

Diagnosis Cepat Kandidemia Neonatus dengan Pemeriksaan Spesimen Darah Pulasan Giemsa

Ridhawati¹, Riva Ambardina Pradita², Mulyati¹, Robiatul Adawiyah^{1,3*}

ABSTRACT

Candidemia is one of the major problems in neonates with low birth weight (LBW). Neonatal candidemia has a high rate of morbidity and mortality. Early initiation of antifungal therapy could be decreasing the mortality, but this management often hampered due to late diagnosis. The gold standard for diagnosing candidemia is blood culture, but it takes a long time about 5 days. A rapid alternative method is needed to decrease candidemia morbidity and mortality. The method chosen in this study is Giemsa stain of blood smear which result could be read within one hour. The study was conducted in the Department of Parasitology, Faculty of Medicine Universitas Indonesia with a total blood samples of 170 from 2009-2012. Blood samples are divided in two, first is made thick blood smear than stain with giemsa, than read by microscope by 400× and 1000× magnification. The second is cultured on Sabouraud agar media and incubated in room temperature for ten days. Thirty four patients (20%) were positive for *Candida*, 28 (82.4%) positive samples with both giemsa staining and culture, while 6 (17,6%) positive culture samples but negative giemsa staining. The values of the sensitivity and specificity of the Giemsa stained blood smear examination were 82%, and 100%. This result shows that Giemsa staining has a good diagnostic value for detecting neonatal candidemia.

Key words: *Candida*, neonatal candidemia, Giemsa stain, blood culture

Kandidosis tidak hanya bersifat superfisialis tetapi dapat bersifat invasif yang berakibat fatal. Kandidosis invasif dapat mengenai organ dalam yang disebut kandidosis sistemik atau diseminasi ke aliran darah yaitu kandidemia.¹ Pemakaian antibiotika jangka panjang, penggunaan peralatan medis invasif seperti selang infus atau selang oro/nasogastrik serta usia kritis seperti neonatus merupakan faktor risiko penting kandidemia.^{2,3}

Kandidemia pada neonatus umumnya merupakan komplikasi dari kelahiran preterm yang selamat dalam 2 minggu pertama kehidupannya. Bayi dengan berat lahir rendah (BBLR) dan bayi berat lahir sangat rendah (BBLSR, <1.000 g) adalah risiko tinggi kandidemia. Kandidemia berperan

meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas pasien rumah sakit secara signifikan. Angka mortalitas kandidosis invasif sebesar 40-75% sedangkan kandidemia sebesar 25-38%.⁴ Downey *et al.*, melaporkan 10% BBLSR dan 12-15% bayi dengan *late-onset sepsis* yang dirawat di *neonatal intensive care unit* (NICU) mengalami kandidemia.⁵ Neonatus dengan kandidemia memiliki risiko mortalitas (20%) dan morbiditas seperti retinopati prematur, penyakit paru kronik, leukomalasia periventrikular dan perkembangan otak jangka panjang yang buruk.⁵ Inisiasi terapi antifungal dini terbukti menurunkan mortalitas kandidosis invasif. Namun tatalaksana tersebut sering terhambat karena lambatnya diagnosis. Berbeda dengan kandidosis superfisialis yang mempunyai gejala dan tanda khas, gambaran klinik kandidosis invasif tidak khas dan hasil pemeriksaan laboratorium rutin sering tidak spesifik sehingga diagnosis sulit ditegakkan. Dugaan kandidosis sistemik sering hanya didapatkan dari leukositosis dan neutropenia persisten, adanya faktor risiko atau pasien tetap demam meski telah diterapi antibiotik spektrum luas.⁶

* Penulis untuk korespondensi : Email : bundaadah@gmail.com

¹ Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

² Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

³ Program Studi Parasitologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

Kultur darah merupakan baku emas penegakan kandidemia dan kandidosis invasif tetapi memerlukan waktu lama yaitu tiga hingga lima hari. Pemeriksaan komparatif kultur darah masih sedikit jumlahnya.^{5,7} Berdasarkan hal itu dibutuhkan metoda alternatif yang dapat mendeteksi kandidemia lebih cepat sehingga morbiditas dan mortalitas dapat ditekan. Tujuan dari penelitian ini adalah mencari metode diagnostik yang bersifat cepat, sederhana, spesifik dan sensitif. Metode yang dipilih pada penelitian ini adalah pemeriksaan langsung dengan pulasan giemsa dari apusan darah pasien neonatus dan hasilnya dapat dibaca dalam waktu satu jam. Hasil pemeriksaan giemsa dibandingkan dengan hasil kultur darah sebagai baku emas. Proses pewarnaan yang mudah dan cepat menjadi pertimbangan dalam penelitian ini dan diharapkan penegakan kandidemia menjadi lebih cepat.

METODE

Penelitian ini merupakan uji diagnostik pemeriksaan langsung dengan pulasan giemsa yang dibandingkan dengan pemeriksaan kultur darah sebagai baku emas. Populasi penelitian adalah pasien neonatus dengan dugaan kandidemia yang sampel darahnya dikirim ke Laboratorium Mikologi

Departemen Parasitologi FKUI untuk kepentingan diagnosis, sebanyak 170 sampel. Mayoritas sampel berasal dari RS. Cipto Mangunkusumo Jakarta dalam kurun waktu 2009 hingga 2012. Sampel darah yang datang ke laboratorium dibuat sediaan apusan darah tebal kemudian dilanjutkan pewarnaan giemsa. Hasil pewarnaan dibaca secara mikroskopis dalam waktu 1 jam dengan pembesaran 400× dan 1000×.⁸ Hasil dinyatakan positif jika tampak elemen jamur sel ragi dan atau dengan pseudohifa. Pada pemeriksaan kultur, darah diinokulasikan pada empat tabung agar miring yang terdiri atas dua tabung agar *Sabouraud* tanpa antibiotik (SDA) dan dua agar *Sabouraud* plus antibiotik (SDA plus), kemudian diinkubasi pada suhu kamar. Kultur dinyatakan positif jika secara makroskopis tampak pertumbuhan koloni *Candida* berupa koloni seperti ragi (*yeast like colony*) dan dikonfirmasi secara mikroskopis dengan adanya sel ragi dan atau dengan pseudohifa. Biakan dinyatakan negatif jika dalam 10 hari tidak ada pertumbuhan.

HASIL

Telah dilakukan analisis deskriptif untuk melihat profil demografik dari 170 sampel penelitian yang meliputi jenis kelamin dan usia (tabel 1).

Tabel 1. Profil demografik neonates dengan dugaan kandidemia (n=170)

Profil demografik	Jumlah (n)	%	Keterangan
Jenis Kelamin			
Laki-laki	78	45,6	
Perempuan	93	54,4	
Kelompok Usia			
≤ 10 hari	27	15,8	Mean= 17,5 hari; SD= 7,3 hari;
> 10 hari	144	84,2	

Sebanyak 170 sampel darah yang dikultur pada SDA, didapatkan 34 sampel positif tumbuh jamur *Candida*. Berdasarkan hal tersebut didapatkan prevalensi kandidemia pada neonatus sebesar 20%. (Tabel 2)

Tabel 2. Hasil pertumbuhan jamur *Candida* pada kultur darah

Hasil Kultur Darah	n	Persentase
Positif	34	20%
Negatif	136	80%
Total	170	100%

Tabel 3. adalah hasil uji diagnostik pulasan Giemsa dari apusan darah dibandingkan dengan kultur darah.

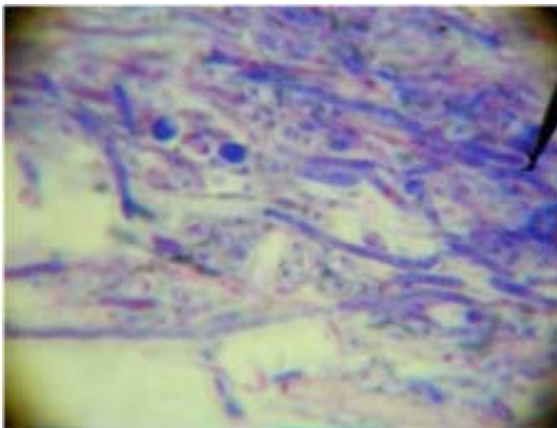
Tabel 3. Uji diagnostik pulasan Giemsa pada apusan darah dan kultur darah

Pulasan Giemsa	Kultur darah		Jumlah
	positif	negatif	
Positif	28 (82,4%)	0 (0%)	28 (16,5%)
Negatif	6 (17,6%)	136 (95,8%)	142 (83,5%)
Jumlah	34	136 (80,0%)	170 (100%)

Tabel 3 menunjukkan bahwa 28 dari 34 (20%) sampel yang positif kultur *Candida* juga positif pada giemsa. Hal ini ditandai dengan tampaknya elemen jamur *Candida* berupa sel ragi dan pseudohifa.



Gambar 1. Kultur darah positif, tampak koloni *Candida* pada medium SDA



Gambar 2. Apusan darah positif *Candida* dengan pulasan giemsa, tampak sel ragi dan pseudohifa berwarna biru keunguan.

PEMBAHASAN

Sebanyak 170 neonatus didapatkan 34 neonatus dengan *Candida* positif (20%). Hasil tersebut sesuai dengan Hegazi *et al.* yang mendapatkan prevalensi 19%.⁹ Hasil tersebut berbeda dengan Rozaliyani yang mendapatkan 62,96%.¹⁰ Hal tersebut mungkin disebabkan perbedaan sampel, sampel dalam penelitian ini lebih fokus pada neonatus dengan dugaan sepsis/berpotensi sepsis dengan berbagai faktor risiko penyertanya seperti prematuritas (38,5%), BBLR (44,2%), penggunaan selang infus dan antibiotik sistemik (100%). Pada penelitian ini tidak diketahui data faktor risiko neonatus dengan dugaan kandidemia. Hal tersebut dapat mempengaruhi jumlah hasil pemeriksaan kultur darah neonatus dugaan kandidemia yang memberikan hasil positif yakni semakin banyak faktor risiko yang dimiliki responden, semakin besar kemungkinan responden menderita kandidemia.

Kelompok usia neonatus dengan dugaan kandidemia yang dirawat di ruang intensif mayoritas berusia lebih dari 10 hari (84,2%) selanjutnya kelompok usia 1-10 hari (27%) dengan rerata usia 17,5 hari. Insiden tertinggi *bloodstream infection* adalah pada 10 hari pertama kehidupan, selanjutnya pada usia 11-28 hari.¹¹ Kejadian infeksi menurun setelah 30 hari kehidupan. Indrawan dkk.. mendapatkan bahwa insiden meningkat pada risiko neonatus dengan gizi kurang, pasca bedah, penggunaan alat medis invasif dan pemakaian antibiotik > 15 hari.¹² Tingginya kejadian infeksi di 10 hari pertama kehidupan disebabkan beberapa faktor, di antaranya usia post natal neonatus, penggunaan selang infus, penggunaan antibiotik jangka panjang, kondisi immunosupresi lainnya,³ infeksi tambahan seperti pneumonia, prosedur operasi, ventilasi mekanik, fraktur, kegagalan organ, dan nutrisi parenteral.¹³ Namun dalam penelitian ini tidak didapatkan data faktor risiko tersebut.

Pada penelitian ini didapatkan sensitivitas 82,0%, spesifisitas 100 %, nilai duga positif 100 %, nilai duga negatif 72,7% dan akurasi 51,85 %. Hasil tersebut berbeda dengan Okamoto et al.,¹⁴ yang mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas Giemsa pada kandidosis eritematosa sebesar 51% dan 91%, nilai duga positif dan negatif sebesar 95% dan 36%, serta akurasi sebesar 60%. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena asal sampel yang berbeda, kami menggunakan darah, sedangkan Okamoto dkk., menggunakan swab lesi mukosa mulut. Selain itu subyek penelitiannya juga berbeda, kami menggunakan neonatus dengan dugaan kandidosis sistemik sedangkan Okamoto dkk. menggunakan pasien kandidosis eritematosa.¹⁴

Penemuan elemen jamur pada pemeriksaan apusan darah pasien dengan dugaan kandidemia sangat jarang ditemukan, karena sangat bergantung pada keahlian individu dalam mendapatkan elemen jamur dan beban jamur minimal 5×10^5 CFU/mL.^{7,15} Namun pemeriksaan ini perlu dilakukan sambil menunggu hasil kultur yang lebih lama.¹⁶

SIMPULAN

Prevalensi kandidemia dari specimen darah neonatus yang dikirim ke Laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia tahun 2009-2012 dengan dugaan kandidosis sistemik sebesar 20%. Nilai sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan *Candida* menggunakan pulasan Giemsa pada apusan darah dibandingkan dengan kultur darah yaitu sebesar 82% dan 100%. Perlu dilakukan uji lanjutan dengan jumlah sampel yang dapat memenuhi kebutuhan penelitian serta ditambahkan ke dalam variabel penelitian yakni gejala klinis dan faktor risiko.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zarrin M and Mohmoudabadi AZ. Invasive candidiasis. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2009; 2(1): 1-6.
2. Poikonen E. Epidemiology of Candidemia in Finland. *National Institute for Health and Welfare*. 2011; 54: 19-36.
3. Arora D, Anand N, Goya G, Kumar R, Gupta P, Sarita. Prevalence and risk factors of candida in

cases of candidemia in a tertiary care hospital. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011; 3(1): 157-9.

4. Zaragoza R and Peman J. The diagnostic and therapeutic approach to fungal infections in critical care settings. *Advances in sepsis*. 2008;6(3):90.
5. Downey LC, Smith PB, Daniel K, Benjamin, Wolkowicz MC. Recent advances in the detection of neonatal candidiasis. *Curr Fungal Infect Rep*. 2010;4:17-22
6. Alexander BD, Pfaller MA. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Clin Infect Dis*. 2006;43:S15-S27.
7. Branda JA, Ferraro MJ, Kratz A. Sensitivity of peripheral blood smear review for the diagnosis of candida fungemia. *Archives of pathology and laboratory medicine [serial on the internet]*. 2007.
8. WHO. Staining with giemsa stains. In: WHO. *Basic malaria microscopy*. 2nd ed. Geneva: WHO Press; 2010. p.29-36.
9. Hegazi MA, Abdelkader AM, Zaki ME, El-Deek BS. Characteristics and risk factors of candidemia in pediatric intensive care unit of a tertiary care children's hospital in Egypt. *J Infect Dev Ctries* 2014;8:624-34.
10. Rozaliyani A. Kandidemia pada neonatus dan profil resistensi candida sp. terhadap derivat azol. [tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2004
11. Caggiano G, Lovero G, De Giglio O, Barbuti G, Montagna O, Laforgia N, et al. Candidemia in the Neonatal Intensive Care Unit: A Retrospective, Observational Survey and Analysis of Literature Data. *Biomed Res Inter*. 2017; 1-12. <https://doi.org/10.1155/2017/7901763>.
12. Indrawan IGDK, Pudjiadi AH, Latief A. Insidens kandidemia di *Paediatric Intensive Care Unit* Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo. *Sari Pediatri* 2016; 18(3): 182-6.
13. Kaufman D, Fairchild KD: Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very-low birthweight infants. *Clin Microbiol Rev*. 2004; 17(3): 638-680.
14. Okamoto MR, Kamo M, Yamachika S, Tsurumoto A, Imamura T, Yamamoto Y et al. Efficacy of Fungiflora Y staining for the diagnosis

- of oral erythematous candidiasis. 2013; 20(3): 220-5.doi.org/10.1111/j.1741-2358.2012.00668.x
15. Hirai Y, Asahata S, Ainoda Y, Fujita T, Miura H, Hizuka N. Candidemia diagnosed from peripheral blood smear: Case Report and Review of Literature 1954–2013 Ken Kikuchi. *Mycopathologia* (2015) 180:111–116 DOI 10.1007/s11046-015-9884-3.
16. Ansari IA, Eswari V, Prakash G, Bath S, Tania RP. Diagnosis of systemic candidiasis ob peripheral blood smear: a rare case report. *Res and Riev: J of Med Health Sci.* 2014; 3: 26-30.