Pemanfaatan Nilai Rasio Neutrofil
Limfosit pada Pemeriksaan
Hematologi

4

Pentingnya Diferensiasi dan
Pencegahan Kontaminasi Kultur
Darah

5



INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 2/2023

PEMANFAATAN TES BRCA 1/2 *GERMLINE* UNTUK MANAJEMEN KANKER HEREDITER

PENDAHULUAN

Pada tubuh manusia, terdapat gen BRCA1 dan BRCA2 yang disebut sebagai gen penekan tumor karena memiliki kemampuan untuk memperbaiki kesalahan saat replikasi DNA. Oleh karena perubahan tertentu, gen-gen ini dapat mengalami mutasi yang bersifat patogen sehingga mengganggu proses reparasi DNA tersebut dan terbukti menjadi faktor predisposisi timbulnya kanker terutama payudara dan ovarium (1,2). Mutasi BRCA1 dan BRCA2 diperkirakan terdapat pada 5-10% dari keseluruhan kasus kanker payudara. Mutasi BRCA1 dan BRCA2 ini juga telah diteliti sebagai penyebab kanker yang diwariskan yang dikenal sebagai *hereditary breast and ovarian cancer syndrome* (HBOC) atau sindrom kanker payudara dan ovarium herediter (1). Tercatat lebih dari 400 varian mutasi gen BRCA1 dan BRCA2 yang telah ditemukan, di mana sekitar 80% mutasi berupa mutasi titik maupun insersi atau delesi. Tingginya variabilitas mutasi gen BRCA1 dan BRCA2 bermanifestasi pada variasi jenis mutasi yang terdapat pada keluarga yang berbeda, dan dapat mengekspresikan fenotip penyakit yang berbeda pula (2). Oleh karena itu, pemeriksaan BRCA1 dan BRCA2 *germline* dapat bermanfaat untuk mendeteksi secara spesifik mutasi yang terdapat pada seseorang dan/atau anggota keluarganya, di mana informasi yang didapat berguna untuk menentukan tatalaksana yang sesuai

dalam manajemen penyakit maupun faktor risiko terkait kanker herediter.

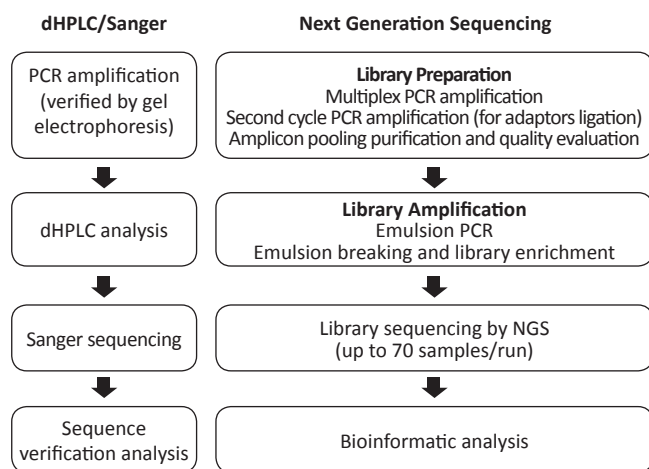
TEKNOLOGI *NEXT GENERATION* SEQUENCING

Pada dasarnya, metode laboratorium standar yang dinilai sesuai untuk mendeteksi mutasi gen BRCA1 dan BRCA2 adalah *comprehensive sequencing* dan uji *broad genomic rearrangements* agar dapat mendeteksi seluruh varian mutasi BRCA yang telah tercatat dalam *database*. Saat ini, teknologi *next generation DNA sequencing* mampu memfasilitasi fungsi tersebut melalui sistem yang simpel namun mutakhir dan akurat, serta dikerjakan dalam waktu yang cepat. Pemeriksaan BRCA 1/2 *Germline* dengan sampel darah di Prodia menggunakan metode *next generation sequencing* (NGS) tersebut dilanjutkan dengan konfirmasi menggunakan Sanger Sequencing pada hasil terdeteksi mutasi patogenik, sehingga mampu mendeteksi mutasi BRCA1 dan BRCA2 secara sensitif dan akurat (2).

Sebuah studi (n=70) menunjukkan bahwa metode NGS merupakan prosedur yang terpercaya untuk melakukan skrining molekuler gen BRCA 1/2 secara rutin dibandingkan metode konvensional seperti Sanger Sequencing (3). Prosedur pemeriksaan menggunakan NGS pada studi ini dapat dilihat pada Gambar 1. Studi lain memaparkan secara jelas keunggulan-keunggulan metode NGS untuk tujuan deteksi molekuler, seperti: 1) cukup menggunakan 1 metode untuk melakukan skrining menyeluruh BRCA1 dan BRCA2, sehingga mengurangi waktu dan biaya yang dibutuhkan untuk pengerjaan per sampel, 2) membutuhkan jumlah

sampel DNA yang relatif lebih sedikit untuk analisa multipel, dan 3) mampu meminimalisir hasil positif-palsu yang rentan terjadi pada metode lain seperti pada *multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA). Kelebihan-kelebihan ini tentunya mendukung deteksi molekuler mutasi BRCA1 dan BRCA2 yang lebih komprehensif dan tepat guna (4).

Teknologi NGS telah menjadi metode garis depan aplikasi laboratorium klinis, khususnya untuk pemeriksaan terkait kelainan-kelainan hereditas. Meskipun klaim dari berbagai NGS komersial menyebutkan sensitivitas dan spesifisitas metode ini adalah 100%, American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) merekomendasikan untuk melakukan konfirmasi terhadap varian (*pathogenic* maupun *likely pathogenic*) yang terdeteksi oleh NGS. Hal tersebut mengingat bahwa varian *pathogenic* atau *likely pathogenic* merupakan varian yang langka (*rare variants*) dengan *minor allele frequencies* <0,1% sehingga perlu adanya keseimbangan yang optimal antara sensitivitas dan spesifisitas. Penelitian Mu dkk yang melibatkan 20.000 sampel membuktikan bahwa NGS yang memiliki sensitivitas tinggi juga memberikan hasil positif palsu sebesar 1,3%. Penelitian ini menemukan bahwa pada daerah DNA yang sulit dilakukan sekuensing perlu dilanjutkan konfirmasi dengan Sanger (5).



Gambar 1. Prinsip prosedur konvensional (dHPLC/Sanger) dan NGS untuk pemeriksaan BRCA1 dan BRCA2 (3)

APLIKASI PEMERIKSAAN BRCA 1/2 GERMLINE

Tumor sequencing (TS) sebagai salah satu aplikasi kemajuan pemeriksaan genetik telah banyak dimanfaatkan oleh klinisi untuk mendeteksi mutasi somatik. Hasil yang didapat dari TS menjadi faktor prognostik mutasi *driver* dan dapat memberikan informasi mengenai *biomarker-biomarker* relevan lainnya yang membantu klinisi menentukan terapi target yang sesuai dengan mutasi spesifik yang terdeteksi (6). Meskipun begitu, pemeriksaan mutasi dengan TS terbatas pada sel tumor yang dideteksi saja dan tidak

memberikan informasi mengenai kemungkinan adanya mutasi melalui *germline*.

Studi menunjukkan bahwa sekitar 16%-17.5% pasien kanker stadium lanjut yang telah terdeteksi mutasi melalui pemeriksaan somatik juga membawa mutasi patogen *germline* setelah diperiksa (6). Meskipun begitu, pemanfaatan pemeriksaan *germline* masih minim di kalangan klinisi karena tujuan utama pemeriksaan genetik masih terfokus pada pengobatan sesegera mungkin. The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) telah merekomendasikan pemeriksaan lanjutan mutasi *germline* pada pasien yang telah terdeteksi mutasi melalui pemeriksaan somatik, karena ini berimplikasi tidak hanya pada manajemen klinis pasien kanker, tetapi juga pada probabilitas risiko kanker anggota keluarga terkait (6).

Gen BRCA1 dan BRCA2 paling banyak diasosiasikan dengan kanker payudara dan ovarium, namun dikaitkan juga dengan timbulnya kanker pankreas dan prostat. Salah satu kriteria pemeriksaan BRCA1/2 *germline* menurut NCCN adalah terdeteksinya varian *pathogenic* dan *likely pathogenic* (P/LP) pada pemeriksaan somatik, dan berlaku untuk apapun jenis kankernya (6). *Guideline* lain menyebutkan bahwa semua wanita yang memiliki riwayat kanker ovarium sebaiknya melakukan pemeriksaan BRCA 1/2 *germline*. Selain itu, penemuan *marker* histologis tertentu serta riwayat kanker yang kuat di keluarga pada seseorang dengan kanker payudara juga menjadi kriteria pemeriksaan BRCA1 & BRCA2 *germline*. Kemudian, terjadinya kanker di usia yang sangat muda juga menjadi kecurigaan adanya sindrom kanker hereditas, sehingga usia juga menjadi salah satu indikator rujukan pemeriksaan *germline* (6).

IMPLIKASI PEMERIKSAAN BRCA 1/2 GERMLINE

Perkembangan onkogenomik telah membantu penerapan terapi target untuk pengobatan kanker. Pada kasus kanker ginekologis, olaparib dan talazoparib yang merupakan *polyadenosine diphosphate-ribose polymerase* (PARP) *inhibitors* telah terbukti memberikan efek signifikan berupa *progression-free survival* pada pasien kanker payudara metastatik dengan mutasi BRCA *germline* positif dan HER2 negatif (7). Sebuah studi di Korea mengevaluasi penerapan pemeriksaan BRCA *germline* dan mengemukakan bahwa pemeriksaan BRCA *germline* yang telah tervalidasi dengan baik dan teraplikasi secara luas akan membantu menentukan prevalensi mutasi BRCA regional, dan pada akhirnya menunjang deteksi pembawa mutasi BRCA1/2 serta pemberian PARP *inhibitor* yang sesuai untuk pasien kanker khususnya payudara (7).

Sesuai dengan konsensus dari the American College of Medical Genetics and Genomics dan the Association for Molecular Pathology, pelaporan varian-varian genetik dari hasil analisis NGS dikategorikan sebagai berikut: "*pathogenic*", "*likely pathogenic*", "*variance of unknown*"



significance (VUS) atau *uncertain significance*”, “*likely benign*”, dan “*benign*”. Kategori-kategori ini digunakan untuk menginterpretasi temuan varian yang dikaitkan dengan kelainan-kelainan Mendelian. Pemeriksaan BRCA1/2 *germline* di Prodia mengadopsi hasil konsensus ini dalam pelaporan hasil pemeriksaan, di mana temuan varian “*pathogenic*” dan “*likely pathogenic*” yang termasuk dalam cakupan pemeriksaan dan akan dilaporkan. Varian “*pathogenic*” menandakan bahwa varian tersebut secara langsung berkontribusi pada timbulnya penyakit, sedangkan “*likely pathogenic*” berarti varian tersebut >90% berpotensi berkontribusi pada perkembangan penyakit. Informasi ini membantu klinisi mempersingkat analisis dan interpretasi dari temuan varian genetik seorang pasien (8).

Hasil positif mutasi BRCA1 dan/atau BRCA2 pada pemeriksaan *germline* merupakan salah satu faktor predisposisi kanker payudara dan ovarium herediter yang paling umum. Meskipun begitu, pemeriksaan yang memberikan hasil negatif tidak mengesampingkan kemungkinan adanya varian genetik lain selain BRCA 1/2 yang juga berkontribusi pada peningkatan risiko kanker herediter. Sebuah studi di Turki menemukan adanya varian P/LP lainnya pada 11.1% pasien kanker payudara dengan mutasi BRCA1/2 negatif. Varian-varian yang paling banyak ditemukan pada studi tersebut antara lain: PALB2, CHEK2, MUTYH, ATM, TP53, BRIP1, dan MSH2. Temuan varian gen selain BRCA1/2 dapat memprediksi adanya kanker pada bagian tubuh lain. Hal ini mengusulkan bahwa penting bagi klinisi untuk tetap mempertimbangkan adanya varian gen lain pada pemeriksaan BRCA1/2 *germline* yang memberikan hasil negatif, terutama pada pasien yang telah terdiagnosis kanker (9).

Selain kanker payudara dan ovarium, mutasi BRCA1 dan BRCA2 juga berkontribusi pada beberapa jenis kanker lain seperti kanker tuba falopi dan kanker peritoneal primer pada wanita. Jika ditemukan pada pria, mutasi BRCA1 dan BRCA2 juga memiliki potensi menyebabkan kanker payudara, meskipun kasus ini lebih langka. Selain itu, varian BRCA1/2 tertentu juga dapat menyebabkan Anemia Fanconi yang dikaitkan dengan terjadinya tumor pada anak dan juga leukemia myeloid akut (10).

PENUTUP

Melihat kebutuhan sesuai rekomendasi yang tinggi serta implikasi yang bermanfaat dari pemeriksaan ini, pemeriksaan mutasi BRCA1/2 *germline* perlu mendapat perhatian lebih dari para klinisi. Pemeriksaan ini diprioritaskan untuk individu dengan risiko tinggi, oleh karena itu penting untuk melakukan konseling dan evaluasi risiko dengan dokter atau konselor genetik sebelum memutuskan untuk melakukan pemeriksaan. Aspek-aspek evaluasi meliputi informasi mengenai riwayat kanker pada keluarga dan siapa yang mengalaminya, kanker apa yang diderita, dan pada usia berapa. Bagi individu yang telah terdiagnosis kanker, pemeriksaan ini berguna untuk menentukan varian penyebab kanker sehingga dapat diberikan obat yang menargetkan penyebab spesifik tersebut. Sedangkan bagi

individu sehat dengan risiko tinggi, pemeriksaan bermanfaat untuk mengetahui kemungkinan membawa mutasi terkait sehingga dapat menentukan strategi pencegahan kanker sesuai kondisi individu tersebut.

Bernadette Vania Lundina Arman

Referensi:

1. Casaubon JT, Kashyap S, Regan JP. BRCA 1 and 2 [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022 [cited 2023 Feb 14]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470239/>
2. Varol U, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Somali I, Altun Z, Aktas S, et al. BRCA genes: BRCA 1 and BRCA 2. *JBUON*. 2018;23(4):862-6.
3. D'Argenio V, Esposito MV, Telese A, Precone V, Starnone F, Nunziato M, et al. The molecular analysis of BRCA1 and BRCA2: Next-generation sequencing supersedes conventional approaches. *Clin. Chim.* 2015 Jun 15;446:221-5.
4. Schmidt AY, Hansen T v. O, Ahlborn LB, Jønson L, Yde CW, Nielsen FC. Next-Generation Sequencing-Based Detection of Germline Copy Number Variations in BRCA1/BRCA2: Validation of a One-Step Diagnostic Workflow. *J Mol Diagn.* 2017 Nov 1;19(6):809-16.
5. Mu W, Lu HM, Chen J, Li S, Elliott AM. Sanger Confirmation Is Required to Achieve Optimal Sensitivity and Specificity in Next-Generation Sequencing Panel Testing. *J Mol Diagn.* 2016 Nov;18(6):923-32.
6. Vlessis K, Purington N, Chun N, Haraldsdottir S, Ford JM. Germline Testing for Patients With BRCA1/2 Mutations on Somatic Tumor Testing. *JNCI Cancer Spectr.* 2020 Feb 1;4(1):pkz095.
7. Hong J, Lee J, Kwon M, Kim JY, Kim JW, Ahn JS, et al. Local Laboratory Testing of Germline BRCA Mutations vs. Myriad: A Single-Institution Experience in Korea. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Feb 22;11(2):370.
8. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015 May;17(5):405-24.
9. Ece Solmaz A, Yeniay L, Gökmen E, Zekioglu O, Haydaroğlu A, Bilgen I, et al. Clinical Contribution of Next-Generation Sequencing Multigene Panel Testing for BRCA Negative High-Risk Patients With Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* 2021 Dec;21(6):e647-53.
10. BRCA Gene Mutations: Cancer Risk and Genetic Testing Fact Sheet - NCI [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 2]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/brca-fact-sheet>

PEMANFAATAN NILAI RASIO NEUTROFIL LIMFOSIT PADA PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

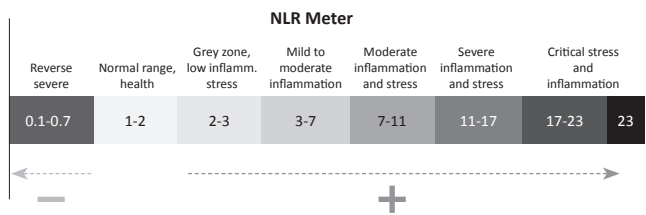
PENDAHULUAN

Selama 10 tahun terakhir, evaluasi rasio neutrofil-ke-limfosit atau *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) pada pemeriksaan hematologi sebagai penanda penyakit telah menjadi bidang penelitian biomedis yang menarik. NLR baru-baru ini dianggap sebagai bagian dari proses pengambilan keputusan terkait pemulihan pasien Penumonia dan COVID-19. Namun ternyata NLR banyak digunakan di hampir semua semua disiplin medis sebagai penanda respon imun yang andal dan mudah tersedia untuk berbagai infeksi dan non-infeksi (1). Pembahasan ini bertujuan untuk memberikan penjelasan kembali mengenai penggunaan penanda NLR, *cut-off* pada beberapa kondisi dari berbagai studi dan aplikasinya pada berbagai kondisi penyakit.

RASIO NEUTROFIL-LIMFOSIT PADA BERBAGAI KONDISI PENYAKIT

Hematologi lengkap adalah tes laboratorium yang murah, relatif rutin dan praktis yang memberi banyak informasi penting tentang kondisi pasien. Salah satu komponen yang ada dalam hematologi lengkap adalah hitung jenis leukosit yang merupakan komponen untuk pemeriksaan pemeriksaan NLR (2). NLR diukur dengan membagi jumlah neutrofil dengan jumlah limfosit, dengan skala perhitungan dapat dilihat pada Gambar 1 (3).

Meskipun nilai *cut-off* belum ditemukan namun pada studi epidemiologi yang dilakukan oleh Yahti et al. (2016) di Indonesia ditemukan nilai rata-rata NLR menjadi 1.95 (kisaran referensi 1.2-2.3) serta semua nilai NLR berada pada kisaran 0,77-4,5 (4).



Gambar 1. NLR Meter (3)

Kajian Zahorec (2021) merangkum kegunaan rasio neutrofil-ke-limfosit untuk skrining laboratorium dan diagnostik laboratorium, stratifikasi risiko, prognosis dan hasil klinis serta nilai *cut-off* dari berbagai studi-studi NLR (Tabel 1) (3).

Tabel 1. Nilai *cut off* berbagai studi NLR (3).

DIAGNOSIS	Nilai Cut-off, IQR, rentang dari kajian artikel [3]
Infection, bacteremia, bacterial pneumonia, viral infection, COVID-19 pneumonia	NLR ≥3-7 for bacterial infection NLR ≥10-11 for bacteremia, sepsis NLR ≥7-11 for bacter, pneumonia NLR ≥3-7 for mild COVID-19 NLR ≥7-11 for severe COVID pneumonia
Sepsis and septic shock, SIRS, critical illness	Sepsis NLR ≥7-17, IQR 3-23 Septic shock NLR ≥11-17 In neutropenia NLR >0.7-0.5-0.2 SIRS non-infectious NLR ≥3-13
Acute coronary syndrome Acute myocardial infarction NSTEMI, STEMI, prognosis	NLR ≥3.34-40 (NSTEMI) NLR ≥3.8-5.5 (STEMI) NLR ≥5.7-6.3 (worse prognosis)
Acute stroke, ischemic, hemorrhagic	NLR ≥4.1-5.0 NLR ≥4.6-5.4 NLR ≥5.7-8.5 (worse prognosis)
Head and neck cancer, SCCM	NLR ≥2.6-3.0 NLR ≥4.0-5.0
Urology, renal cancer, prostate cancer	N 2.7-3.0 NLR ≥3.3-3.6
Esophageal and gastric cancers	NLR ≥2.6-4.0 NLR ≥4.0-5.0 NLR ≥5.0
Cancer of pancreas, pancreatic ductal adenocarcinoma	NLR ≥4.0 NLR ≥5.0 NLR ≥3.6-5.1
Liver cancer HCC, hepatic metastasis	NLR ≥4.0 NLR ≥5.0
Colorectal cancer	NLR ≥2.5-3.0 IQR 2.3-5.5 NLR ≥3.1-4.0 NLR ≥4.0-5.0
Gynecology, cancer of Ovarium, uterus cervix and vulva	NLR ≥2.6-3.33 NLR 2.5-3.9 NLR ≥2.3-5.26 NLR ≥2.6-4.0
Sarcoma, soft tissue sarcoma	NLR ≥5.0 NLR ≥4.0
Breast cancer	NLR ≥3.0-3.3 NLR ≥2.57-4.0
Skin cancer, malignant melanoma	NLR ≥4.0 NLR ≥5.0
Lung cancer, pulmonary non-small and adenocarcinoma	NLR ≥2.63-3.25 NLR ≥4.74-5.0
Orthopedics, poly trauma burn injury	NLR ≥3.3-4.0 NLR ≥4.0-5.0 NLR ≥3.6-4.0 NLR ≥3.5-5.5
Ulcer colitis, inflammatory bowel disease (IBD)	NLR ≥3.3 NLR ≥4.1-5.0

NLR PADA KEGANASAN ATAU KANKER

Inflamasi memiliki peran penting dalam patofisiologi sebagian besar keganasan padat dan keganasan hematopoietik (5). Inflamasi menginduksi tumorigenesis sebagai respons patologis kronis terhadap infeksi kronis, gangguan kekebalan tubuh, dan penuaan pada subjek yang memiliki kecenderungan.

Pada kajian yang dilakukan Zuharec R (2021), terdapat lebih dari 140 studi telah meneliti kegunaan klinis dari NLR untuk memprediksi hasil dalam berbagai kanker antara lain penanda inflamasi sistemik yang valid dan andal termasuk *Cancer-associated systemic inflammation* dan SIRS, parameter prognostik independen kelangsungan hidup



setelah pengobatan onkologis pada berbagai jenis kanker, memantau terapi onkologi terkait kemoterapi, radioterapi, pasien kanker dengan terapi paliatif yang tidak dapat dioperasi dan beberapa kegunaan lainnya pada kondisi kanker (3).

NLR, INFLAMASI DAN SEPSIS

Sistem hematologi memiliki peran menjadi organ utama yang terlibat dalam patogenesis sepsis. Semua sel darah diaktivasi selama infeksi sistemik dan sepsis, yang menyebabkan perubahan signifikan dalam jumlah, fungsi, ekspresi reseptor, dan sekresi berbagai molekul sinyal dan zat humoral. NLR telah dikenal sebagai penanda yang dapat diandalkan sebagai salah satu pemeriksaan untuk menunjang bakteremia dan sepsis (2).

NLR DAN PENYAKIT KARDIOVASKULAR

NLR telah terbukti memprediksi kejadian kardiovaskular dalam beberapa penelitian. Beberapa studi menemukan bahwa pada populasi sehat umum NLR >4,5 secara independen memprediksi penyakit jantung koroner (PJK) terkait kematian jangka panjang. Beberapa bukti telah menunjukkan bahwa NLR memiliki nilai prediktif untuk tingkat keparahan penyakit dan kematian pada sindrom koroner akut (ACS) terlepas dari prosedur revaskularisasi dan dapat didukung dengan hubungan lain dari faktor risiko klasik (6).

NLR DAN OPERASI

Nilai NLR pra operasi muncul sebagai prediktor independen untuk komplikasi pasca operasi, serta mortalitas pre-prosedural dan pasca-prosedural, terlepas dari jenis operasi (operasi jantung atau perut) (7).

PENUTUP

NLR sebagai bagian dari pemeriksaan hematologi memberikan nilai tambah untuk digunakan secara rutin di Unit Gawat Darurat, ICU, dalam kedokteran akut termasuk bedah, ortopedi, traumatologi, kardiologi, neurologi, psikiatri dan bahkan onkologi. Peningkatan nilai NLR menggambarkan kondisi gangguan sistem kekebalan tubuh yang disebabkan oleh inflamasi. Meskipun pada mulanya NLR dikenal selama pandemi dalam penanganan COVID-19, namun NLR sendiri banyak dimanfaatkan pada kondisi lain selain sepsis seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan pasca operasi karena keterkaitan NLR yang erat dengan inflamasi.

Bena Zaira

Referensi:

1. Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, Malatino L. Neutrophil to Lymphocyte Ratio: An Emerging Marker of the Relationships between the Immune System and Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022;23(7):3636.
2. Gürağaç A, Demirel Z. The neutrophil-to-lymphocyte ratio in clinical practice. *Can Urol Assoc J.* 2016;10(3-4):141.
3. Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratisl Lek Listy.* 2021;122(7):474-88.
4. Yanti HE, Soedewo FH, Wardhani P. Correlation of Neutrophils/Lymphocytes Ratio and C-Reactive Protein in Sepsis Patients. *J. Clinical Pathol. Med. Laboratory.* 2017 March; 23(2): 178-83
5. Hibino S, Kawazoe T, Kasahara H, et al. Inflammation-Induced Tumorigenesis and Metastasis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5421. Published 2021 May 21.
6. Corriere T, Di Marca S, Cataudella E, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio is a strong predictor of atherosclerotic carotid plaques in older adults. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2018;28(1):23-7.
7. Silberman S, Abu-Yunis U, Tauber R, et al. Neutrophil-Lymphocyte Ratio: Prognostic Impact in Heart Surgery. Early Outcomes and Late Survival. *Ann Thorac Surg.* 2018;105(2):581-6.

PENTINGNYA DIFERENSIASI DAN PENCEGAHAN KONTAMINASI KULTUR DARAH

PENDAHULUAN

Kultur darah telah lama dikenal sebagai pemeriksaan yang penting di dalam dunia kesehatan karena pemeriksaan ini menjadi standar untuk identifikasi terhadap infeksi aliran darah. Selain itu, saat ini World Health Organization (WHO) juga mendefinisikan kultur darah sebagai spesimen prioritas untuk pengawasan resistensi antibiotik. Namun, pada prakteknya kontaminasi diketahui ditemukan pada sekitar 50% dari kultur darah positif. Kontaminasi pada kultur darah memiliki potensi menyebabkan beban biaya yang semakin tinggi serta konsekuensi yang kurang baik bagi kesehatan pasien. Konsekuensi tersebut sangat beragam dan kompleks, yang pada umumnya berkaitan dengan paparan berlebihan terhadap antibiotik hingga periode masuk rumah sakit yang bertambah panjang. Bahkan, persebaran antibiotik yang tidak perlu ditemukan pada sekitar 40% hingga 50% kasus kontaminasi kultur darah, dan hal tersebut meningkatkan beban biaya sekitar 39%. Di samping itu, terdapat tantangan tersendiri dalam membedakan patogen sesungguhnya dengan kontaminan pada kultur darah, terutama pada pasien yang menggunakan kateter. Padahal, berdasarkan basis data prevalensi, tingkat kontaminasi pada kultur darah direkomendasikan untuk tidak melebihi 3% sebagai standar untuk mengimplementasikan prosedur kultur darah yang tepat. Maka dari itu, perlu untuk mengetahui faktor-faktor penting pre analitik dalam pemeriksaan kultur darah



serta upaya yang diperlukan untuk mengurangi tingkat kontaminasi kultur darah, sehingga memberikan hasil yang baik bagi pasien (1,2).

KONTAMINASI PADA KULTUR DARAH

Prevalensi dari kontaminasi kultur darah berkisar pada 0,6%-17% dari seluruh kultur yang dilakukan. Sumber potensial dari kontaminasi kultur darah sangat banyak dan bervariasi yang meliputi teknik pengambilan darah, disinfeksi yang kurang memadai pada area kulit, serta pengambilan darah melalui kateter vaskular. Selain itu, usia, komorbiditas, serta level triase pasien juga diketahui berasosiasi dengan terjadinya kontaminasi kultur darah (1,2).

Selama bertahun-tahun, telah dilakukan investigasi klinis untuk membantu memahami jenis-jenis mikroorganisme yang kemungkinan besar menjadi kontaminan di dalam kultur darah. Mikroorganisme tersebut meliputi sebagian besar spesies *Corynebacterium* dan genus terkait, *Bacillus spp.* selain *Bacillus anthracis*, *Micrococcus spp.*, serta *Cutibacterium acnes* dan spesies terkait. Apabila muncul pada kultur darah, bakteri-bakteri tersebut akan dianggap sebagai kontaminan. Namun hal tersebut tidak berlaku apabila bakteri-bakteri tersebut muncul pada lebih dari satu kultur darah yang dilakukan. Di samping itu, bakteri-bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, beta-hemolitik streptococci, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Enterobacteriaceae* yang lain, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, bakteri batang gram negatif anaerob (seperti *Bacteroides spp.* dan *Fusobacterium spp.*), dan spesies *Candida*, kecil kemungkinannya dalam merepresentasikan kejadian kontaminasi (1).

KONSEKUENSI KONTAMINASI KULTUR DARAH

Kontaminasi kultur darah dijumpai pada kultur darah positif hingga sebanyak 50% kultur. Meski nampak “umum” terjadi, namun kontaminasi kultur darah bukan tak menimbulkan konsekuensi apapun. Kontaminasi kultur darah menyebabkan didapatkannya hasil positif palsu yang kemudian berpotensi menimbulkan persepsian antibiotik yang tidak perlu dan meningkatkan paparan antibiotik pada pasien. Sebagai contoh, sebuah penelitian pada tahun 2007 menemukan bahwa 41% pasien dengan kultur darah terkontaminasi mendapatkan antibiotik intravena yang tidak perlu. Meski data mengenai beban akibat kontaminasi kultur darah secara spesifik masih terbatas, namun telah diketahui bahwa paparan antibiotik yang meningkat dapat menyebabkan berbagai efek samping seperti reaksi alergi, reaksi interaksi antar obat, dan tentunya munculnya resistensi antibiotik. Paparan antibiotik yang meningkat juga dapat menyebabkan terganggunya mikrobiota normal tubuh dan membuat seseorang menjadi lebih rentan mengalami infeksi *Clostridium difficile* (1).

Selain konsekuensi klinis, kontaminasi kultur darah juga memiliki konsekuensi terkait beban ekonomi. Studi restropektif pada tahun 2007-2008 menunjukkan bahwa pasien dengan kultur darah yang terkontaminasi membutuhkan waktu yang lebih panjang, yaitu sebanyak 5.4 hari, untuk berada di rumah sakit. Hal ini menyebabkan meningkatnya biaya rumah sakit hingga \$7.502 per pasien. Berdasarkan analisis multivariasi, rata-rata peningkatan total beban biaya tersebut adalah 12% (1).

DIFERENSIASI KONTAMINASI KULTUR DARAH

Untuk membantu membedakan antara kontaminasi dan bakteremia yang sesungguhnya, diperlukan volume serta set pengambilan darah yang adekuat untuk dilakukan kultur, dimana satu set kultur diartikan sebagai 2 botol sampel darah yang terdiri dari botol aerobik dan anaerobik. Sensitivitas kultur darah meningkat apabila kultur dilakukan pada lebih dari satu set sampel darah. Kontaminasi biasanya hanya terjadi pada salah satu botol saja, sementara botol dan set kultur yang lain akan merepresentasikan infeksi aliran darah yang sesungguhnya (3).

Pada setiap hasil kultur positif, tipe organisme yang diisolasi, waktu untuk positif, serta jumlah kultur yang positif harus dipertimbangkan untuk menentukan apakah isolat tersebut kontaminan ataukah patogen sesungguhnya, seperti yang tertera pada Tabel 1. Waktu untuk positif didefinisikan sebagai rentang waktu antara koleksi sampel dan pemeriksaan dengan hasil positif pada kultur bakteri. Waktu inkubasi di atas 5 hari diketahui meningkatkan kemungkinan kontaminan untuk tumbuh, sementara itu, waktu inkubasi selama 5 hari dianggap lebih efisien dan efektif dari segi biaya untuk mengidentifikasi patogen sesungguhnya (4).

PENCEGAHAN KONTAMINASI KULTUR DARAH

Hasil kultur positif palsu akibat adanya kontaminasi memiliki permasalahan yang signifikan pada praktek secara klinis sehingga perlu diidentifikasi untuk memastikan validitas dari diagnosis infeksi. Kontaminasi kultur darah pun perlu dicegah untuk bisa mendapatkan identifikasi yang tepat. Penggunaan alat otomatis, seperti inkubator otomatis memiliki potensi dalam mengurangi tingkat kontaminasi kultur darah. Melalui alat inkubasi otomatis, intervensi manusia pada proses kultur darah, seperti membuka dan menutup inkubator yang berpotensi menyebabkan kontaminasi dapat dikurangi. Selain itu, alat inkubasi otomatis dapat memberikan kontrol yang lebih baik di dalam inkubator, sehingga dapat menyediakan kondisi yang lebih stabil dan konsisten bagi bakteri patogen untuk tumbuh, dan sebaliknya meminimalkan pertumbuhan kontaminan. Namun, meski penggunaan alat otomatis memiliki potensi dalam mengurangi kontaminasi, namun masih diperlukan

Tabel 1. Metode diferensiasi kontaminan dan patogen pada hasil kultur positif (4).

Deteksi kontaminasi kultur darah	Patogen sesungguhnya	Kontaminan potensial
Jenis Organisme	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> dan <i>Enterobacteriaceae</i> lainnya, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> group and <i>Cryptococcus neoformans</i>	Coagulase-negative staphylococci, spesies <i>Corynebacterium</i> , Spesies <i>Bacillus</i> selain <i>B. anthracis</i> , <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Propionibacterium species</i> , <i>Micrococcus species</i> , viridians group streptococci, <i>Aerococcus sp</i> , <i>Diphtheroid sp</i> .
Waktu untuk positif	≤ 5 hari	>5 hari
Jumlah kultur positif	Jika jenis organisme yang sama tumbuh pada lebih dari satu set kultur	Jika jenis organisme yang berbeda tumbuh pada set kultur yang sama
Parameter klinis atau laboratorium	Hipotermia <36°C atau hipertermia >39°C <4.000/μl atau >20.000/μl, <i>immature-to-total</i> neutrophil ratio (IT)>0.2, atau hipotensi	Nomothermia, leukosit ≥4.000/μl atau ≤20.000/μl, IT ratio ≤0.2, atau tanpa hipotensi

tindakan pencegahan lain, terutama pada tahapan pre analitik (5).

Kontaminasi kultur darah dapat dicegah sejak pada tahapan pre analitik, antara lain dengan memperhatikan metode samplingnya. Pengambilan kultur darah lebih baik dilakukan melalui venipuncture daripada intravaskular kateter, sebab pengambilan melalui kateter intravaskular memiliki kemungkinan kontaminasi 2,69 kali lebih besar. Selain itu, pengambilan sampel darah pun harus memenuhi jumlah yang adekuat, yakni paling sedikit adalah dua botol dengan total sampel sebanyak 20 mL (1,2).

PENUTUP

Kultur darah merupakan pemeriksaan yang penting karena merupakan spesimen prioritas untuk pengawasan resistensi antibiotik. Maka dari itu, perlu dilakukan upaya dalam pelaksanaan pemeriksaan kultur darah untuk meminimalkan kontaminasi semenjak tahapan pre analitik, antara lain melalui teknik aseptis, pemilihan teknik pengambilan darah, dan jumlah sampel yang adekuat. Selain itu, diperlukan kemampuan untuk melakukan diferensiasi pada hasil kultur sehingga dapat dibedakan antara kontaminan dan patogen sesungguhnya. Penggunaan alat inkubasi otomatis pada kultur darah juga memiliki potensi untuk mengurangi tingkat kontaminasi, yaitu dengan memperkecil intervensi manusia pada proses kultur, serta meminimalkan pertumbuhan kontaminan sehingga tidak kesulitan dalam membedakan kontaminan dengan patogen sesungguhnya.

Laboratorium Klinik Prodia telah menggunakan alat inkubasi otomatis untuk pengerjaan kultur yang membantu meminimalkan intervensi manusia pada proses kultur darah. Kriteria sampel yang digunakan pun mengikuti standar pedoman dari CLSI yakni pengambilan sampel dilakukan minimal sebanyak 1 set (2 botol), sehingga bisa

mendapatkan volume yang representatif dan mengurangi kemungkinan kontaminasi.

Amadea Risanggita Kinanthi

Referensi:

- Doern GV, Carroll KC, Tenover JC, Bannister VL, Rupp ME, Weinstein MP, Sexton DJ. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019;33(1):e00009-19.
- Dargere S, Cormier H, Verdon R. Contaminants in Blood Cultures: importance, implications, interpretations, and preventions. *Clin. Microbiol. Infect.* 2018;24:964-9.
- Tenderenda A, Łysakowska M, Dargiewicz R, Gawron-Skarbek A. Blood Culture Contamination: A Single General Hospital Experience of 2-Year Retrospective Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022; 19(5):3009.
- Murni IK, Duke T, Daley AJ, Kinney S, Soenarto Y. True Pathogen or Contamination: Validation of Blood Cultures for the Diagnosis of Nosocomial Infections in a Developing Country. *J. Trop. Pediatr.* 2018;64(5):389-94.
- Ransom EM, Alipour Z, Wallace MA, Burnham CA. Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System. *J Clin Microbiol.* 2021;59(3):e02459-20.

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 2/2023

Redaksi Kehormatan

Drs. Andi Wijaya, Ph.D.
Prof. Dr. dr. FX Budhianto Suhadi

Penanggung Jawab

Dr. Trilis Yulianti, M.Kes.

Ketua Dewan Redaksi

Gianni Yosephine, S.Si., M.Farm

Anggota Dewan Redaksi

Siska Darmayanti, S.Si., M.Farm.
Bernadette Vania Lundina Arman S.Ked., M.A.
Matthew Justyn, S.Si.
Bena Zaira, S.Si.
Amadea Risanggita Kinanthi, S.Si

Alamat Redaksi

PT. Prodia Widyahusada, Tbk.
Jl. Kramat Raya 150, Jakarta 10430
Telepon: (021) 3144182 (Hunting)
Fax: (021) 3926675
e-mail: produk@prodia.co.id
website: www.prodia.co.id



Certificate Number : JKT 0403247
Certified to QMS

Maret 2023 - PR0006185