

**GAMBARAN SITOLOGI IMPRESI KORNEA
PENDERITA KERATITIS HERPES SIMPLEK
EPITELIAL PADA PEMBERIAN ASIKLOVIR TOPIKAL**

Tesis

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
mendapatkan gelar Dokter Spesialis Mata

Oleh:

**NENENG SUSANTI
NBP 07223004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS MATA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2012**

DESCRIPTION OF CORNEAL IMPRESSION CYTOLOGY HERPES SIMPLEX EPITHELIAL KERATITIS PATIENTS IN TOPICAL ACYCLOVIR TREATMENT

NENENG SUSANTI

Department of Ophthalmology

Faculty of Medicine Andalas University /M. Djamil Hospital Padang

ABSTRACT

Background : Herpes simplex virus has a cytopathic effect at cornea, which may result in changes and damage cells - epithelial cells. Acyclovir treatment in patients with herpes simplex epithelial keratitis expected an improvement of the cytopathic effect.

Objective: To study the description of corneal impression cytology in patients with herpes simplex epithelial keratitis before and after topical acyclovir eye ointment.

Method : Cohort study on 22 patients were diagnosed with herpes simplex epithelial keratitis (unilateral) with clinical based : infiltrates on the epithelium of the corneal surface, corneal sensibility decreased (compared with the fellow eye) and follicles in the conjunctiva tarsalis. Laboratory examination by corneal impression cytologic, taken and fixed with 10% formalin fluid. The filter paper stained with hematoxylin - eosin. Follow up have been done on day three and ten. The study between December 2011 - March 2012.

Results: There are difference (statistically significant) of inclusion bodies between day 1 and 3 ($p = 0,047$), 1 and 10 ($p = 0,018$) and days 1, 3 and 10 ($p = 0,045$). There are difference of koilocitik cells (statistically not significant) in day 1 and 3, $p = 0,383$, day 1 and 10, $p = 0,061$ and between day 1, 3 and 10, $p = 0,18$. There are difference (statistically significant) of datia cells between day 1 and 10 ($p = 0,015$), day 3 and 10 ($p = 0,016$) and days 1, 3 and 10 ($p = 0,027$). There are difference (statistically significant) of balloon cells between day 1 and 3 ($p = 0,020$), day 1 and 10 ($p = 0,005$), and day 1, 3 and 10 ($p = 0,018$). There are difference (statistically significant) of mean scores (all cytopathic cells) of impression cytology between days 1 and 3 ($p = 0,004$), 1 and 10 ($p = 0,001$), and day 1, 3 and 10 ($p = 0,006$).

Conclusions : There are difference (statistically significant) in the mean values of corneal impression cytology to see a decrease the number of: inclusion bodies, datia cells, balloon cells, and score of all cells based on the observation time. There are difference (statistically not significant) in the mean value of corneal impression cytology to see a decrease the number of koilositik cells on the observation time. In this study, correlation between clinical improvement (based on visual aquity, infiltrat, fluorescein and sensibility) and histopatology improvement (based on cytopathic effect) have no conclusion.

Key word : Herpes simplex epithelial keratitis, corneal impression cytology, millipore filter paper, cytopathic effect, acyclovir.

GAMBARAN SITOLOGI IMPRESI KORNEA PENDERITA KERATITIS HERPES SIMPLEK EPITELIAL DENGAN PEMBERIAN ASIKLOVIR TOPIKAL

NENENG SUSANTI

Bagian Mata

Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/ RSUP DR.M.Djamil Padang

ABSTRAK

Latar Belakang : Virus herpes simplek mempunyai efek sitopatik yang menyebabkan perubahan dan kerusakan dari sel epitel. Pemberian asiklovir topikal diharapkan terjadinya perbaikan dari efek sitopatik dari sel epitel kornea.

Tujuan: Melihat gambaran sitologi impresi kornea penderita keratitis herpes simplek epitelial sebelum dan sesudah pemberian asiklovir topikal.

Metode : Penelitian kohor pada 22 pasien yang didiagnosa dengan keratitis herpes simplek epitelial (unilateral) dengan dasar klinis : infiltrat di kornea, sensibilitas yang menurun (bandingkan dengan mata sebelahnya) dan folikel di konjungtiva tarsalis. Pemeriksaan laboratorium dilakukan dengan sitologi impresi kornea dengan menggunakan kertas saring *millipore*, diambil dan difiksasi dengan formalin 10 %. Kertas saring diwarnai dengan hematoxilin – eosin. Follow up dilakukan pada hari ke-3 dan ke-10 pengamatan. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2011 – Maret 2012.

Hasil: Terdapat perbedaan (secara statistik bermakna) dengan melihat badan inklusi pada pengamatan hari ke-1 dan 3 ($p = 0,047$), 1 dan 10 ($p = 0,018$) dan hari ke- 1, 3 dan 10 ($p = 0,045$). Terdapat perbedaan (secara statistik tidak bermakna) dengan melihat sel koilositik pada pengamatan hari 1 and 3 ($p = 0,383$), hari ke-1 dan 10 ($p = 0,061$) dan antara hari 1, 3 dan 10 ($p = 0,18$). Terdapat perbedaan (secara statistik bermakna) dengan melihat sel datia pada pengamatan hari ke-1 dan 10 ($p = 0,015$), hari ke-3 dan 10 ($p = 0,016$) dan hari ke- 1, 3 dan 10 ($p = 0,027$). Terdapat perbedaan (secara statistik bermakna) dengan melihat sel balon pada pengamatan hari 1 dan 3 ($p = 0,020$), 1 dan 10 ($p = 0,005$) dan hari 1, 3 dan 10 ($p = 0,018$). Terdapat perbedaan (secara statistik bermakna) dengan melihat skor sitologi impresi kornea pada pengamatan hari ke-1 dan 3 ($p = 0,004$), 1 dan 10 ($p = 0,001$), dan hari 1, 3 dan 10 ($p = 0,006$).

Kesimpulan : Terdapat perbedaan (secara statistik bermakna) terhadap nilai rerata sitologi impresi kornea dengan melihat penurunan jumlah : badan inklusi, sel datia dan sel balon dan skor sitologi impresi berdasarkan waktu pengamatan. Terdapat perbedaan (secara statistik tidak bermakna) dengan melihat sel koilositik berdasarkan waktu pengamatan. Pada penelitian ini, penyembuhan secara klinis (berdasarkan visus, lesi, fluoresen dan sensibilitas) belum bisa dihubungkan dengan penyembuhan secara histopatologi dengan melihat perubahan efek sitopatik sel epitel kornea.

Kata Kunci : Keratitis Herpes Simplek Epitelial, sitologi impresi kornea, *millipore filter paper*, efek sitopatik, asiklovir.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional kohor.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bagian Ilmu Kesehatan Mata RSUP Dr.M.Djamil Padang dan poliklinik Balai Kesehatan Mata Masyarakat (BKMM) Propinsi Sumatera Barat. Waktu penelitian bulan Desember 2011 – Maret 2012.

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

- a. Populasi penelitian adalah semua penderita keratitis herpes simplek epitelial
- b. Sampel

Sampel penelitian adalah semua penderita keratitis herpes simplek epitelial yang datang berobat ke :

- Poliklinik Ilmu Kesehatan Mata RSUP Dr.M.Djamil yang didiagnosa dengan keratitis herpes simplek epitelial pada bulan Desember 2011 – Maret 2012.
- Poliklinik Balai Kesehatan Mata Masyarakat (BKMM) Propinsi Sumatera Barat, yang didiagnosa dengan keratitis herpes simplek epitelial pada bulan Desember 2011 – Maret 2012.

c. Perhitungan besar sampel

Perhitungan dengan menggunakan rumus :

$$n = \left\{ \frac{(Z \alpha + Z \beta) \times Sd}{d} \right\}^2$$

n = Jumlah sampel

$Z \alpha = 1,96$ adalah nilai tabel untuk derajat kepercayaan 95 %

$Z \beta = \text{Power penelitian } 80 \% (0,842)$

Sd = Simpangan baku dari selisih rerata (2,7)

d = Selisih rerata dua kelompok yang dianggap bermakna (1)

Berdasarkan rumus diatas, jumlah sampel minimal adalah :

$$n = \left\{ \frac{(1,96 + 0,842) \times 2,7}{1} \right\}^2$$

n = 17,9 (dibulatkan menjadi 18)

Dengan menggunakan derajat kepercayaan 95 % dan power penelitian 80 %, dibutuhkan jumlah sampel minimal pada penelitian ini adalah 18 mata. Oleh karena penelitian ini mempunyai kemungkinan *drop out*, diperkirakan perlu penambahan sampel sebesar 20 % (20 % dari 18 mata = 4 mata), jadi dibutuhkan 22 sampel.

4.4. Kriteria inklusi dan eksklusi

a. Kriteria inklusi

- Bersedia dan setuju ikut serta dalam penelitian dan menyanggupi untuk mematuhi aturan pemeriksaan yang akan dilakukan.
- Penderita yang sudah didiagnosa dengan keratitis herpes simplek epitelial (unilateral) dengan dasar klinis :
 1. Infiltrat di permukaan epitel kornea.
 2. Sensibilitas kornea menurun (dibandingkan dengan mata sehat sebelahnya).
 3. Folikel di konjungtiva tarsalis.Disertai dengan ditemukannya efek sitopatik pada pemeriksaan sitologi impresi kornea.

b. Kriteria eksklusi

- Keratitis herpes simplek epitelial bilateral.
- Rekurensi
- Fluoresen (-)
- Usia < 6 th
- Riwayat pemakaian obat topikal

4.5. Bahan dan alat yang digunakan

1. Slit Lamp
2. Snellen chart
3. Zat warna *fluorescein* 2 % (*fluorescein sodium* 20 mg/ml)
4. Stop watch

5. Pantokain 2 % (topikal)
6. Kertas *Millipore* 0,20 um (steril). (Gambar.23)

Spesifikasi :

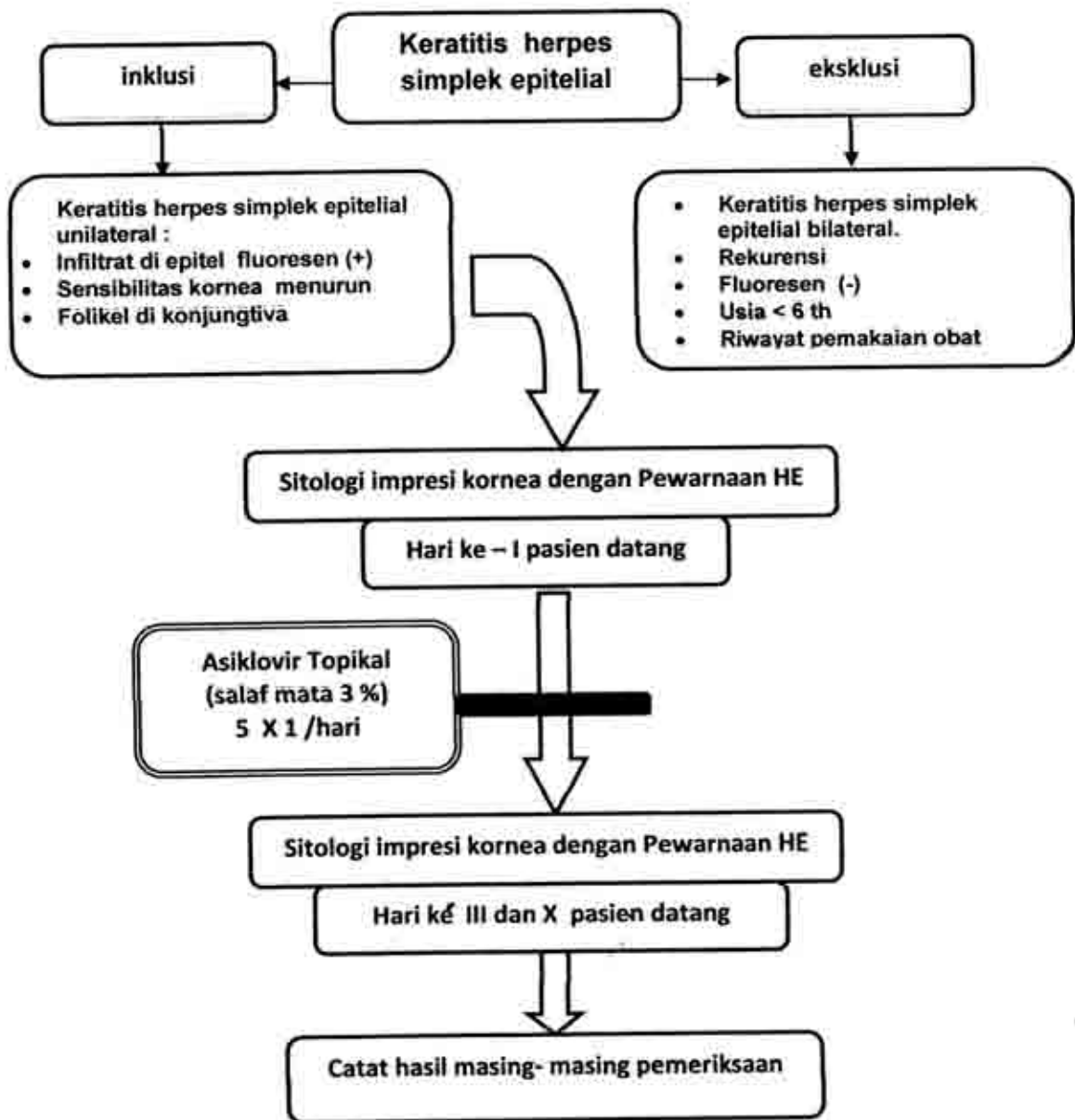
Cellulosa acetate membran filters , Ø 13 m, pore 0,2 um (*sartorius – stedim – Germany*)

7. Spekulum palpebra steril
8. Pinset kornea anatomis steril
9. Spatel kornea steril
10. *Plunger spuit* 1 cc (steril)
11. Pewarnaan *Hematoxilin - Eosin*
12. Mikroskop listrik
13. Kaca objek



Gambar.23. Kertas saring *cellulosa acetate*

4.6. Alur Penelitian



4.7. Cara dan Prosedur Kerja

- a. Sebelum dilakukan pemeriksaan terhadap sampel yang memenuhi kriteria, diterangkan terlebih dahulu tentang tujuan dari penelitian ini dan secara lisan diminta persetujuannya menjadi subyek dalam penelitian ini.
- b. Setelah mendapat persetujuan, maka data-data pasien dan hasil pemeriksaan yang sudah dilakukan, dicatat dalam status khusus penelitian.
- c. Dilakukan pemeriksaan kornea dan konjungtiva dengan menggunakan slit lamp.
- d. Pemeriksaan sensibilitas kornea (pemeriksaan dimulai pada mata yang sehat dan selanjutnya dibandingkan dengan mata yang sakit) :
 - Bentuk ujung kapas dengan pinset steril agar runcing dan halus
 - Fiksasi mata pasien keatas agar bulu mata tidak tersentuh saat kornea disentuh
 - Fiksasi jari pemeriksa pada pipi pasien dan ujung kapas halus yang runcing disentuhkan dengan hati – hati pada kornea, mulai pada mata yang tidak sakit.

Penilaian :

- Pada tingkat sentuhan tertentu reflek mengedip akan terjadi.
 - Penilaian dengan membandingkan sensibilitas kedua mata pasien tersebut.
- e. Pemeriksaan infiltrat di kornea dengan slit lamp dengan menggunakan fluoresen.
 - Zat warna fluorescein 2 % (fluorescein sodium 20 mg/ml) diteteskan pada mata.

- Zat warna diirigasi dengan garam fisiologik sampai seluruh air mata tidak berwarna hijau lagi.
- Dilihat bagian pada kornea yang berwarna hijau.

4.8. Teknik pemeriksaan sitologi impresi kornea pada pasien keratitis herpes simplek epitelial.

- Pasien tidur telentang diatas tempat tidur perasat
- Pemeriksa menggunakan sarung tangan steril pada tangan kanan.
- Kornea dianastesi dengan pantokain 2 %
- Pasang spekulum palpebra (steril) pada mata yang akan diperiksa dengan tangan pemeriksa yang steril.
- Siapkan kertas saring millipore steril (*Cellulosa acetate membran filters* , Ø 13 m, pore : 0,2 um , *sartorius – stedim – Germany*)
- Siapkan mata pasien dengan melihat lurus keatas dan kertas saring millipore diletakkan pada permukaan lesi di kornea dengan menggunakan pinset kornea anatomis steril.
- Lakukan penekanan secara perlahan kertas millipore dengan menggunakan ujung sedotan (*plunger tip*) dari spuit tuberculin 1 cc selama 20 detik (waktu dinilai dengan menggunakan *stopwatch*).
- Setelah 20 detik, kertas filter diambil dengan menggunakan pinset kornea anatomis steril dan difiksasi dengan memasukkan ke dalam vial yang berisi cairan formalin 10 %.
- Spekulum palpebra pada mata pasien dibuka dengan perlahan.
- Selanjutnya sediaan diwarnai dengan *hematoxylin – eosin* (HE).

Langkah – langkah pewarnaan HE :

- Kertas saring diambil dari vial yang berisi cairan formalin 10 %.
 - Dikeringkan dengan suhu ruangan / oven
 - Direndam kedalam cairan *Hematoxylin* (tunggu 2 menit)
 - Dikeringkan dengan menggunakan suhu ruangan /oven.
 - Direndam dalam cairan *Eosin* (tunggu 2 menit)
 - Dikeringkan dengan menggunakan suhu ruangan.
 - Kertas saring diletakkan pada kaca objek, selanjutnya ditutup dengan *deck glass* dan ditempelkan dengan menggunakan entelan.
 - Preparat siap untuk diperiksa.
- k. Preparat diperiksa dengan mikroskop dengan pembesaran 400 X untuk 10 lapangan pandang. Jenis sel yang diamati adalah efek sitopatik pada sel epitel dan sel – sel patologis seperti :
- Sel epitel dengan badan inklusi.
 - Sel epitel dengan inti hiperkromatik, (koilositik)
 - Sel epitel raksasa berinti banyak (datia).
 - Sel epitel yang mengalami degenerasi balon.

4.9. Pencatatan dan Pelaporan

- Data-data pasien dan hasil pemeriksaan yang sudah dilakukan, dicatat dalam status khusus penelitian
- Hasil secara statistik dievaluasi dengan menggunakan *General Linear Model Repeated Measures*

BAB V

HASIL PENELITIAN

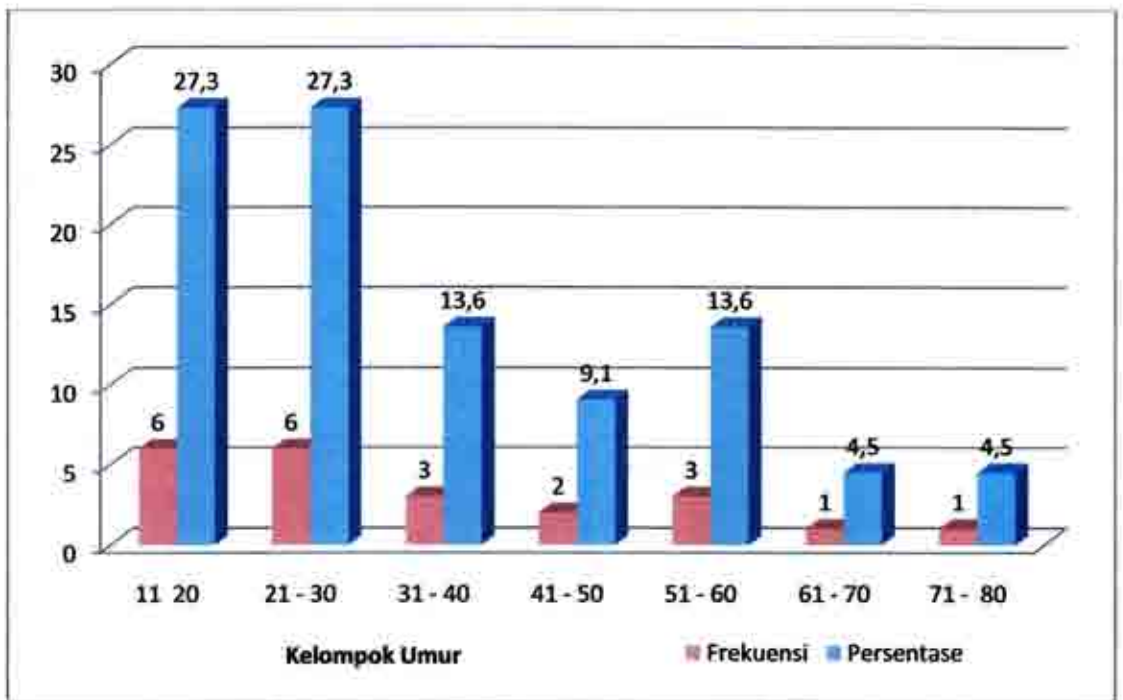
5.1. Karakteristik Hasil Penelitian

Subjek penelitian yang dipilih adalah penderita keratitis herpes simplek epitelial. Sampel penelitian adalah semua penderita keratitis herpes simplek epitelial yang datang berobat ke poliklinik Ilmu Kesehatan Mata RSUP DR.M.Djamil dan poliklinik Balai Kesehatan Mata Masyarakat (BKMM) Propinsi Sumatera Barat yang didiagnosa dengan keratitis herpes simplek epitelial.

Tabel.4. Distribusi Frekuensi Berdasarkan Jenis Kelamin.

Jenis Kelamin	Jumlah	Persentase (%)
Laki –laki	11	50.0
Perempuan	11	50.0
Jumlah	22	100.0

Tabel .4. Menunjukkan bahwa jumlah sampel laki - laki sama banyak dengan sampel perempuan.



Gambar.24. Grafik Distribusi Frekuensi Berdasarkan Umur

Dari Gambar 24 tampak jumlah sampel yang terbanyak didapatkan antara umur 11 – 20 tahun dan 21 – 30 tahun.

BAB VII

KESIMPULAN

7.1. Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik nilai rerata sitologi impresi kornea dengan melihat penurunan jumlah badan inklusi, sel datia dan sel balon berdasarkan waktu pengamatan (hari ke-1 /sebelum pemberian asiklovir topikal dan hari ke-3 dan ke-10 /sesudah pemberian asiklovir topikal)
2. Terdapat perbedaan yang tidak bermakna secara statistik nilai rerata sitologi impresi kornea dengan melihat penurunan jumlah badan koitositik berdasarkan waktu pengamatan (hari ke-1 /sebelum pemberian asiklovir topikal dan hari ke-3 dan ke-10 /sesudah pemberian asiklovir topikal)
3. Terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik berdasarkan nilai rerata skor sitologi impresi kornea dengan melihat penurunan jumlah sel – sel patologi berdasarkan waktu pengamatan (hari ke-1 /sebelum pemberian asiklovir topikal dan hari ke-3 dan ke-10 /sesudah pemberian asiklovir topikal).
4. Pada penelitian ini, penyembuhan secara klinis (bedasarkan visus, lesi, fluoresen dan sensibilititas) belum bisa dihubungkan dengan penyembuhan secara histopatologi dengan melihat perubahan efek sitopatik sel epitel kornea.

DAFTAR PUSTAKA

1. Skuta GL, American Academy of Ophthalmology, External Disease and Cornea, San Francisco, 2008 : p. 139 – 151.
2. Kanski JJ, Clinical Ophthalmology A Systematic Approach, Fifth Edition, London, 2003 : p. 107 – 111.
3. Pavan D, Viral Disease of The Ocular Anterior Segment : Basic Science and Clinical Disease in The Cornea (Fourth Edition), Philadelphia, 2005 : p. 299 - 377
4. Holland EJ, Brilakis HS, Herpes Simplex Keratitis in Cornea, Second Edition, Volume 1 B, New York, Elsevier, 2005 : p. 1043 – 1070.
5. Saunmacher R, Color Atlas of Herpes Simplex : A Practical Guide to Clinical Management, Berlin, Springer, 2009 : p. 65 - 78
6. Reinhard T, Larkin DFP, Cornea and External Eye Diseases , Berlin, Springer, 2006 : p. 101 – 117.
7. Klein RS, Hirsch MS, Govern BH, Epidemiology of herpes simplex virus type 1 infection, Up to date 2010 ; 1 : p.1 -10.
8. Wihelminus KR, The Treatment of Herpes Simplex Virus Epithelial Keratitis, Tr Am Ophthalmology 2000 : 98 ; p. 505 – 531.
9. Sjamsoe S, Keratitis Herpes Simplex dalam Infeksi Virus Herpes, Jakarta ; Balai Penerbit – Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia : 2002. p.137 – 146.
10. Hondrizal, Getry S, Gambaran Penderita Herpes Simplek Pada Mata Di RS.DR.M.Djamil Padang dalam Pertemuan Ilmiah Tahunan XXXIII – Makasar : 2008 ; p. 1 – 7.
11. Kim JH, Ko MK, Shin JC, Infectivity of Basal Epithelial Cells In Herpetic Dendritic Epithelial Keratitis, Korean Journal Ophthalmology 1997 ; 11 : p. 84 – 88.
12. Liesegang TJ, Skuta GL, American Academy of Ophthalmology, Fundamental and Principles of Ophthalmology, San Francisco, 2008 : p. 45 – 49.