

**Diva Iole Humaira, Diagnosis Serologis Brucellosis dengan
Metode Brucella Coombs Gel Test
Diva Iole Humaira, Ety Apriliana
Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung**

Abstrak

Brucellosis merupakan suatu penyakit zoonosis yang saat ini masih menjadi masalah kesehatan utama di berbagai negara di dunia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri yang berasal dari genus *Brucella* yang biasanya menyerang hewan ternak seperti sapi, kambing, dan domba. Manusia dapat terserang penyakit ini secara insidental melalui kontak langsung dengan hewan terinfeksi maupun melalui konsumsi produk yang berasal dari hewan terinfeksi. Konsumsi susu dan produk olahan susu merupakan penyebab utama penularan *brucellosis* dari hewan ke manusia. Manifestasi klinis penyakit ini biasanya beragam dan tidak spesifik sehingga penegakan diagnosis sulit ditegakkan hanya berdasarkan manifestasi klinis. Oleh karena itu biasanya dibutuhkan pemeriksaan lain seperti kultur darah dan tes serologi dalam penegakan diagnosis *brucellosis*. Kultur darah merupakan standar emas penegakan diagnosis *brucellosis* memiliki beberapa kelemahan seperti waktu inkubasi yang lama, risiko terjadinya infeksi pada petugas laboratorium, harga yang mahal, serta sensitivitas yang buruk pada kasus kronis. Oleh karena itu metode serologis lebih banyak digunakan. *Brucella coombs gel test* merupakan metode serologis yang saat ini dikembangkan untuk deteksi *brucellosis*. Metode ini dapat mendeteksi antibodi terhadap *brucella* dan hasilnya dapat dilihat dalam waktu kurang dari dua jam. Selain itu metode ini memiliki tingkat sensitivitas yang sama dengan metode serologis yang lainnya sehingga metode ini dapat digunakan sebagai pemeriksaan serologis cepat dan *screening brucellosis*.

Kata kunci: *brucellosis, brucella coombs gel test*

Serological Diagnosis of *Brucellosis* using *Brucella Coombs Gel Test Method*

Abstract

Brucellosis is a zoonotic disease that is still a major health problem in various countries in the world. The disease is caused by bacteria originating from the genus *Brucella* that usually attacks livestock such as cattle, goats, and sheep. Humans may be infected with this disease incidentally by direct contact with infected animals or through consumption of products derived from infected animals. Consumption of milk and dairy products is a major cause of animal-to-human transmission of *brucellosis*. Clinical manifestations of this disease are usually diverse and non-specific so that diagnosis is difficult to enforce solely on the basis of clinical manifestations. Therefore, it usually requires other tests such as blood culture and serology tests in the diagnosis of *brucellosis*. Blood cultures which are the gold standard for the diagnosis of *brucellosis* have some disadvantages such as long incubation time, the risk of infection in laboratory workers, expensive, and poor sensitivity in chronic cases leads to more serological methods used. *Brucella coombs gel test* is a serological method currently being developed for the detection of *brucellosis*. This method can detect the antibody to *brucella* and the results can be seen in less than two hours. In addition, this method has the same level of sensitivity with other serological methods so that this method can be used as a rapid serological examination and *screening brucellosis*.

Keywords: *brucellosis, brucella coombs gel test*

Korespondensi: Diva iole humaira, alamat Jalan Kopi no. 24A, Gedong Meneng, Rajabasa, Kota Bandar Lampung, HP 082278876902, e-mail diolehhumaira@gmail.com

Pendahuluan

Brucellosis atau dikenal sebagai *undulant fever, mediteranian fever, atau malta fever* merupakan penyakit zoonosis bakterial yang disebabkan oleh berbagai spesies *Brucella*. Pada umumnya *brucellosis* menyerang hewan ternak seperti sapi, babi, kambing, dan domba. Selain menyerang hewan ternak *brucellosis* juga dapat menginfeksi manusia melalui kontak langsung ataupun tidak langsung dengan hewan terinfeksi atau melalui konsumsi produk olahan hewan tersebut.¹

Hingga saat ini angka kejadian *brucellosis* belum diketahui secara pasti namun dilaporkan

terdapat 500.000 kasus baru di seluruh dunia tiap tahunnya.^{2,3} Insidensi *brucellosis* di daerah endemik bervariasi antara <0,01 hingga >200 per 100.000 populasi.⁴ Prevalensi *brucellosis* yang cukup tinggi pada manusia disebabkan karena dekatnya kontak antara hewan dan manusia serta budaya konsumsi susu sapi atau kambing yang masih mentah.⁵

Brucellosis saat ini masih merupakan penyakit yang menjadi masalah kesehatan utama di dunia terutama di negara berkembang.⁶⁻⁸ *Brucellosis* dihubungkan dengan tingkat kerugian ekonomi yang tinggi

akibat rendahnya produktivitas hewan serta biaya pengobatan yang mahal akibat pengobatan yang lama pada manusia.^{4,5} Selain itu, *brucellosis* menyebabkan angka morbiditas yang cukup tinggi walaupun jarang menyebabkan kematian.^{6,7} *Brucellosis* dapat mengenai berbagai macam organ dan sistem organ dan menimbulkan presentasi klinis yang heterogen.^{2,7} Manifestasi klinis *brucellosis* tidak spesifik dan bergantung kepada stadium penyakit serta organ yang terkena.⁹ Manifestasi klinis *brucellosis* dapat menyerupai berbagai macam penyakit sehingga penyakit ini disebut sebagai “*great imitators*”.^{9,10} Oleh karena itu pemeriksaan laboratorium spesifik dibutuhkan untuk menegakkan diagnosis.^{7,10,11}

Kultur organisme merupakan standar emas penegakan diagnosis *brucellosis* dengan tingkat spesifisitas 100%, namun sering memiliki sensitivitas yang buruk khususnya pada stadium kronis.¹⁰ Kultur dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi sehingga diperlukan perhatian khusus dalam pengerjaannya di laboratorium.¹¹ Oleh karena itu, tes serologi biasanya lebih banyak digunakan dalam penegakan diagnosis *brucellosis* di sebagian besar wilayah endemis.¹⁰

Berbagai macam prosedur dalam metode serologis telah digunakan dalam penegakan diagnosis *brucellosis* tetapi tidak banyak yang tetap digunakan hingga saat ini.¹² Hal tersebut dikarenakan tingkat reliabilitas yang dimilikinya tidak mencapai 100% atau tidak mencapai tingkatan sempurna.⁴ Salah satu jenis metode serologis yang sedang dikembangkan untuk penegakan diagnosis *brucellosis* adalah *Brucella coombs gel test (BCGT)*.^{2,4,13}

Isi

Brucellosis merupakan suatu penyakit zoonosis yang biasa menyerang ternak, babi, kambing, domba, dan anjing.¹ Saat ini *brucellosis* tetap menjadi masalah kesehatan utama di dunia.^{6,8} *Brucellosis* masih menjadi penyakit zoonosis bakteri paling umum di dunia dengan lebih dari setengah juta kasus baru tiap tahunnya. Di beberapa negara prevalensi *brucellosis* melebihi 10 per 100.000 populasi.⁹ Meskipun kasus ini endemis di berbagai negara berkembang namun

brucellosis tetap tidak terdiagnosis dan tidak dilaporkan.⁹

Brucellosis disebabkan oleh bakteri dari genus *Brucella*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif bersifat fakultatif intraseluler tidak memiliki kapsul, flagel, endospora, dan plasmid alami, berbentuk kokobasil serta memiliki ukuran 0,5 hingga 1,5 mikrometer. Bakteri ini bersifat aerobik, tidak memfermentasi glukosa, dan memberikan hasil positif pada beberapa tes metabolik oksidatif. Bakteri ini dapat tumbuh pada media kultur yang luas dan secara umum koloni muncul setelah 24-48 jam inkubasi.⁶ Hingga saat ini terdapat sepuluh spesies *brucella* yang telah diketahui.³ *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, dan *Brucella suis* merupakan spesies paling umum yang menyebabkan infeksi pada manusia.^{2,3,5,8}

Transmisi dari hewan ke manusia dapat terjadi melalui kontak langsung dengan cairan binatang yang terinfeksi, konsumsi produk yang berasal dari hewan terinfeksi, mengonsumsi daging yang dimasak tidak matang dari hewan terinfeksi, serta infeksi okupasional.^{4-9,13,14} Konsumsi susu yang tidak dipasteurisasi dan produk olahan susu merupakan penyebab paling banyak *brucellosis*.⁶ Pada Benua Asia dan Wilayah Mediterania transmisi penyakit ini terus berlanjut menjadi masalah kesehatan melalui konsumsi susu dan produk olahan susu.¹³ Infeksi okupasional paling banyak terjadi pada dokter hewan, pekerja kesehatan, peneliti, dan pekerja laboratorium. Infeksi tersebut terjadi melalui saluran respiratori, konjungtiva dan kulit.⁶ Selain itu, para petani, pekerja rumah potong, tukang daging, pekerja pengolahan daging, dan pekerja olahan susu juga berisiko untuk terkena *brucellosis*.⁸ Wisatawan yang mengunjungi area endemis juga berisiko untuk terinfeksi *brucellosis*.²

Brucella dapat memasuki *host* melalui ingesti, inhalasi, konjungtiva, atau abrasi kulit. Setelah menginfeksi, *host* patogen masuk ke dalam sel di sistem retikuloendoplasma.⁶ Masa inkubasi *brucellosis* pada manusia bervariasi dari lima hingga beberapa bulan namun rata-rata adalah dua minggu.¹⁵

Pada manusia infeksi *brucella* memiliki manifestasi klinis akut, sub akut, dan kronis namun jarang bersifat fatal. Gejala infeksi biasanya tidak spesifik dan dapat menyerupai

infeksi lainnya.^{2,7} Manifestasi klinis paling umum adalah demam berulang dalam waktu lama (*undulant fever*). Gejala yang timbul pada awal infeksi antara lain demam, kedinginan, keringat malam, lemah dan lelah, sakit kepala, serta nyeri sendi. Kadang dapat ditemukan batuk non produktif dan pneumonitis.¹⁶

Brucellosis akut dapat memperlihatkan gejala yang bervariasi sedangkan *Brucellosis* kronis biasanya tanpa gejala dan dapat berlanjut hingga beberapa tahun. Tidak adanya gejala spesifik menyebabkan penyakit ini sulit dibedakan dari penyakit infeksi lainnya seperti tifoid, mononukleosis, endokarditis, leptospirosis, malaria, leishmaniasis, dan tuberkulosis.^{6,7} Kemiripan gejala penyakit *brucellosis* dengan berbagai penyakit menyebabkan *brucellosis* dianggap sebagai “major mimicker” dan “disease of mistakes”.⁶ Adanya tumpang tindih gejala *brucellosis* dengan penyakit lainnya sering menyebabkan kesalahan diagnosis sehingga menyebabkan kerugian baik pada pasien maupun dokter. Oleh karena itu, penegakan diagnosis biasanya tidak dapat ditegakkan hanya melalui manifestasi klinis namun dibutuhkan serangkaian tes laboratorium spesifik.⁷

Kultur darah merupakan standar emas penegakan diagnosis infeksi bakteri termasuk *brucellosis* namun metode standar ini berisiko, mahal, berbahaya, tidak sensitif khususnya pada kasus kronis serta membutuhkan waktu inkubasi yang lama.^{7,13} Walaupun kultur konvensional telah banyak digantikan dengan sistem kultur otomatis yang dapat memperpendek periode inkubasi namun metode ini menghabiskan waktu, tidak tersedia pada beberapa laboratorium, dan sensitifitasnya dapat menurun apabila jumlah dari bakteri yang bersirkulasi meningkat. Selain itu pekerja laboratorium memiliki risiko terinfeksi *Brucellosis*.^{2,9,17} Metode serologi lebih sering digunakan karena alasan kultur memiliki waktu yang lama untuk produksi bakteri, memiliki risiko infeksi, dan tidak dilakukan di semua institusi kesehatan.¹³ Metode serologi lebih mudah dilakukan dan menyediakan bantuan yang besar untuk diagnosis *brucellosis*, karena itu tes serologis juga digunakan untuk menentukan paparan potensial terhadap virus ini. Metode ini paling umum digunakan di laboratorium untuk diagnosis *brucellosis*.⁷

Brucella coombs gel test (BCGT) merupakan metode diagnostik serologis baru dan sangat cepat yang saat ini dikembangkan pada diagnosis *Brucellosis*.^{2,7} Metode BCGT merupakan metode diagnosis serologis *Brucellosis* yang bergantung kepada metode sentrifugasi gel.^{2,7} Metode ini merupakan tes aglutinasi *brucella sp.* yang dilakukan pada sumur kecil yang berisi matriks gel dan antibodi coombs namun setelah manipulasi pertama tanpa inkubasi 18-24 jam, hasilnya dapat dilihat setelah sentrifugasi selama 20 menit.¹³ Metode BCGT dapat mendeteksi antibodi IgG *Brucella sp.* yang tidak teraglutinasi.^{2,7}

Prosedur *brucella coombs gel test* yaitu antibodi *brucella* ditambahkan pada sampel serum yang telah diencerkan pada piring pengencer. Sampel kemudian dipindahkan menggunakan pipet ke dalam *microtube* berukuran 12x8 yang mengandung matriks gel *antihuman* IgG. Hasilnya dievaluasi melalui aglutinasi setelah disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 3000 rpm. Sampel dikatakan negatif apabila antibodi *brucella* yang berwarna merah muda mengendap di dasar *microtube* dan positif apabila antibodi merah muda mengapung di permukaan atas gel.¹³



Gambar 1. *Brucella coombs gel test* Negatif dan Positif¹⁷

Pada metode ini serum dilarutkan pada sumur *microplate*. Sumur pertama diisi dengan 5 µl serum dan 100 µl pengencer, sementara sumur yang lainnya diisi dengan 50 µl pengencer. Semua sumur diencerkan secara berurutan dan ditambahkan suspensi antigen *brucella* yang berwarna merah muda sebanyak 50 µl. Jumlah sumur yang direkomendasikan pada praktek laboratorium rutin adalah sebanyak 4 sumur dengan pengencer berkisar antara 1:40 hingga 1:320. Setelah diencerkan

sampel yang telah disiapkan (50 ml) dipindahkan ke matriks gel *microtube* yang mengandung antibodi *coombs (Anti-human globulin)*. Kemudian matriks gel disentrifugasi selama 20 menit dan hasilnya dinilai secara visual. Apabila tidak terdapat antibodi *brucella* maka antigen *brucella* yang berwarna merah muda akan mengendap di dasar tabung dan hasilnya dianggap negatif, sebaliknya apabila terdapat antibodi *brucella* pada serum maka akan terlihat lapisan kompleks antigen antibodi yang berwarna merah muda pada permukaan *microtube* dan hasilnya dianggap positif.^{2,7}

Pada *screening brucella*, 5 µl serum dicampur dengan 50 µl pengecer di dalam sumur piring encer. 50 µl antigen *brucella* kemudian ditambahkan ke dalam suspensi pada sumur dan kemudian diaduk. Piringan kemudian dikocok dan sebanyak 50 µl campuran dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam matriks gel. Kemudian matriks gel diletakkan pada alat *centrifuge* dan disentrifugasi selama 60 menit.⁷

Metode BCGT tidak membutuhkan inkubasi, semua proses dapat dilakukan tepat setelah 2 jam sampel darah diambil, hasilnya dapat dilihat dengan mata telanjang dan tidak dibutuhkan keahlian khusus. Dibandingkan dengan metode lainnya, performa diagnostik (sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi negatif, dan nilai prediksi positif) pada metode BCGT cukup tinggi.²

Selain itu, metode BCGT juga dapat dilakukan secara otomatis. Meskipun memiliki banyak keuntungan, tes ini hanya membutuhkan 5 µl serum pasien sehingga *pipetting* harus dilakukan secara hati-hati. Sebagai tambahan penggunaan 5 µl serum dapat berefek samping terhadap sensitifitasnya.²

Sensitivitas dan spesifisitas metode BCGT pada penelitian sebelumnya menunjukkan angka yang tinggi. Penelitian oleh Hanci, *et al* menunjukkan bahwa BCGT memiliki tingkat sensitivitas sebesar 100% sedangkan tingkat spesifisitasnya sebesar 82,2%.⁷ Penelitian lain yang dilakukan oleh Kayseri menunjukkan bahwa metode BCGT memiliki angka sensitivitas dan spesifisitas 100%.¹³

Ringkasan

Brucellosis merupakan suatu penyakit yang saat ini masih menjadi masalah kesehatan utama di dunia. *Brucellosis* diperkirakan mengenai hampir 500.000 orang tiap tahunnya di seluruh dunia. *Brucellosis* disebabkan oleh bakteri dari genus *Brucella* yang dapat menginfeksi hewan dan manusia. Manusia dapat terinfeksi *brucellosis* baik melalui kontak langsung dan tidak langsung. *Brucellosis* dapat menyebabkan berbagai manifestasi klinis dalam bentuk akut, subakut, maupun kronis. Secara umum manifestasi klinis *brucellosis* tidak spesifik dan tidak dapat digunakan untuk penegakan diagnosis definitif. Beberapa metode yang dapat dilakukan untuk menegakkan diagnosis *brucellosis* seperti pemeriksaan kultur darah dan serologi. Meskipun kultur darah merupakan standar emas diagnosis *brucellosis* namun metode ini memiliki beberapa kelemahan sehingga metode serologis lebih banyak digunakan pada praktek klinis. Salah satu metode serologis yang saat ini sedang dikembangkan adalah *Brucella coombs gel test* yang mendeteksi adanya antibodi terhadap *brucella*. Tes ini dianggap memiliki sensitivitas yang setara dengan tes serologi lainnya dengan waktu yang sangat singkat sehingga penegakan diagnosis lebih cepat ditegakkan. Selain itu, metode ini juga dapat digunakan sebagai *screening* terhadap *brucellosis*. Walaupun memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi, tes ini harus dikaji lebih lanjut terkait dengan spesifisitas yang rendah.

Simpulan

Metode BCGT mudah digunakan dan diinterpretasikan serta dapat menyediakan hasil titer yang dapat dipercaya dalam waktu kurang dari 2 jam. Metode BCGT dapat digunakan sebagai *screening* dengan sensitivitas yang tinggi. Sebagai tambahan, titrasi antibodi *brucella* dalam waktu yang pendek (sekitar satu setengah jam) dapat menjadi keuntungan lainnya. Hasil tes ini akan didapatkan pada hari yang sama sehingga pengobatan terhadap penyakit dapat segera dimulai. Hal ini akan bermanfaat bagi pasien dalam pengobatannya. Akan tetapi metode ini memiliki spesifisitas yang rendah sehingga harus di evaluasi kembali dengan studi yang lebih komprehensif.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. *Brucellosis in Humans and Animals*. WHO Library Cataloguing in Publication Data. WHO Press. 2006.
2. Koroglu M, Aydemir OA, Demiray T, Erkorkmaz U, Ozbek A, Altindis M. Comparative evaluation of the *Brucella coombs gel test* in laboratory diagnosis of human brucellosis. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2016; 30(5): 970-975.
3. Smirnova EA, Vasin AV, Sandybaev NT, Klotchenko SA, Plotnikova MA, Chervyakova OV, *et al.* Current Methods of Human and Animal *Brucellosis* Diagnostics. *Scientific Research*. 2013; 3:177–84.
4. Shenoy B, Jaiswal A, Vinod A. Lab Diagnosis of *Brucellosis*. *Indian Academy of Paediatrics*. 2016;40–44.
5. Novita R. *Brucellosis: Penyakit Zoonosis Yang Terabaikan*. *Balitbangkes Kemenkes RI*. 2016;12(2):135–40.
6. Araj GF. Update on Laboratory Diagnosis of Human *Brucellosis*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010;36:12–17.
7. Hanci H, Igan H, Uyanik MH. Evaluation of a New and Rapid Serologic Test for Detecting *Brucellosis: Brucella coombs gel test*. *Pakistan J Biol Sci*. 2017;20(2):108–12.
8. Dias M, Dias E. Comparative evaluation of Various Serological Tests in The Laboratory Diagnosis of *Brucellosis*. *Chrimed Journal of Health and Research*. 2015;2(2):136-139.
9. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human *Brucellosis*. *Lancet Infectious Disease*. 2017;7:775-786.
10. Moriyo I, Njeru J, Glanville WA, Condea R, Cook EAJ, Morin M, *et al.* Poor Performance of The Rapid Test for Human *Brucellosis* in Health Facilities in Kenya. *Plos Neglected Tropical Disease*. 2017;1–15.
11. Hajia M, Fallah F, Angoti G, Karimi A, Rahbar M, Gachkar L, *et al.* Comparison of Methods for Diagnosing *Brucellosis*. 2017;44(1):29–33.
12. Yumuk Z, Afacan G, Caliskan S, Irvem A, Arslan U. Relevance of Autoantibody Detection to The Rapid Diagnosis of *Brucellosis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2017;58(2007):271–273.
13. Turhanoglu NM, Vural DG. The Comparison of *Brucella Gel Agglutination Test* with Other *Brucella* Tests. *Dicle Medical Journal*. 2015;42(4):422–426.
14. Pathak AD, Dubal ZB, Karunakaran M, Doijad SP, Raorane AV, Dhuri RB, *et al.* Apparent Seroprevalence , Isolation and Identification of Risk Factors for *Brucellosis* among Dairy Cattle in Goa , India. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease*. 2017;47(2016):1–6.
15. Gulhan A, Akkoyunlu Y, Bektas M, Kaya B, Aslan T. The Prevalence of *Brucellosis* in Adults in Northeastern Region of Turkey. *Jundhisapur J Microbiol*. 2013;6(3):263–274.
16. Jecce LA. Study of Implementation of Improved Strategies for Prevention of Laboratory-acquired *Brucellosis*. *Saf Heal Work*. 2015;6(35):356.
17. Irvem A, Muhterem F, Aksaray S, Bor E. Comparison of A New and Rapid Method, *Brucella coombs gel test* with Other Methods in Serological Diagnosis of *Brucellosis*. *Mirobiyol Bul*. 2015;49(2):181-187.