

Laporan Kasus**Biofilm bakteri pada penderita rinosinusitis kronis:
laporan seri kasus berbasis bukti**

Silvia*, **Delfitri Munir***, **Andrina Yunita Murni Rambe***, **Amran Simanjuntak****,
Jessy Chrestella***, **Taufik Ashar******

Departemen Telinga Hidung Tenggorok - Bedah Kepala Leher
Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara / Rumah Sakit Haji Adam Malik Medan*,
Rumah Sakit Haji Mina Medan**, Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran
Universitas Sumatera Utara***, Departemen Kesehatan Lingkungan
Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara****
Medan

ABSTRAK

Latar belakang: Rinosinusitis kronis merupakan penyakit yang sering dijumpai pada bagian telinga hidung tenggorok kepala dan leher. Melalui berbagai macam teknik pencitraan, biofilm dijumpai pada mukosa sinonasal dari pasien rinosinusitis kronis. Beberapa peneliti mengemukakan bahwa biofilm adalah penyebab yang umum dari infeksi persisten kronis. Peranan biofilm pada penderita rinosinusitis kronis dapat membantu menjelaskan manifestasi klinis pada penyakit tersebut. Ketersediaan pewarnaan hematoxilin-eosin yang luas dalam laboratorium patologi klinik membuatnya menjadi metode yang sangat praktis untuk mendeteksi biofilm dalam praktik klinis. **Tujuan:** Mempresentasikan ekspresi biofilm bakteri pada penderita rinosinusitis kronis yang menjalani tindakan bedah sinus endoskopi fungsional. **Kasus:** Sebanyak 33 pasien rinosinusitis kronis menjalani tindakan bedah sinus endoskopi fungsional di beberapa rumah sakit di Sumatera Utara selama bulan Januari-Desember 2016. Prevalensi biofilm didapati pada 22 pasien (66,7%) penderita rinosinusitis kronis. Pada penderita rinosinusitis kronis dengan biofilm positif dijumpai jenis kelamin pria lebih banyak, umur lebih tua, lama gejala lebih singkat, keberadaan polip lebih sering, dan keluhan hidung tersumbat lebih sering. **Metode:** Pencarian literatur melalui Pubmed dengan kata kunci: *chronic rhinosinusitis and biofilm*. Setelah melalui proses skrining didapati 2 literatur yang dianalisis. **Hasil:** Penatalaksanaan rinosinusitis kronis dengan medikamentosa, meliputi pemberian antibiotik, dekongestan, kortikosteroid dan mukolitik disertai terapi tambahan irigasi hidung, serta pembedahan. Bila dijumpai biofilm, maka regimen pemberian antibiotik memakai protocol *Marshall*. **Kesimpulan:** Prevalensi biofilm pada penderita rinosinusitis kronis cukup tinggi, pemeriksaan biofilm dapat dipertimbangkan pada pasien rinosinusitis kronis yang menjalani tindakan bedah sinus endoskopi fungsional.

Kata kunci: Biofilm, rinosinusitis kronis, hematoxilin-eosin, bedah sinus endoskopi fungsional

ABSTRACT

Background: *Chronic rhinosinusitis is a disease that often found in otorhinolaryngology. Its pathogenesis is not fully understood. Using variety techniques, biofilms have been found in the mucosa of chronic rhinosinusitis patients. Some researchers have suggested that biofilm is a common cause of chronic persistent infection. The role of biofilms in patients with chronic rhinosinusitis can help explain the clinical manifestations of the disease. The extensive availability of hematoxylin-eosin staining in clinical pathology laboratories makes it a very practical method for detecting biofilms in clinical practice.* **Purpose:** *To present bacterial biofilm expression in chronic rhinosinusitis patients who had underwent functional endoscopic sinus surgery.* **Cases:** *About 33 chronic rhinosinusitis patients who had underwent functional endoscopic sinus surgery in several hospitals in North Sumatera during January-December 2016. Biofilms were found in 22 (66.7%) patients with chronic rhinosinusitis. Chronic rhinosinusitis patients with positive biofilms found mostly male, older in age, shorter duration of symptoms, more frequent polyps, and more frequent nasal congestion complaints.* **Method:** *Literature study was conducted through Pubmed with keywords*

chronic rhinosinusitis and biofilm. After screening process, we obtained two articles that were analyzed based on the critical appraisal. Result: Management of chronic rhinosinusitis was medical treatment with antibiotic, decongestant, corticosteroid and mucolytic, accompanied by additional nasal irrigation therapy, and surgery. If biofilm was found, antibiotic regimen given using Marshal protocol. Conclusion: The prevalence of biofilms in patients with chronic rhinosinusitis was quite high. Biofilm examination should be considered in patients with chronic rhinosinusitis who undergo functional endoscopic sinus surgery.

Keywords: Biofilm, chronic rhinosinusitis, hematoxylin-eosin, fungsional endoscopic sinus surgery

Alamat korespondensi: Dr. Silvia. Departemen Telinga Hidung Tenggorok Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara / Rumah Sakit Haji Adam Malik, Jl. Bunga Lau No. 17 Medan, kode pos: 20136. Email: silviahaykal28@gmail.com.

PENDAHULUAN

Rinosinusitis kronis merupakan inflamasi pada hidung dan sinus paranasal yang ditandai oleh dua gejala atau lebih, dengan satu diantaranya berupa hidung tersumbat atau adanya sekret hidung selama ≥ 12 minggu.¹ Penyakit ini sering dijumpai di Bagian Telinga Hidung Tenggorok Kepala dan Leher. Patogenesisnya belum sepenuhnya diketahui. Teori multifaktor yang secara luas diterima diantaranya adalah infeksi (bakteri, jamur, virus), variasi anatomi kompleks osteomeatal, hipersensitivitas, dan disfungsi sistem mukosiliar. Pada beberapa tahun belakangan ini penelitian tentang bakteri pada rinosinusitis kronis melaporkan nilai positif sebanyak 32,5% sampai 96%. Hal ini mengindikasikan hubungan antara rinosinusitis kronis dengan bakteri. Beberapa peneliti mengemukakan bahwa biofilm adalah penyebab yang umum terjadinya infeksi persisten kronis.²

Biofilm adalah komunitas mikroba dalam bentuk sesil yang ditandai dengan sel-sel yang secara *irreversible* melekat pada substratum atau satu sama lainnya, dan tertanam dalam matriks substansi polimer ekstraseluler (EPS) yang dihasilkannya, serta menunjukkan perubahan fenotip berhubungan dengan tingkat pertumbuhan dan transkripsigen.³⁻⁵ Peran biofilm sebagai etiologi utama pada rinosinusitis kronis dapat membantu menjelaskan manifestasi klinis dari penyakit tersebut. Pada rinosinusitis kronis perubahan mukosa mengakibatkan kondisi yang baik untuk pertumbuhan biofilm. Jika biofilm terbentuk maka dapat menyebabkan

resistensi terhadap pertahanan tubuh (*host*) dan terapi eksternal, akibat keberadaan antigen yang terus-menerus ada dan perkembangan proses inflamasi kronis.^{6,7}

Melalui berbagai macam teknik pencitraan, biofilm dapat ditemukan pada mukosa sinonasal pasien rinosinusitis kronis.⁸ Biofilm juga dihubungkan dengan sinusitis dan gejala klinis yang lebih buruk. Temuan ini direplikasikan pada studi terbaru dan didapati pasien rinosinusitis kronis dengan biofilm positif memiliki skor gejala klinis yang lebih buruk secara signifikan dibandingkan dengan biofilm negatif.⁴

Beberapa teknik pemeriksaan biofilm mempunyai kelebihan masing-masing. Baku emas untuk mengidentifikasi adanya biofilm saat ini adalah *confocal laser scanning microscopy* yang digunakan bersamaan dengan *fluorescent in-situ hybridization* (FISH).⁹ Namun, peralatan ini tidak murah dan tidak tersedia luas. Akan tetapi, karena didapati beberapa bukti bahwa biofilm berperan penting dalam banyak penyakit kronis, maka penting untuk dapat mengidentifikasi dengan metode yang lebih mudah dan murah. Ketersediaan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE) yang luas dalam laboratorium patologi klinik membuatnya menjadi metode yang sangat praktis untuk mendeteksi biofilm dalam praktik klinis.¹⁰

Hong dkk¹¹ dalam penelitiannya terhadap 55 orang pasien rinosinusitis kronis mendeteksi biofilm menggunakan pewarnaan

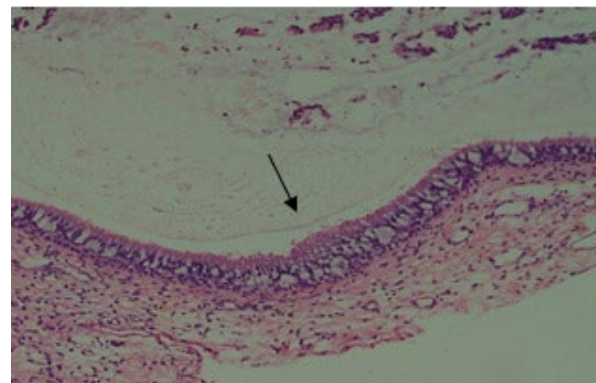
HE dan menyimpulkan bahwa pewarnaan HE dapat menjadi metode yang praktis dan murah. Toth dkk¹² dalam penelitiannya terhadap 50 pasien rinosinusitis kronis dan 12 kelompok kontrol menyimpulkan bahwa pewarnaan HE merupakan metode yang kuat dan terpercaya dalam mendeteksi biofilm. Hochstim dkk¹⁰ dalam penelitiannya yang membandingkan antara pemeriksaan dengan pewarnaan HE dengan FISH menyatakan bahwa semua biofilm yang terdeteksi dengan HE juga terdeteksi dengan FISH. Selanjutnya, semua sampel yang biofilm negatif dengan HE juga diklasifikasikan sebagai biofilm negatif dengan FISH. Oleh karena itu, pada penelitian tersebut HE dengan tepat dapat mengidentifikasi keberadaan dari biofilm pada semua kasus, dengan FISH sebagai standar kontrolnya (sensitivitas 78% dan spesifisitas 93%). Pewarnaan HE dapat menjadi alternatif pemeriksaan biofilm.

Penelitian yang dilakukan oleh Ramadan dkk¹³ mengambil spesimen mukosa dari sinus etmoid dan maksila dari 5 kasus yang didiagnosis dengan rinosinusitis kronis, semuanya menunjukkan biofilm positif, yang terlihat di bawah mikroskop elektron dan kebanyakan merupakan biofilm *Staphylococcus aureus*. Semua kasus menunjukkan derajat abnormalitas permukaan mukosa yang berbeda, susunan silia yang tidak teratur atau bahkan tidak ada silia dan sel goblet. Sanclement dkk¹⁴ meneliti 30 pasien rinosinusitis kronis yang menjalani bedah sinus endoskopi fungsional dan 4 kelompok kontrol (3 kasus *septoplasty* dan 1 kasus rinore cairan serebrospinal). Biofilm bakteri dijumpai pada 24 kasus dari kelompok rinosinusitis (80%), sedangkan pada kelompok kontrol tidak dijumpai biofilm. Zhang dkk¹⁵ meneliti 12 spesimen mukosa pasien rinosinusitis kronis, yang menunjukkan angka biofilm positif sebanyak 83,3% dan biofilm tersebut dijumpai pada semua fase yaitu perlekatan, perkembangan, dan pelepasan.

Laporan kasus ini bertujuan untuk mempresentasikan ekspresi biofilm bakteri pada penderita rinosinusitis kronis yang menjalani tindakan bedah sinus endoskopi fungsional dan dapat menjadi data dasar mengenai biofilm pada penderita rinosinusitis kronis di Sumatera Utara.

LAPORAN SERIAL KASUS

Kasus diambil dari beberapa rumah sakit di Sumatera Utara, yaitu di Rumah Sakit Haji Adam Malik, Rumah Sakit Haji Mina, dan Rumah Sakit Grand Medistra selama bulan Januari – Desember 2016. Didapati sebanyak 33 pasien dengan rinosinusitis kronis yang menjalani tindakan bedah sinus endoskopi fungsional.



Gambar 1. Sampel biofilm positif dengan kelompok bakteri basofilik kecil pada permukaan epitel (panah)

Tabel 1. Karakteristik pasien

Karakteristik	N (%)
Jenis kelamin	
Pria	19 (57,6)
Wanita	14 (42,4)
Umur (tahun)	37,67
Lama gejala (bulan)	27,91
Biofilm (+)	22 (66,7)
Gejala klinis	
Hidung tersumbat	31 (93,9)
Sekret hidung	25 (75,8)
Nyeri wajah	22 (66,7)
Penciuman berkurang	17 (51,5)
Polip	12 (36,4)

Pada saat operasi, mukosa sinus maksila dan atau sinus etmoid semua pasien diambil menggunakan forceps lalu difiksasi dalam formalin 4% selama 48 jam. Kemudian, diwarnai dengan HE menggunakan prosedur patologi standar. Tatacara pemeriksaan dengan pewarnaan HE dilakukan sebagai berikut: 1) melakukan deparafinisasi potongan mukosa dalam xylene (2x5 menit) dan direhidrasi secara berturut-turut selama 1 menit dicuci dengan ethanol 100%, 96%, 80%, dan 70%; 2) memberi pewarnaan dengan hematoksilin selama 2 menit, dicuci dengan air suling, dicuci dengan asam hidroklorida 0,1% dalam 50% etanol, dicuci dengan air selama 15 menit lalu diwarnai dengan eosin selama 1 menit, dan dicuci kembali dengan air suling; 3) melakukan dehidrasi pada *slide* dengan etanol 95% dan 100% secara berurutan diikuti dengan xylene (2x5 menit) dan ditutup dengan *coverslip*; 4) menganalisis *slide* dengan mikroskop cahaya Olympus Cx19 Jerman dengan pembesaran 20 dan 40 kali.

Dengan pewarnaan HE rutin, biofilm tampak sebagai bentuk yang *irreguler* dari kelompok bakteri basofilik kecil, substansi ekstrapolimer, dan sisa eritrosit dan leukosit yang terperangkap pada permukaan epitel. Sampel diklasifikasikan menjadi, biofilm positif bila terdapat keterlibatan permukaan mukosa yang dianalisis (gambar 1) dan biofilm negatif bila tidak ada keterlibatan permukaan mukosa yang dianalisis.

Karakteristik pasien meliputi umur, jenis kelamin, lama gejala, ada atau tidaknya biofilm, ada atau tidaknya polip, serta gejala klinis (hidung tersumbat, sekret pada hidung, nyeri wajah, dan penciuman berkurang). Homogenitas pasien tercantum pada tabel 1.

RUMUSAN MASALAH

Berapa besar prevalensi biofilm positif pada mukosa pasien dengan rinosinusitis kronis.

METODE

Pencarian literatur melalui Pubmed dengan kata kunci: *chronic rhinosinusitis and biofilm* didapatkan 9 literatur. Didapati 4 literatur dari 9 literatur dengan tingkat pembuktian tertinggi yaitu telaah sistematis. Setelah dilakukan penelusuran lebih lanjut terhadap 4 literatur tersebut, hanya diambil 2 literatur karena 1 literatur berbahasa Mandarin dan 1 literatur hanya abstrak saja. Literatur yang dianalisis adalah literatur yang ditulis oleh Keir dkk⁷ dan Mahdavinia dkk.¹⁶ Penilaian kritis pada makalah ini akan diterapkan pada kedua literatur tersebut. Penilaian kritis dilakukan berdasarkan *validity, importance, dan applicability* yang dirangkum pada tabel 2.

HASIL

Keir dkk,⁷ menganalisis 11 studi yang memeriksa formasi biofilm pada sampel mukosa yang diambil dari pasien rinosinusitis kronis. Prevalensi biofilm positif pada 11 studi tersebut bervariasi antara 31–100% dengan angka rerata berkisar 61,5%. Studi ini juga menyatakan bahwa standar baku emas untuk identifikasi biofilm adalah *confocal laser scanning microscopy* yang dikombinasikan dengan proses *fluorescent in situ hybridization*. Dikarenakan heterogenitas demografis subyek penelitian dan ada studi yang dilakukan di sentra tersier, maka Keir dkk⁷ tidak membuat analisis statistik, hal ini juga dikarenakan adanya potensi bias.

Mahdavinia dkk,¹⁶ menganalisis 11 studi yang memeriksa biofilm pada sampel mukosa yang diambil pada pasien rinosinusitis kronis. Prevalensi biofilm positif berkisar antara 58–100% dengan angka rerata 72,5%. Studi ini juga menyimpulkan bahwa bakteri *Staphylococcus* merupakan penyebab terbanyak biofilm positif pada kasus rinosinusitis kronis. Ragam bakteri pada rinosinusitis kronis cukup bervariasi dikarenakan penggunaan antibiotik dan letak pengambilan mukosa berbeda-beda. Mahdavinia dkk¹⁶ juga tidak menampilkan demografis subyek penelitian.

Tabel 2. Penilaian kritis berbasis bukti

	Kriteria	Keir dkk ⁷	Mahdavinia dkk ¹⁶
Validity	Apakah dilakukan randomisasi terhadap pemilihan intervensi terhadap pasien dan apakah proses randomisasi dirahasiakan?	Tidak	Tidak
	Apakah semua pasien diikutsertakan dalam studi?	Ya	Ya
	Apakah evaluasi lanjutan (<i>follow-up</i>) sudah cukup?	-	-
	Apakah semua pasien dianalisis berdasarkan prinsip <i>intention-to-treat</i> ?	-	-
	Apakah peneliti di"buta"kan terhadap pilihan intervensi?	Tidak	Tidak
	Apakah karakteristik kelompok pasien serupa pada awal studi?	Ya	Ya
	Di luar intervensi yang diberikan, apakah kelompok-kelompok yang diteliti mendapat perlakuan yang sama?	Ya	Ya
Importance	Seberapa besar efek intervensi?	Ya	Ya
	Seberapa tinggi presisi estimasi efek intervensi?	Ya	Ya
	Apakah pasien dalam studi ini serupa dengan pasien pada sentra praktik saya?	Ya	Ya
Applicability	Apakah keluaran pada studi ini bersifat relevan secara klinis?	Ya	Ya
	Apakah kemampuan bedah saya serupa dengan ahli bedah pada studi ini?	-	-

DISKUSI

Dari penelitian Keir dkk⁷ dan Mahdavinia dkk¹⁶, dijumpai prevalensi biofilm positif pada penderita rinosinusitis kronis adalah 61,5% dan 72,5%. Angka kejadian biofilm positif bervariasi antara 31–100% pada kedua telaah sistematis di atas.

Analisis biofilm pada penelitian ini, menggunakan pewarnaan HE karena pemeriksaan standar emas seperti *confocal laser scanning microscopy* maupun *fluorescent in situ hybridization* tidak ada di Sumatera Utara. Ketersediaan pewarnaan HE yang luas dalam laboratorium patologi klinik membuatnya menjadi metode alternatif untuk mendeteksi biofilm.¹⁰

Pada seri kasus ini rerata usia penderita rinosinusitis kronis adalah 37 tahun, dimana lebih sering mengenai pria dibandingkan wanita dengan rasio 1, 36:1. Hidung tersumbat (93,9%) merupakan gejala klinis yang paling

sering dijumpai, diikuti oleh sekret hidung (75,8%). You dkk,² mendapati rasio laki-laki dibandingkan wanita adalah 1, 7:1 dengan gejala yang paling sering dijumpai adalah hidung tersumbat (96,7%). Keir dkk⁷ tidak menampilkan data demografis karena 11 studi yang mereka amati memiliki data yang heterogen. Mahdavinia dkk¹⁶ juga tidak menampilkan data demografis.

Telah dipresentasikan 33 seri kasus rinosinusitis kronis, dengan prevalensi biofilm positif adalah 66,7%. Kesimpulan yang dapat diambil dari laporan ini adalah dikarenakan besarnya jumlah kasus *biofilm* positif pada penderita rinosinusitis kronis dan tidak adanya faktor yang dapat dipakai untuk memprediksi kejadian *biofilm* maka sebaiknya pemeriksaan *biofilm* dilakukan secara rutin untuk penderita rinosinusitis kronis yang menjalani tindakan bedah sinus endoskopi fungsional.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C. Chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps. *Rhinology Official Journal of the European and International Societies*. 2012; 50(23):55-109.
2. You H, Zhuge P, Li D, Shao L, Shi H, Du H. Factors affecting bacterial biofilm expression in chronic rhinosinusitis and the influences on prognosis. *American Journal of Otolaryngology – Head and Neck Medicine and Surgery*. 2011; 32(6):583-90.
3. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8(9):881-90.
4. Foreman A, Psaltis AJ, Tan LW, Wormald PJ. Characterization of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology and Allergy*. 2009; 23(6):556-61.
5. Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis*. 2011; 15(4):305-11.
6. Harvey RJ, Lund VJ, 2007. Biofilm and chronic rhinosinusitis: systematic review of evidence, current concepts and directions for research. *Rhinology*. 2007; 45(1):3-13.
7. Keir J, Pedelty L, Swift AC. Biofilm in chronic rhinosinusitis: systematic review and suggestions for future research. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2011; 125(4):331-7.
8. Ferguson BJ, Stolz DB. Demonstration of biofilm in human bacterial chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology*. 2005; 19(5):452-7.
9. Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol*. 2006; 24(1):25-9.
10. Hochstim CJ, Choi JY, Lowe D, Masood R, Rice, DH. Biofilm detection with hematoxylin-eosin staining. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010; 136(5):453-56.
11. Hong SD, Dhong HJ, Chung SK., Kim HY, Park JO, Ha SY. Hematoxylin and eosin staining for detecting biofilms: practical and cost-effective methods for predicting worse outcomes after endoscopic sinus surgery. *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*. 2014; 7(3):193-7.
12. Toth L, Csomor P, Sziklai I, Karosi T. Biofilm detection in chronic rhinosinusitis by combined application of hematoxylin-eosin and gram staining. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2011; 268(10):1455-62.
13. Ramadan HH, Sanclement JA, Thomas JG. Chronic rhinosinusitis and biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005; 132(3):414-7.
14. Sanclement JA, Webster P, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2005; 115(4):578-82.
15. Zhang Z, Li YC, Han Y. Evidence of bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Chin J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2008; 43:840-4.
16. Mahdavinia M, Keshavarzian A, Tobin MC, Landay AL, Schleimer RP. A comprehensive review of the nasal microbiome in chronic rhinosinusitis (CRS). *Clinical & Experimental Allergy*. 2016; 46(1):21-41.