

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(*Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*)**
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rustadi Sosrosuhardjo, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, FM. Judajana, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Noormartany, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrin, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, JB. Soeparyatmo, M. Yolanda Probahoosodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.
Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com

Akreditasi No. 66/DIKTI/KEP/2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Perbedaan Kolagen IV di Kerusakan Hati dan Infeksi Hepatitis C di Pasien Talasemia dengan Kelebihan Zat Besi (<i>Diferrence of Collagen IV in Liver Damage and Hepatitis C Infection in Iron Overload Thalassemia Patients</i>) Nuri Dyah Indrasari, Ina Susianti Timan, Pustika Amalia	1-8
Pemeriksaan Tingkat sdLDL Serum Sebagai Petanda Diagnostik Stenosis Koroner (<i>Serum sdLDL Level as A Diagnostic Marker of Coronary Stenosis</i>) Indranila K. Samsuria, Laily Adninta	9-15
Hubungan <i>Glycated</i> Albumin dengan Angka Banding Kolesterol LDL/HDL di Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Association of Glycated Albumin with LDL/HDL Cholesterol Ratio in Type 2 Diabetics</i>) Tiwik Eriskawati, Tahono, M.I. Diah. P	16-21
Deteksi <i>Clostridium Difficile</i> Toksigenik Menggunakan Uji Cepat Toksin dan <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i> (<i>Toxigenic Clostridium Difficile Detection Using Toxin Rapid Test and Real Time Polymerase Chain Reaction</i>) Ika Yasma Yanti, Dalima Ari Wahono Astrawinata	22-26
Kloning dan Overekspresi Protein P24-Gag HIV (<i>Cloning and Overexpression P24-Gag of HIV</i>) Efrida, Andani Eka Putra	27-33
Analisis Kadar Serum Feritin di Karsinoma Payudara (<i>Analysis of Feritin Levels in Carcinoma Mammae</i>) Sriwati Atjo, Uleng Bahrun, Hardjoeno	34-37
<i>Turnaround Time</i> Uji Cocok Serasi di Pelayanan Bank Darah (<i>Turnaround Time Cross Match in the Blood Bank</i>) Glent Nurtanio, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	38-41
Fc γ II (CD32) Monosit di Infeksi Dengue Primer dan Sekunder { <i>FcγRII (CD32) Monocytes in Primary and Secondary Dengue Infection</i> } Umi S. Intansari, Usi Sukorini, Shanti Ika Sari	42-47
Kesahihan Pemeriksaan <i>Complex Specific Cocktail Antigen</i> Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Metode Cepat <i>Immuno-chromatography</i> pada Cairan Serebrospinal Pasien Meningitis Tuberkulosis { <i>Validity of Rapid Immuno-chromatography Complex Specific Cocktail Antigen Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Using Cerebrospinal Fluid of Tuberculous Meningitis Patient</i> } Livia Noviani, Ida Parwati, Ganiem AR, Turbawati DK	48-54

Kenasaban Kadar 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) Serum dengan Derajat Defisit Neurologis pada Strok Iskemik { <i>Correlation of Serum 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) with Neurological Deficits in Ischemic Stroke</i> }	
Liza, Ida Parwati, Andi Basuki Prima Birawa, Sylvia Rachmayati	55–59
LDL Teroksidasi dan Kepadatan Mineral Tulang (<i>Oxidized LDL Cholesterol and Bone Mineral Density</i>)	
Sheila Febriana, Yurdiansyah, Siti Rafiah, Ruland DN Pakasi, Uleng Bahrun	60–64
Perbedaan Kadar <i>Prolylcarboxypeptidase</i> di Pasien Sindrom Koroner Akut dengan Pasien Angina Stabil (<i>The Difference of Prolylcarboxypeptidase Level in Acute Coronary Syndrom and Stable Angina Patient</i>)	
Maenaka Smaratungga, Rita C, Indrati AR, Martha JW	65–71
Analisis Feritin dan AST to Platelet Ratio Index sebagai Petanda Derajat Fibrosis Penyakit Hati Kronis (<i>Analysis Ferritin and AST to Platelet Ratio Index As A Marker Degree of Fibrosis Chronic Liver Disease</i>)	
Yulianti Yasin, Uleng Bahrun, Ibrahim Abdul Samad	72–76
Neopterin dan Peroksida Serum Sebagai Petanda Makrofag Teraktivasi pada Tuberkulosis Paru Aktif dan Individu Berkebahayaan Tinggi (<i>Serum Neopterin and Peroxide As Marker of Activated Macrophages on Active Pulmonary Tuberculosis and Individuals at High Risk</i>)	
I Nyoman Wandu, Ni Made Linawati, I Made Bagiada, IWP Sutirta Yasa, AAN. Subawa	77–81
Indeks Aterogenik Plasma di Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Atherogenic Index of Plasma in Type 2 Diabetes Mellitus</i>)	
Amarensi M Betaubun, Nurahmi, Uleng Bahrun, Ruland Pakasi	82–86
Nitrit Oksida dan Volume Edema Otak pada Strok Perdarahan dalam Otak dengan Polimorfisme G894T (<i>Nitrit Oxide and Cerebral Edema Volume in Intracerebral Hemorrhagic Strok with G894T Polymorphism</i>)	
Iskandar Zakaria, Arif Faisal, Sri Sutarni, Ahmad Hamim Sadewa, Imran	87–91
TELAAH PUSTAKA	
Fungsi dan Pemeriksaan Limfosit T $\gamma\delta$ (<i>Functions and Examination of $\gamma\delta T$ lymphocytes</i>)	
Yulia Nadar Indrasari, Jusak Nugraha	92–98
LAPORAN KASUS	
Mieloma Multipel Nonsecretory (<i>Nonsecretory Multiple Myeloma</i>)	
Maimun Zulhaidah Arthamin, Nyi R. Wahidah, Boy A. Sihite	99–103
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU.....	104

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol 22 No. 1 November 2015

Purwanto AP, AAG. Sudewa, Rismawati Yaswir, July Kumalawati, Sidarti Soehita, Ninik Sukartini,
Maimun Z. Arthamin, Rustadi Sosrosuhardjo, Tahono, Prihatini, Jusak Nugraha, Aryati,
Kusworini Handono, Endang Retnowati, Edy Widjajanto, FM. Judajana

DETEKSI *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* TOKSIGENIK MENGGUNAKAN UJI CEPAT TOKSIN DAN *REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION*

(*Toxigenic Clostridium Difficile* Detection Using Toxin Rapid Test and Real Time Polymerase Chain Reaction)

Ika Yasma Yanti, Dalima Ari Wahono Astrawinata

ABSTRACT

Toxigenic Clostridium difficile infection, causing a Pseudo Membrane Colitis (PMC) and *Clostridium Difficile* Associated Diarrhea (CDAD) has increased sharply. The largest risk factor is the use of antibiotics. The purpose of this study was to know how to determine the prevalence and characteristics of subjects with *Toxigenic Clostridium difficile* and to assess the ability of the toxin rapid test compared to real-time PCR. Ninety adult subjects with antibiotic therapy more than two (2) weeks were enrolled in this study. The results of toxin rapid test and real-time PCR were presented in a 2x2 table, statistical test used was Chi square. The prevalence of *Toxigenic Clostridium difficile* based on the toxin rapid test and by real-time PCR was 27.3% and 37.5%, respectively. There were significant differences between stool consistency and number of antibiotics used with the detection of *Toxigenic Clostridium difficile*. There was a relationship between the duration of antibiotic therapy with the detection of *Toxigenic Clostridium difficile* using real-time PCR ($p=0.010$, $RR=2.116$). The sensitivity, specificity, PPV, NPV, PLR and NLR rapid test against real-time PCR were 69.7%; 98.2%; 95.8%; 84.4%; 39.2 and 0.31, respectively. This study concluded that the prevalence of *Clostridium difficile* in RSCM was higher compared to that in Malaysia, Thailand and India; the subjects with antibiotic therapy for more than four (4) weeks had a double risk to have *Toxigenic Clostridium difficile* than subjects with antibiotic therapy for less than that time (4 weeks). Thus, in this study, toxin rapid test could be used as a tool to detect *Toxigenic Clostridium difficile*.

Key words: *Toxigenic clostridium difficile*, toxin rapid test, real-time PCR, sensitivity, specificity

ABSTRAK

Infeksi *Clostridium difficile* toksigenik meningkat tajam, hal tersebut menyebabkan *Pseudo Membrane Colitis* (PMC) dan *Clostridium Difficile* Associated Diarrhea (CDAD). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui jumlah pasien penyakit dan gambaran ciri subjek dengan *Clostridium difficile* toksigenik serta menilai kemampuan uji cepat toksin terhadap *real time* PCR. Subjek penelitian adalah 90 orang dewasa yang diobati antibiotik lebih dari dua (2) minggu. Hasil memeriksa pada penggunaan uji cepat dan *real time* PCR disajikan dalam tabel 2x2 dan diuji kemaknaannya dengan Chi Kuadrat. Jumlah pasien *Clostridium difficile* toksigenik berdasarkan uji cepat toksin adalah 27,3% dan *real time* PCR 37,5%. Perbedaan bermakna yang terdapat ialah konsistensi tinja dan jumlah antibiotik dengan terdeteksinya *Clostridium difficile* toksigenik. Hubungan lama pengobatan antibiotik dengan terdeteksinya kejadian *Clostridium difficile* toksigenik terdapat ketika menggunakan *real time* PCR ($p=0,010$, $kebahayaan\ relatif=2,116$). Kepekaan, kekhasan, nilai duga positif, nilai duga negatif, angka banding kemungkinan positif dan uji cepat angka banding kemungkinan negatif toksin terhadap *real time* PCR berturut-turut adalah 69,7%; 98,2%; 95,8%; 84,4%; 39,2 dan 0,31. Berdasarkan telitian ini dapat disimpulkan bahwa jumlah pasien *Clostridium difficile* di RSCM lebih tinggi dibandingkan di Malaysia, Thailand dan India. Subjek yang diobati dengan antibiotik lebih dari empat (4) minggu berkebahayaan terdeteksi *Clostridium difficile* toksigenik dua (2) kali lebih besar dibandingkan dengan subjek yang diobati antibiotik kurang dari empat (4) minggu. Uji cepat toksin dapat digunakan sebagai alat untuk deteksi kejadian *Clostridium difficile* toksigenik.

Kata kunci: *Clostridium difficile* toksigenik, uji cepat toksin, *real-time* PCR, kepekaan, kekhasan

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik bagi pasien sudah menjadi hal lazim. Penggunaan antibiotik ini bukan saja karena penyakit infeksi yang menjadi penyebab orang yang sakit dirawat, tetapi juga karena penyakit tersebut kerap didapatkan oleh mereka selama dirawat di rumah sakit. Antibiotik di satu sisi memang membantu mengatasi penghilangan penyebab infeksi, tetapi di sisi lain menimbulkan permasalahan baru terutama bila

antibiotik digunakan dalam jangka lama atau beberapa macam obat tersebut sekaligus digunakan.¹

Salah satu permasalahan yang timbul sebagai dampak pemakaian antibiotik di rumah sakit adalah pengidapan infeksi *Clostridium difficile* (*C.difficile*) oleh *C.difficile* toksigenik. Infeksi ini menimbulkan manifestasi klinis yang beragam, dari gejala ringan seperti diare ringan, hingga kolitis pseudomembran (*pseudomembran colitis*, PMC) dan megakolon.²

Penggunaan antibiotik spektrum luas yang cenderung semakin meningkat dan kurang terkendali digabungkan dengan pengawasan yang kurang serta peningkatan jumlah pasien yang berusia lanjut menghadapi petugas kesehatan kepada ancaman kejadian peningkatan infeksi *C.difficile* yang tidak disadarinya.³

Jumlah pasien *C.difficile* dewasa dengan diare yang berhubungan dengan pengobatan antibiotik di Thailand pada tahun 2003 adalah 18,64%.⁴ Berdasarkan penelitian pada tahun 2012 di Malaysia, dilaporkan sebanyak 13,7% sampel tinja dari pasien yang berwayat positif pengobatan antibiotik mengandung toksin *C.difficile*.⁵ Sedangkan di India pada tahun 1999, 15% dari kasus diare nosokomial disebabkan oleh infeksi *C.difficile*.⁶

Pengujian yang dijadikan rujukan untuk pemeriksaan *C.difficile* adalah kultur toksigenik. Pengujian ini memerlukan prasarana kultur sel maupun kultur anaerob dan tenaga ahli untuk mengidentifikasi dampak sitopatik.⁷⁻⁸ Deteksi toksin *C.difficile* dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) lebih cepat dan tidak mahal, tetapi tidak peka. Pilihan lain adalah uji cepat dengan asas *Immunochromatographic Test* (ICT). Pengujian ini sangat mudah, tidak memerlukan tenaga terlatih, hasil dapat diperoleh dalam waktu cepat dan mempunyai kepekaan tinggi (lebih dari 90%).⁹

Pemeriksaan lain adalah menggunakan teknik *Real Time Polymerase Chain Reaction* (*real time* PCR). *Real time* PCR adalah cara memeriksa yang memiliki kepekaan dan kekhasan tinggi serta hasil yang relatif cepat. Saat ini telah tersedia pemeriksaan *real time* PCR untuk *C. difficile* seperti *Simplexa™ C.difficile Universal Direct* yang dapat mendeteksi gen toksin B *C.difficile*. Loeffelholz dkk¹⁰ membandingkan *Simplexa™ C.difficile Universal Direct* dengan metode rujukan dan diperoleh hasil kepekaan dan kekhasan *Simplexa™ C.difficile Universal Direct*. Terhadap metode rujukan tersebut berturut turut didapatkan hasil sebanyak 100% dan 97,5%.¹⁰ Pemeriksaan ini, karena harganya mahal, saat ini cara tersebut belum dapat dilakukan secara rutin.¹¹

Berdasarkan hal tersebut di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah pasien dan gambaran ciri spesimen dan subjek dengan *C.difficile* toksigenik dan yang diberi obat antibiotik serta menilai kemampuan uji cepat dibandingkan dengan *real time* PCR dalam mendeteksi *C.difficile* toksigenik pada subjek dengan pengobatan antibiotik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu penatalaksanaan pasien pengidap *C.difficile* toksigenik dengan lebih cepat dan tepat dan mencegah manifestasi klinis yang berat serta penambahan lama waktu rawat inap yang berdampak pada peningkatan biaya perawatannya.

METODE

Rancangan penelitian ini telah disetujui oleh Panitia Etik Penelitian FKUI-RSCM. Penelitian dilakukan di ruang rawat inap Gedung A RS Cipto Mangunkusumo dan Departemen Patologi Klinik FKUI-RSCM antara bulan Januari–Mei 2014. Rancangan penelitian adalah prospektif, dalam hal ini sebanyak 90 subjek dewasa yang dirawat inap dengan pengobatan antibiotik (kecuali yang diberi metronidazol dan atau vankomisin) lebih dari dua (2) minggu, mempunyai tinja konsistensi antara lembek–cair, serta bersedia mengikuti kegiatan pengkajian ini. Uji cepat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Immunoquick® C. difficile* GDH dan *Immunoquick® ToxA/B* dari Biosynex, sedangkan *real time* PCR menggunakan *Simplexa™ C. difficile Universal Direct* dari *Focus Diagnostics*.

Subjek penelitian diminta memberikan tinjanya saat buang air besar. Tinja yang terkumpul disimpan pada suhu -20°C sampai jumlah sampel terpenuhi. Bila jumlah sampel telah terpenuhi, maka tinja dicairkan pada suhu ruang (25°C) selama 30 menit–1 jam. Selanjutnya diperiksa secara uji cepat dan *real time* PCR sesuai petunjuk yang terdapat di lembaran masing-masing.

Data subjek penelitian dan hasil memeriksa dicatat dalam tabel induk. Umur subjek digolongkan dalam golongan menurut umur <60 tahun dan ≥60 tahun. Jenis antibiotik digolongkan dalam kebahayaan tinggi dan rendah dan jumlah antibiotik dibagi dalam jumlah macam antibiotik yaitu <3 dan ≥3. Lama pengobatan antibiotik digolongkan menjadi <4 minggu dan ≥4 minggu, data yang diperoleh selanjutnya diolah secara deskriptif dan analitik menggunakan program *Statistical product and Service Solution* (SPSS) ver 20.

Data hasil memeriksa *C.difficile* toksigenik menggunakan uji cepat dan *real time* PCR disajikan dalam bentuk tabel 2x2. Hasil memeriksa *real time* PCR digunakan sebagai bakuan emas. Tabel ini selanjutnya digunakan untuk menghitung kepekaan, kekhasan, nilai duga positif dan nilai duga negatif, angka banding kemungkinan positif dan yang negatif uji cepat terhadap *real time* PCR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini berhasil dikumpulkan 90 sampel. Dua sampel tidak disertakan karena hasilnya tidak sah. Hasil uji cepat antigen 46 positif dan 42 negatif dan yang mengandung toksin 24 positif dan 64 negatif, sedangkan hasil *real time* PCR 33 positif dan 55 negatif.

Hasil deteksi *C.difficile* menggunakan uji cepat dan *real time* PCR berdasar ciri spesimen dan subjek ditampilkan di Tabel 1.

Tabel 1. Deteksi *C.difficile* berdasar ciri spesimen dan subjek penelitian

Ciri spesimen dan subjek	Jumlah keseluruhan (n=88)	Uji cepat antigen positif, n (%)\$	Uji cepat toksin positif, n (%) \$	Real time PCR positif, n (%) \$
Konsistensi tinja				
Cair	21	7 (33,3)	1 (4,8)	3 (14,3)
Lembek	67	39 (58,2)	23 (34,3)	30 (44,8)
Jenis kelamin				
Laki laki	45	22 (48,9)	12 (26,7)	15 (33,3)
Perempuan	43	24 (55,8)	12 (27,9)	18 (41,9)
Umur (tahun)				
≥60 tahun	18	10 (55,6)	2 (11,1)	4 (22,2)
<60 tahun	70	36 (51,4)	22 (31,4)	29 (41,4)
Lama pengobatan antibiotik				
≥4 minggu	15	9 (60,0)	7 (46,7)	10 (66,7)
<4 minggu	73	37 (50,7)	17 (23,3)	23 (31,5)
Jenis antibiotik				
Kebahayaan tinggi *	85	45 (52,9)	24 (28,2)	33 (38,8)
Kebahayaan rendah**	3	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)
Jumlah macam antibiotik				
≥3 antibiotik	38	24 (63,2)	14 (36,8)	19 (50,0)
<3 antibiotik	50	22 (44,0)	10 (20,0)	14 (28,0)

*Klindamisin, golongan sefalosporin, golongan kuinolon, ampisilin

**Antibiotik lain yang bukan tergolong dalam antibiotik berkebahayaan tinggi

\$ Persen dalam baris

Berdasar Tabel 1, dapat dihitung jumlah pasien *C.difficile* toksigenik berdasarkan uji cepat dan *real time* PCR, yaitu 24/88=27,3%; dan 33/88=37,5%. Kedua hasil ini lebih tinggi dibandingkan hasil yang diperoleh di Malaysia tahun 2012 (13,7%)⁵, Thailand tahun 2003 (18,64%)⁴ dan India tahun 1999 (15%)⁶. Hal ini kemungkinan karena pemilihan subjek yang lebih ketat pada penelitian ini, yaitu yang bersangkutan telah mendapat pengobatan antibiotik lebih dari dua (2) minggu.

Satu dari 21 sampel yang cair (4,8%) dan 23 dari 67 yang lembek (34,3%) memberikan hasil positif menggunakan uji cepat toksin. Tiga dari 21 sampel yang cair (14,3%) dan 30 dari 67 yang lembek (44,8%), memberi hasil positif menggunakan *real time* PCR. Hal ini kemungkinan karena sampel berbentuk cair akibat dampak pengenceran, menyebabkan jumlah bakteri atau toksin berada di bawah batas deteksi *real time* PCR maupun uji cepat, sehingga hasil pemeriksaan menjadi negatif.

Pada penelitian ini, hasil uji positif *C.difficile* toksigenik antara laki laki dan perempuan tidak jauh berbeda. Berdasarkan uji cepat 12 dari 45 orang laki laki (26,7%) dan 12 dari 43 perempuan (27,9%) positif *C.difficile* toksigenik. Berdasarkan *real time* PCR. Lima belas dari 45 laki laki (33,3%) dan 18 dari 43 perempuan (41,9%) positif *C.difficile* toksigenik. Hal ini sesuai dengan telitian Dubberke dkk¹² yang

menyimpulkan bahwa jenis kelamin bukan merupakan faktor kebahayaan bermakna untuk infeksi *C.difficile* toksigenik.¹²

Dua dari 18 (11,1) subjek berumur ≥60 tahun dan 22 dari 70 yang berumur <60 tahun (31,4%) positif akibat *C.difficile* toksigenik dengan uji cepat. Berdasarkan *real time* PCR, 4 dari 18 subjek yang berumur ≥60 tahun (22,2%) dan 29 dari 70 yang <60 tahun (41,4%) menunjukkan hasil positif. Pada penelitian ini tidak terlihat ada peningkatan kebahayaan infeksi pada usia ≥60 tahun. Hasil ini berbeda dengan telitian McDonald dkk¹³ dan Loo dkk¹⁴ yang menyatakan bahwa umur berhubungan erat dengan peningkatan kebahayaan infeksi *C.difficile* terutama mereka yang berumur ≥60 tahun. Hal ini kemungkinan disebabkan sebaran umur subjek tidak merata, yaitu 70 dari 88 orang berumur <60 tahun (79,5%) dan 18 dari 88 mereka yang berumur ≥60 tahun (20,5%).

Peningkatan kebahayaan infeksi pada usia tua dihubungkan dengan penurunan respons imun terhadap infeksi¹⁵, baik imunitas bawaan maupun adaptif, yaitu gangguan fungsi makrofag dan limfosit B.¹⁶ Hal ini senada dengan yang dikemukakan Kyne dkk¹⁷ bahwa kadar IgG terhadap toksin A di serum karier tidak bergejala lebih tinggi dibandingkan dengan subjek yang terinfeksi *C.difficile* toksigenik.^{17,18}

Delapan puluh lima dari 88 subjek penelitian (96,6%) mendapat obat antibiotik berkebahayaan

tinggi untuk infeksi *C.difficile* toksigenik terjadi, yaitu: ampicilin, golongan sefalosporin dan kuinolon klindamisin. Tiga puluh tiga dari 85 subjek (38,8%) diberi obat antibiotik mendapatkan bahaya tinggi positif *C.difficile* toksigenik dengan *real time* PCR. Bila diperiksa dengan uji cepat, 24 dari 85 subjek (28,2%) mendapatkan positif *C.difficile* toksigenik. Tiga subjek yang diberi obat antibiotik berkebahayaan rendah, terkait *C.difficile* toksigenik dan diperiksa menggunakan uji cepat maupun *real time* PCR tidak terdeteksi. Dial dkk¹⁹ dan Pepin dkk¹⁵ menyatakan jenis dan jumlah antibiotik berpengaruh terhadap kejadian infeksi *C.difficile*.^{15, 19}

Empat belas dari 38 subjek (36,8%) yang diobati ≥ 3 macam antibiotik dan 10 dari 50 orang (20,0%) yang pemberiannya kurang dari jumlah tersebut dan diperiksa menggunakan uji cepat terdeteksi *C.difficile* positif toksigenik. Bila menggunakan *real time* PCR, 19 dari 38 subjek yang diobati ≥ 3 macam antibiotik (50,0%) dan 14 dari 50 orang yang pemberiannya < 3 macam antibiotik (28,0%) menunjukkan hasil positif. Hasil ini sesuai dengan penelitian Dial dkk¹⁹ bahwa infeksi *C.difficile* dipengaruhi oleh jumlah maupun jenis antibiotik yang digunakan sebagai pengobatan. Semakin banyak macam antibiotik yang diberikan, gangguan keseimbangan flora normal akan semakin nyata, sehingga kemungkinan terinfeksi *C.difficile* lebih besar dibandingkan dengan pengobatan tunggal.^{15, 19}

Hasil deteksi *C.difficile* toksigenik berdasarkan lama pengobatan antibiotik menggunakan *real time* PCR ditampilkan di Tabel 2

Tujuh dari 15 subjek yang diobati antibiotik selama ≥ 4 minggu (46,7%) dan 17 dari 73 yang diberi obat yang sama < 4 minggu positif mengalami *C.difficile* toksigenik (23,3%). Yang bersangkutan diperiksa menggunakan uji cepat. Berdasar *real time* PCR, 10 dari 15 subjek yang diobati antibiotik selama ≥ 4 minggu (66,7%) dan 23 dari 73 (31,5%) mereka yang diberi antibiotik < 4 minggu ditemukan positif terdapat *C.difficile* toksigenik. Bila dihitung dengan Chi Kuadrat, terdapat hubungan antara lama pengobatan antibiotik dengan terdeteksinya *C.difficile* toksigenik menggunakan *real time* PCR ($p=0,010$; RR=2,116). Hal ini berarti subjek yang diobati antibiotik selama ≥ 4

minggu memiliki bahaya dua (2) kali lebih besar untuk terdeteksi *C.difficile* toksigenik dibandingkan mereka yang diobati antibiotik < 4 minggu. Stevens dkk²⁰ dalam penelitian kasus pengendalian retrospektif tertentu menyatakan bahwa subjek dengan median lama pengobatan > 18 hari memiliki angka banding bahaya dua kali lebih besar dibandingkan kelompok pembandingnya.²⁰ Pepin dkk¹⁵ menyatakan hal serupa yaitu terdapat peningkatan angka banding bahaya di subjek yang diobati antibiotik selama ≥ 7 hari dibandingkan dengan yang kurang dari itu untuk jenis obat yang sama.¹⁵

Hasil deteksi *C.difficile* menggunakan uji cepat untuk toksin dibandingkan dengan metode *real time* PCR ditampilkan di Tabel 3.

Deteksi *C.difficile* toksigenik menggunakan uji cepat dibandingkan dengan metode *real time* PCR diperoleh nilai kepekaan 69,7%, kekhasan 98,2%, nilai duga positif 95,8% dan yang negatif 84,4%, angka banding kemungkinan positif 39,2 serta yang negatif 0,31. Alat tertentu dikatakan memiliki nilai diagnostik baik bila nilai angka banding kemungkinan positif lebih besar daripada 10 sedangkan angka banding kemungkinan negatif mendekati 0,1.²¹⁻²²

Uji cepat memiliki nilai diagnostik yang baik karena memiliki kekhususan yang tinggi meskipun kepekaannya sedang. Uji dengan kekhususan yang tinggi baik digunakan untuk kepentingan diagnosis, artinya bila hasilnya positif, maka kemungkinan besar subjek benar-benar sakit. Bila hasil mengujinya negatif harus dikukuhkan dengan pemeriksaan yang lebih peka dan khas seperti *real time* PCR.

Tabel 3. Hasil deteksi *C.difficile* menggunakan uji cepat untuk toksin dibandingkan dengan metode *real time* PCR

Uji cepat untuk toksin	Real time PCR		Jumlah keseluruhan
	Positif	Negatif	
Positif	23	1	24
Negatif	10	54	64
Jumlah keseluruhan	33	55	88

Tabel 2. Deteksi *C.difficile* toksigenik berdasarkan lama pengobatan antibiotik menggunakan pemeriksaan *real time* PCR

Lama pengobatan	<i>C.difficile</i> toksigenik		Jumlah keseluruhan	p	Bahaya relatif (selang kepercayaan 95%)
	Positif	Negatif			
≥ 4 minggu	10	5	15	0,010	2,116 (1,293–3,462)
< 4 minggu	23	50	73		
Jumlah keseluruhan	33	55	88		

SIMPULAN DAN SARAN

Jumlah pasien *C.difficile* toksigenik di pengidap yang diobati antibiotik di RSCM berdasarkan uji cepat untuk toksin dan *real time* PCR lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah pengidap di Malaysia, Thailand dan India. Perbedaan bermakna terdapat antara konsistensi tinja, lama pengobatan antibiotik dan jumlah obat tersebut dengan terdeteksinya *C.difficile* toksigenik yang menggunakan *real time* PCR. Antara lama pengobatan antibiotik dan terdeteksinya *C.difficile* toksigenik yang menggunakan *real time* PCR ($p=0,010$, bahaya relatif: 2,116). Kepekaan uji cepat untuk toksin dengan penggunaan *real time* PCR dalam mendeteksi *C.difficile* toksigenik terdapat hubungan, yaitu jika hasilnya sebesar 69,7%; kekhasan 98,2%; nilai duga positif 95,8%, nilai duga negatif 84,4%, angka banding kemungkinan positif 39,2 dan angka banding kemungkinan negatif 0,31.

Para peneliti ini menganggap, bahwa perlu dilakukan penelitian sejenis untuk mengetahui hubungan ciri subjek dengan mencari terdeteksinya *C.difficile* toksigenik dengan menggunakan sampel yang lebih besar, agar sebarannya di setiap kelompok tidak jauh berbeda, sehingga dapat dianalisis dengan baik. Uji cepat untuk toksin dapat digunakan sebagai alat mendiagnosis guna mendeteksi *C.difficile* toksigenik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Holloway KA. Promoting the Rational Use of Antibiotics. New Delhi, WHO South East Asia Region. 2011; 15: 122-8.
2. Kyne L, Hamel MB, Polavaram R, Kelly CP. Health Care Costs and Mortality Associated with Nosocomial Diarrhea Due to *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 346-53.
3. Collins DA, Hawkey PM, Riley TV. Epidemiology of *Clostridium difficile* Infection in Asia. *Aricjournal*. 2013; 2 (21): 1-9.
4. Wongwanich S, Rugdeekha S, Pongpech P, Dhiraputra C. Detection of *Clostridium difficile* toxin A and B Genes from Stool Samples of Thai Diarrheal Patients by Polymerase Chain Reaction Technique. *J Med Assoc Thai*. 2003; 86 (10): 970-5.
5. Hassan SA, Othman N, Idris FM, Rahman ZA, Maning N, Rahman RA, *et al*. Prevalence of *Clostridium difficile* Toxin in Diarrhea Stool Samples of Patients from a Tertiary Hospital in North Eastern Peninsular Malaysia. *Med J Malaysia*. 2012; 67 (4): 402-5.
6. Dhawan B, Chaudhry R, Sharma N. Incidence of *Clostridium difficile* Infection: a Prospective Study in an Indian Hospital. *J Hosp Infect*. 1999; 43 (29): 275-80.
7. Planche T, Wilcox M. Reference assays for *Clostridium difficile* infection: one or two gold standards? *J Clin Pathol*. 2011; 64 (10): 1-5.
8. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* Infection: New Developments in Epidemiology and Pathogenesis. *Nature Rev Microbiol* 2009; 7: 526-36.
9. Carroll KC, Bartlett JG. Biology of *Clostridium difficile*: Implications for Epidemiology and Diagnosis. *Annu Rev Microbiol*. 2011; 65: 501-21.
10. Loeffelholz M, Murphy A, Frank L, Bufton K. Evaluation of the simplexa *Clostridium difficile* toxin real time PCR assay. 29th Clinical Virology Symposium 2013; 60-4
11. Simplexa™ *C. difficile* Universal Direct. Focus Diagnostics. California, Cypress, 2012; 1-12.
12. Dubberke ER, Reske KA, Yan Y, Olsen MA, McDonald LC, Fraser VJ. *Clostridium difficile* associated disease in a setting of endemicity: identification of novel risk factors. *Clin Infect Dis*. 2007; 45: 1543-9.
13. McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US shorty-stay hospitals 1996-2003. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12: 409-25.
14. Loo VG, Bourgault AM, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization *N Eng J Med*. 2011; 365 (18): 1693-703.
15. Pepin J, Saheb N, Coulombe M-A, Alary M-E, Corriveau M-P, Authier S, *et al*. Emergence of Fluoroquinolones as the Predominant Risk Factor for *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea: A Cohort Study during an Epidemic in Quebec. *Clin Infect Dis*. 2005; 41: 1254-60.
16. Graham JE, Christian LM, Kiecolt-Glaser JK. Stress, Age and Immune Function: Toward a Lifespan Approach. *J. Behav. Med*. 2006; 29 (4): 389-400.
17. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A *N Eng J Med*. 2000; 342 (6): 390-7.
18. Kelly CP. Can we identify patients at high risk of recurrent *Clostridium difficile* infection? *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18: 21-7.
19. Dial S, Alrasadi K, Manoukian C, Huang A, Menzies D. Risk of *Clostridium difficile* diarrhea among hospital inpatients prescribed proton pump inhibitors: cohort and case-control studies. *CMAJ*. 2004; 171 (1): 33-8.
20. Stevens V, Dumyati G, Fine LS, Fisher SG, Wijngaarden Ev. Cumulative Antibiotic Exposures Over Time and the Risk of *Clostridium difficile* Infection. *Clin Infect Dis*. 2011; 53: 42-8.
21. Puspongoro HD, Wiryia IG, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnaen SZ. Uji Diagnostik. In: Sastroasmoro S, Ismail S, editors. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Jakarta, Sagung Seto, 2002; 166-85.
22. Dahlan MS. Analisis penelitian diagnostik. In: Novianto A, editor. *Penelitian diagnostik, dasar-dasar teoritis dan aplikasi dengan program SPSS dan Stata*. Jakarta, Salemba Medika, 2009; 20-30.