

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sifilis merupakan infeksi yang disebabkan oleh *Treponema pallidum subspecies pallidum*. Manifestasi penyakit ini beraneka ragam, dengan tahapan yang berbeda terjadi dari waktu ke waktu pada infeksi yang tidak diobati. Stadium sifilis terbagi menjadi stadium primer, sekunder, laten dan terseier. (Tuddenham & Zenilman, 2009) (Clement et al., 2014)

Data dari *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) tahun 2019 menyebutkan bahwa terdapat 129.813 kasus dari semua tahap sifilis yang dilaporkan, termasuk 38.992 kasus sifilis primer dan sekunder, yang merupakan stadium sifilis yang paling menular. (Dailey et al., 2018) WHO memperkirakan di dunia terdapat sekitar 7 juta kasus sifilis baru tahun 2020. Kemenkes RI mencatat sebanyak 76.923 kasus baru di tahun 2020, (Irawan et al., n.d.)

Penegakan diagnosis pada sifilis harus dilakukan pada pasien dengan tanda-tanda atau adanya gejala klinis infeksi sifilis. Selain itu, pasien tanpa gejala harus diskriminasi untuk sifilis jika pasien berada pada risiko tinggi terhadap penyakit tersebut atau untuk penularan penyakit ke orang lain. Uji serologi umumnya digunakan untuk penegakan diagnosis sifilis, tes ini pertama kali dijelaskan oleh Wasserman pada tahun 1906. (Clement et al., 2014b; Palmer et al., n.d.)

Dua kategori antibodi: non-treponemal dan treponemal. Non-treponemal dideteksi dengan tes *rapid plasma reagin* (RPR), tes *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL), dan tes *toluidine red unheated serum test* (TRUST). Sedangkan antibodi Treponemal dideteksi dengan tes immunofluorescence (FTA-ABS) atau aglutinasi hemaglutinasi *T. pallidum* (TPHA) atau aglutinasi *T. pallidum* (TP-PA). Secara tradisional, infeksi *T. pallidum* dapat didiagnosis dengan menggunakan tes skrining non-treponemal, dengan hasil reaktif dapat dikonfirmasi dengan tes serologi treponemal. (Sarbu & Benea V, 2014)

Pasien yang diduga menderita sifilis biasanya disaring dengan tes nontreponemal VDRL dan tes RPR. Tes ini menjadi positif dalam waktu 3 minggu setelah terinfeksi *T. pallidum*, sehingga tes nontreponemal dapat negatif di awal infeksi. Pasien dengan RPR atau tes VDRL positif harus menjalani tes treponema spesifik, seperti tes immunofluorescence (FTA-ABS) atau aglutinasi hemaglutinasi *T. pallidum* (TPHA) atau aglutinasi *T. pallidum* (TP-PA) untuk mengkonfirmasi infeksi *T. pallidum*. (Family et al., 2012) (Ho & Lukehart, 2011a) VDRL lebih baik daripada RPR dalam hal sensitivitas, Namun, pada spesifisitas terlihat RPR lebih unggul daripada VDRL. VDRL memiliki sensitivitas 44,4%-100%, spesifisitas 74,0%-100%, (Franken et al., 2015)

Tes diagnostik treponemal lain untuk infeksi sifilis adalah pemeriksaan CLIA untuk mendeteksi serum treponema pallidum yang spesifik terhadap antibody dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi sifilis, Studi lain di Turki, menunjukkan pemeriksaan CLIA pada pasien yang mendonor darah didapatkan positif 10 dari 5000 orang yang mendonor, Pemeriksaan VDRL pada objek yang sama tidak satupun yang positif. namun ketersediaan alat masih terbatas. (Rukiye Berkem, Ayşe Esra Karakoç, 2015),

Tes diagnostik molekuler *polymerase chain reaction* (PCR) tes ini dapat mendeteksi infeksi sifilis lebih awal sebelum terdeteksi dengan pemeriksaan serologi (Palmer et al., n.d., Clement et al., 2014b). PCR memberikan hasil dengan sensitivitas tinggi untuk mendeteksi DNA *treponema* dalam sampel lesi ulkus dari pasien dengan sifilis primer. DNA *T. pallidum* dapat dideteksi dalam sampel darah dari pasien dengan sifilis laten. Ini akan sangat berguna dalam situasi dimana pemeriksaan DarkField tidak tersedia dan tes serologi non-reaktif. PCR telah disetujui oleh FDA untuk diagnosis sifilis. (Ho & Lukehart, 2011b; Joshi & Deshpande, n.d.-a)

Untuk itu kami ingin mengetahui kesesuaian antara pemeriksaan serologi VDRL, CLIA dan PCR pada pasien sifilis.

B. Rumusan Masalah

Berapa prevalensi pasien yang terinfeksi *Treponema pallidum* di Makassar? dan apakah terdapat kesesuaian dari pemeriksaan serologi VDRL, CLIA dengan pemeriksaan PCR dalam mendiagnosis infeksi *Treponema pallidum*

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum
Melihat kesesuaian pemeriksaan VDRL terhadap PCR, CLIA terhadap PCR pada pasien yang terinfeksi *Treponema pallidum*
2. Tujuan Khusus
 - a. Melihat kesesuaian pemeriksaan VDRL, terhadap PCR pada pasien yang terinfeksi *Treponema pallidum*
 - b. Melihat kesesuaian pemeriksaan CLIA terhadap PCR pada pasien yang terinfeksi *Treponema pallidum*
 - c. Mengetahui proporsi PCR positif pada seluruh sampel

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang kesesuaian hasil pemeriksaan VDRL, CLIA dengan pemeriksaan molekuler PCR pada pasien yang terinfeksi *Treponema pallidum*
2. Bila ditemukan kesesuaian yang tinggi dapat dijadikan panduan diagnostik.
3. Memberi sumbangan ilmiah

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pendahuluan

Sifilis adalah suatu infeksi menular seksual yang ditularkan secara vertikal yang disebabkan oleh spirochaete *Treponema pallidum* subspesies *pallidum*. Sifilis dapat ditularkan melalui kontak seksual dengan lesi infeksi, dari ibu kepada janin melalui plasenta, transfusi produk darah, dan dapat pula tertular pada kulit yang bersentuhan dengan lesi infeksi. Stadium sifilis terbagi menjadi stadium primer, sekunder, laten dan terseier. (Da Silva Santos and Bastos D., 2017, Holmes et al., 2008)

Angka kejadian sifilis mencapai 90% dinegara-negara berkembang. Tingkat tertinggi sifilis primer dan sekunder saat ditemukan pada pria muda berusia 20-29 tahun. Sifilis primer dan sekunder lebih sering didapatkan pada orang berkulit hitam (tingkat infeksi 27,9 per 100 000) lebih dari 5 kali lipat lebih tinggi dari orang berkulit putih (5,4 per 100 000). (Clement et al., 2014b). WHO memperkirakan di dunia terdapat sekitar 7 juta kasus sifilis baru tahun 2020. Kemenkes RI mencatat sebanyak 76.923 kasus baru di tahun 2020, (Irawan et al., n.d.)

Diagnosis laboratorium dapat dilakukan dengan mikroskop lapangan gelap, serologi yaitu tes non-treponemal dan treponemal dan pemeriksaan PCR. Tes PCR sangat sensitif dan spesifik, dan dapat digunakan untuk mendeteksi *T. pallidum* terutama lesi pada sifilis primer. (Koek et al., 2006)

B. Epidemiologi

Data dari *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) tahun 2019 menyebutkan bahwa terdapat 129.813 kasus dari semua tahap sifilis yang dilaporkan, termasuk 38.992 kasus sifilis primer dan sekunder, yang merupakan stadium sifilis yang paling menular. Tingkat tertinggi sifilis primer dan sekunder ditemukan pada pria muda (berusia 20-29 tahun), namun terjadi perubahan sejak tahun 2006, mereka yang berusia 35-59 tahun yang paling sering terinfeksi. Sifilis primer dan sekunder lebih sering didapatkan pada orang berkulit hitam (tingkat infeksi 27,9 per 100.000) lebih dari 5 kali lipat lebih tinggi dari orang berkulit putih (5,4 per 100.000). (of STD Prevention, 2021)

WHO memperkirakan di dunia terdapat sekitar 7 juta kasus sifilis baru tahun 2020. Kemenkes RI mencatat sebanyak 76.923 kasus baru di tahun 2020, (Irawan et al., n.d.) Dari 19.999 kasus sifilis primer dan sekunder yang dilaporkan pada tahun 2014, 12.216 (61,1%) terdapat pada LSL. Di antara kasus berdasarkan jenis kelamin pasangan seksual, 82,9% terjadi pada LSL. (JM Zenilman ., 2019).

C. Etiologi

Treponema pallidum adalah organisme melingkar yang sangat motil dengan ujung meruncing 6 sampai 14 spiral. Dalam bentuk silinder, bakteri berukuran panjang sekitar 6 sampai 15 mm dan lebar 0,25 mm. (S. E. Cohen et al., 2013) yang pertama kali dikenal di Eropa pada akhir abad ke-15 yang menyebabkan sifilis dan teridentifikasi empat abad kemudian. (Brown and Frank, 2003, Ghanem et al., 2020)

D. Patogenesis

Treponema pallidum merupakan bakteri mikro-aerofilik berbentuk heliks, Terdiri dari silinder protoplasma sentral yang dibatasi oleh membran sitoplasma, lapisan peptidoglikan di atasnya, dan membran luar. Motilitas diberikan oleh dua hingga tiga flagela, yang berasal dari setiap ujung organisme. Membran luar *T. pallidum* tidak mengandung lipopolisakarida dan memiliki relatif sedikit protein transmembran yang terpapar permukaan beberapa mekanisme terjadinya sifilis (Peeling & Hook, 2006) Beberapa mekanisme terjadinya sifilis yaitu respon imun, infeksi memicu respons imun humoral dan seluler yang kuat pada awal perjalanan infeksi. *T. pallidum* mampu bertahan hidup di tubuh manusia selama beberapa dekade dan dapat terus menular atau menyebabkan kerusakan organ meskipun ada respons dari tubuh tersebut. Imunitas protektif pada pasien yang tidak diobati tampaknya memiliki setidaknya tingkat kekebalan terhadap infeksi berulang. Penelitian di mana sukarelawan tahanan di Amerika Serikat diinokulasi dengan *T. pallidum* juga menunjukkan bahwa laki-laki dengan sifilis yang tidak diobati tidak timbul chancre pada tempat inokulasi kulit, sedangkan mereka yang pernah diobati karena sifilis di masa lalu, serta mereka yang tidak terkena infeksi, akan mengalami infeksi.

Namun, antigen yang menimbulkan respons protektif ini, serta kontribusi relatif dari respons humoral dan seluler terhadap imunitas protektif, masih belum jelas. Respons yang dimediasi sel pada semua tahap penyakit, lesi sifilis ditandai dengan perubahan vaskulopati dan infiltrat seluler lokal yang terdiri dari limfosit, makrofag, dan sel plasma. Pentingnya respons imun seluler dalam membendung infeksi, serta dalam patogenesis, ditunjukkan oleh adanya granulomata, bersifat nekrotikans. Pada chancre primer, sel T CD4+ dan makrofag mendominasi, sedangkan pada lesi sifilis sekunder terdapat mayoritas sel CD8+. Hal ini mengejutkan, karena *T. pallidum* diyakini merupakan patogen ekstraseluler. Pada lesi sifilis primer dan sekunder, peningkatan ekspresi sitokin Th1 IL-2 dan IFN-gamma terlihat pada manusia. Selanjutnya respon humoral antibodi yang bersirkulasi terhadap *T. pallidum* dapat ditemukan segera setelah timbulnya sifilis primer dan mencapai titer yang tinggi ketika infeksi menyebar pada tahap sekunder. Dan imunitas bawaan *T. pallidum* tidak mengandung lipopolisakarida, namun lipoprotein yang terdapat di bawah membran luar sangat imunogenik dan telah terbukti mengaktifkan respons inflamasi bawaan melalui reseptor TLR4 protein. (Peeling & Hook, 2006)

E. Manifestasi Klinis

Treponema pallidum dalam beberapa hari setelah infeksi menyebar dan menginvasi jaringan, termasuk sistem saraf pusat (SSP), dan infeksi transplasenta janin pada wanita hamil. (Ghanem et al., 2020). Manifestasi klinis pada lesi awal berupa papula yang muncul di tempat kontak kelamin, 10–90 hari (rata-rata 3 minggu) setelah terpapar, setelah sekitar satu minggu akan mengalami ulserasi, menghasilkan chancre yang khas pada sifilis primer, berupa ulkus berbentuk bulat atau agak memanjang, lebar 1–2 cm, dengan pinggiran yang mengeras, pada laki-laki umumnya lokasi chancre di daerah genital yaitu di glans, sulkus koronal, dan kulup. Pada wanita di daerah labia, fourchette, uretra dan perineum. (Katz and Klausner, 2008). Pada sifilis sekunder dalam beberapa minggu atau bulan (atau lebih jarang, bersamaan dengan lesi primer) timbul penyakit sistemik yang bervariasi, ditandai dengan demam ringan, malaise, sakit tenggorokan, sakit kepala, adenopati, dan ruam kulit atau mukosa. Ruam muncul di hampir semua kasus sifilis sekunder, meskipun jenis ruam yang spesifik bervariasi, Makula eritematosa (roseola syphilitica) atau makulopapule biasanya muncul tersering secara simetris pada batang tubuh dan ekstremitas pada 40% hingga 70% kasus, papula atau makula bulat eritematosa berwarna tembaga, berbatas tegas muncul di telapak tangan dan telapak kaki di hampir 75% kasus. Manifestasi dermatologis lainnya termasuk alopecia, Kehilangan sepertiga lateral alis dapat terjadi. Delapan hingga 42 persen dari kasus terdapat lesi disertai pruritus. (Katz and Klausner, 2008) Sifilis laten menurut definisinya, orang yang memiliki bukti riwayat atau serologis mengidap sifilis yang belum pernah menerima pengobatan untuk penyakit ini dan tidak memiliki manifestasi klinis dikatakan mengidap sifilis laten, mungkin terdapat rentang waktu 1 hingga lebih dari 20 tahun sejak infeksi akut hingga timbulnya klinis pada tahap akhir atau tersier penyakit, lama setelah lesi sifilis dini terlupakan (Holmes, 2008). Sifilis laten terbagi menjadi laten awal, tahap tanpa gejala, dapat terjadi antara tahap primer dan sekunder dan juga dapat terjadi setelah resolusi lesi tahap sekunder. CDC menggunakan waktu 1 tahun cutoff point untuk durasi infeksi untuk membedakan laten awal dari sifilis laten akhir karena sebagian besar kekambuhan terjadi dalam 1 tahun sehingga, sifilis juga dapat menular pada fase laten awal. (Ghanem et al., 2020).

Studi di era pra-antibiotik menunjukkan bahwa sekitar sepertiga infeksi yang tidak diobati akan diikuti oleh komplikasi tersier, di mana neurosifilis merupakan komplikasi yang paling sering terjadi, namun penyakit gusi dan kardiovaskular juga merupakan hal yang umum terjadi. Di era antibiotik, semua penyakit kecuali neurosifilis adalah penyakit yang paling umum terjadi. (Holmes et al., 2008)

F. Pemeriksaan Penunjang

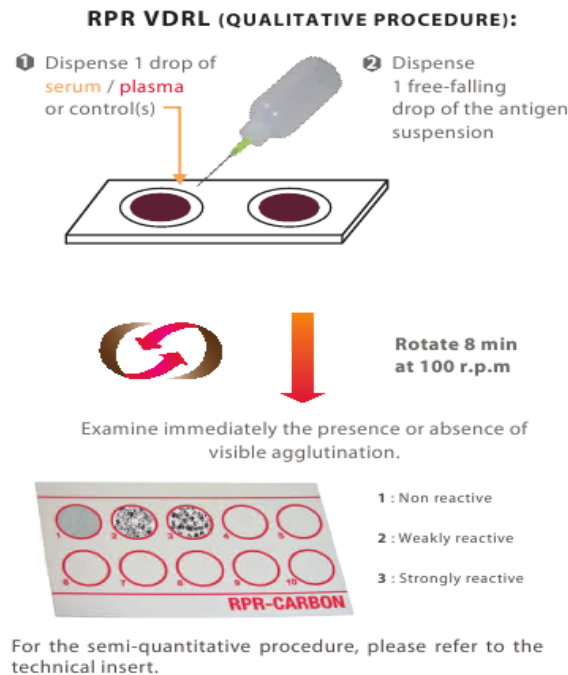
Uji Serologis Nontreponemal

Tes serologis dibagi menjadi tes nontreponemal dan tes treponemal untuk penegakan diagnosis, Tes nontreponemal (antigen lipoidal) biasanya digunakan sebagai tes skrining sifilis, sebagai tes diagnostik ketika pasien memiliki tanda atau gejala yang mengarah pada sifilis atau diketahui pernah melakukan kontak seksual, ketika menilai kemungkinan infeksi ulang, dan ketika memantau hasil pengobatan. (M. K. Cohen et al., 2024a)

Tes non treponemal termasuk *Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)* dan *the Rapid Plasma*

Reagin (RPR). Tes RPR dan VDRL masih menjadi metode skrining utama yang digunakan di laboratorium kesehatan masyarakat di Amerika Serikat, Tes nontreponemal (antigen lipoidal) lain yang disetujui FDA (misalnya, tes serum toluidine merah yang tidak dipanaskan [TRUST] dan tes reagin serum tidak dipanaskan [USR]) tersedia tetapi kurang umum digunakan di Amerika Serikat. (M. K. Cohen et al., 2024a)

VDRL adalah tes cardiolipidic dan nontreponemal serologi untuk deteksi cepat Sifilis, mulai menjadi reaktif 4-5 minggu setelah infeksi. Reagen terdiri dari suspensi partikel cardiolipin / lesitin / kolesterol. Antigen Cardiolipidic bereaksi dengan antibodi (reagen) yang terdapat dalam sampel dan membentuk titik hitam terlihat. (Elitech et al., 2009)



Gambar 1. VDRL kualitatif

Pemeriksaan ini memiliki sensitivitas 100% sekitar 12 minggu setelah terjadi infeksi dan kembali nonreaktif sekitar 25%-30% dari seluruh kasus selama fase sifilis laten. Hasilnya bisa kualitatif (reaktif / non-reaktif) atau kuantitatif. Hasil kuantitatif dilaporkan sebagai titer, yang mengacu pada pengenceran serum serial dengan faktor kelipatan 2 (1: 2, 1: 4, 1: 8, dan sebagainya). Titer yang dilaporkan merupakan hasil yang reaktif dengan pengeceran terkecil. (Katz et al., 2012). Pada orang yang diobati dengan sifilis primer, tes nontreponemal menjadi tidak reaktif dalam 60% pada 4 bulan, dan pada hampir semua pasien pada 12 bulan. Pada orang yang diobati dengan sifilis sekunder, tes biasanya menjadi tidak reaktif 12 hingga 24 bulan setelah pengobatan (JM Zenilman ., 2019)

Hasil negatif palsu terjadi selama infeksi awal atau sifilis laten dan akhir. Sebagian kecil kasus sifilis sekunder, titer antibodi yang sangat tinggi menghambat uji reaktivitas, memberikan hasil negatif palsu, disebut fenomena prozone. Untuk mengecualikan prozone, maka tes harus diulang dengan serum diencerkan. (Katz et al., 2012). Rata – rata sensitivitas VDRL selama sifilis primer, laten dan tersier adalah 78%, 95% dan 71%, selama sekunder adalah 100%. Rata – rata spesifitas adalah 98%. (Sato et al., 2010)

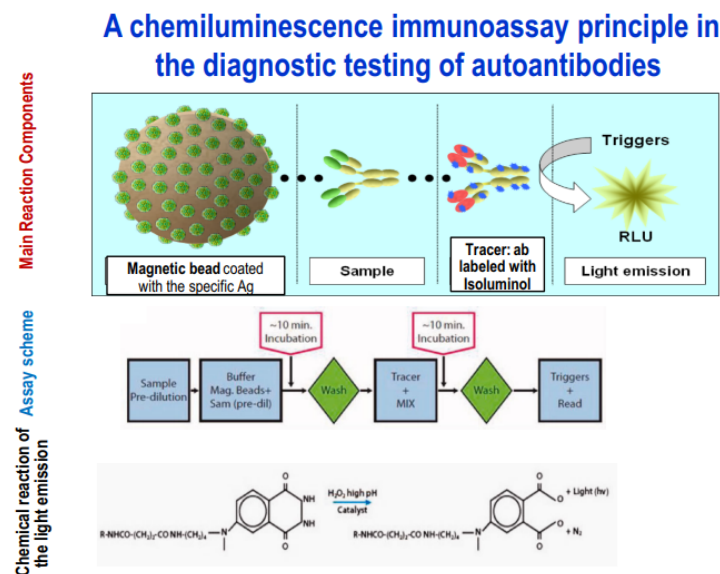
Uji Serologis Treponemal

Tes treponemal mendeteksi antibodi terhadap protein pallidum T. ¹⁷ *Treponema Pallidum Particle Agglutination Test* (TPPA), *Microhemagglutination Treponema Pallidum* (MHA-TP), *Flouresent Treponemal Antibody Absorption Assay* (FTA-ABS), *Treponema Pallidum Hemagglutination Assay* (TPHA), dan berbagai tes enzim treponemal. Tes-tes ini, yang menggunakan seluruh atau fragmen dari T. pallidum. Dibandingkan dengan tes nontreponemal, tes-tes ini lebih rumit untuk dilakukan, tetapi memiliki sensitivitas yang lebih tinggi pada stadium primer dan laten lanjut dan spesifisitas sedikit lebih tinggi. (JM Zenilman ., 2019)

Tes TPHA mendeteksi antibodi *T. pallidum* pada manusia dengan metode haemagglutination. Pada antibodi anti-*T. pallidum*, eritrosit peka (Uji Sel) mengakibatkan kekeruhan dan penggumpalan. Dengan tidak adanya antibodi, terjadi penggumpalan dan membentuk sebuah cincin yang sangat padat di bagian dasar. (Shields et al. 2017) Rata-rata sensitivitas TPHA selama sifilis primer, laten dan tersier adalah 76%, 97-100% dan 94%, selama sekunder adalah 100%. Rata-rata spesifitas adalah 99%. (Sato., 2010)

Chemiluminescence Immunoassays (CLIA)

Chemiluminescence Immunoassays (CLIA) adalah sebuah pemeriksaan tipe immunoassay. tes biokimia yang mengukur konsentrasi suatu substansi dalam cairan, biasanya berupa serum darah atau air seni dengan melihat reaksi antibodi terhadap antigennya. Ada beberapa tipe immunoassay: enzyme immunoassay (EIA), radioimmunoassay (RIA), magnetic labels (MIA), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). CLIA dapat secara otomatis dan cepat mendeteksi antibodi spesifik serum *T. pallidum* dengan sensitivitas dan spesifitas tinggi untuk diagnosis sifilis. (Cinquanta et al., 2017)



Gambar 2. CLIA

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) adalah teknik ilmiah dalam biologi molekuler yang prinsip kerjanya memperbanyak (amplification) DNA invitro secara enzimatik, menghasilkan ribuan sampai jutaan salinan dari DNA tertentu secara berurutan. (Joshi & Deshpande, n.d.-b)

Prinsip dasar PCR secara sederhana adalah merupakan reaksi berantai satu molekul DNA digunakan untuk menghasilkan dua salinan, kemudian empat, kemudian delapan dan seterusnya. Penggandaan terus menerus ini dicapai oleh protein spesifik yang dikenal sebagai polimerase, enzim yang mampu menjadikan string bersama bangunan DNA individu untuk membentuk untai molekul panjang. Untuk melakukan polimerase membutuhkan pasokan dari struktur DNA, yaitu nukleotida yang terdiri dari empat basa adenin (A), timin (T), sitosin (C) dan guanin (G). Dan juga membutuhkan fragmen kecil DNA, yang dikenal sebagai primer. (Joshi & Deshpande, n.d.-b)

Ada tiga langkah utama yang terlibat dalam teknik PCR: denaturasi, penguatan, dan penyuluhan. Pada langkah pertama, DNA didenaturasi pada suhu tinggi (90-97 derajat Celsius). Kedua, penguatan primer untuk template DNA. Pada langkah ketiga, ekstensi terjadi pada akhir penguatan primer untuk membuat dan melengkapi salinan untai DNA. (Deshpande., 2010). PCR memiliki sensitivitas tinggi untuk mendeteksi DNA *treponema* dalam sampel lesi ulkus dari pasien dengan sifilis primer. *T. pallidum* DNA dapat dideteksi dalam sampel darah dari pasien dengan sifilis laten. (Grange et al., 2012)