

## Artikel Penelitian

# Akurasi Pemeriksaan *Lateral Flow Assay Cryptococcal Antigen Serum* Dalam Penegakan Diagnosis Meningitis Kriptokokus *Lateral Flow Assay Cryptococcal Antigen Examination Accuracy In Establishing Diagnosis Of Cryptococcal Meningitis*

**Janice Tandraeliene, Maria Astika Dewi, Nadia Maretti, Dimas Seto Prasetyo**

Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/KSM Mikrobiologi Klinik RSUPN Dr Cipto Mangunkusumo Jakarta

Korespondensi ditujukan kepada Dimas Seto Prasetyo; [dimas.seto01@ui.ac.id](mailto:dimas.seto01@ui.ac.id)

Editor Akademik: Dr. dr. Gea Pandhita, M.Kes, Sp.S

Hak Cipta © 2022 Dimas Seto Prasetyo dkk. Ini adalah artikel akses terbuka yang didistribusikan di bawah Creative Commons Attribution License, yang mengizinkan penggunaan, distribusi, dan reproduksi tanpa batas dalam media apa pun, asalkan karya aslinya dikutip dengan benar.

### ABSTRACT

**Introduction:** *Cryptococcosis is an infection caused by Cryptococcus, with the main pathogen is Cryptococcus neoformans. This mainly infects immunocompromised patient, e.g people living with HIV/AIDS. The gold-standard for diagnosis is culturing from cerebrospinal fluid (CSF) but this technique is time-consuming. Few centers have resources (e.g neurologist) to perform lumbar puncture and patients may have certain contraindication for lumbar puncture, e.g elevated intracranial pressure. There will be a need of simple and less invasive diagnostic method, such as cryptococcal antigen detection using lateral flow assay (LFA).*

**Aim:** *The objective of this evidence-based case report is to compare the cryptococcal antigen LFA from serum in establishing cryptococcal meningitis with conventional culture method from CSF.*

**Methods:** *Article searching was conducted in Pubmed database (MEDLINE), Embase, and Wiley Online Library. Article screening was done by 3 researcher, using inclusion and exclusion criteria, and examination of article completeness. The full article was also examined for answering the clinical question.*

**Result:** *We found 2 articles from the database and 1 systematic review from google scholar which fulfilled eligibility criteria. The 2 articles were already included in the systematic review so the critical review was only conducted to the systematic review article. The report showed that the cryptococcal antigen detection using LFA from serum yielded a relatively high sensitivity and specificity (97,9% and 89,5% respectively)*

**Conclusion:** *The accuracy of cryptococcal antigen detection from serum using LFA in establishing cryptococcal meningitis in HIV patient was comparable to conventional CSF culture.*

**Keywords:** *cryptococcal meningitis, lateral flow assay*

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Cryptococcosis adalah infeksi jamur yang disebabkan oleh Cryptococcus, dengan Cryptococcus neoformans sebagai patogen utama. Penyakit ini merupakan ancaman bagi pasien immunocompromised. Baku emas yang digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme ini adalah kultur cairan serebrospinal (CSS) namun pemeriksaan ini membutuhkan waktu yang cukup lama. Selain itu tidak semua fasilitas kesehatan memiliki sarana untuk melakukan analisis CSS dan adanya beberapa keadaan yang menjadi kontraindikasi dilakukannya pungsi lumbal membuat diagnosis akhir menjadi sulit. Diperlukan metode diagnostik yang lebih mudah dilakukan, dengan harga yang terjangkau, dan hasil yang lebih cepat di dapat seperti deteksi Antigen Kriptokokus (CrAg) pada serum dengan Lateral Flow Assay (LFA).

**Tujuan:** EBCR ini membandingkan akurasi pemeriksaan LFA Cryptococcal antigen pada serum dalam menegakkan diagnosis meningitis kriptokokus dibandingkan dengan metode kultur cairan serebro spinal.

**Metode:** Penelusuran artikel dilakukan di pangkalan data Pubmed (MEDLINE), Embase dan Wiley Online Library. Skrining artikel dilakukan oleh tiga peneliti, menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi, mengecek kelengkapan artikel, serta membaca artikel keseluruhan untuk mendapatkan artikel yang sesuai dan dapat menjawab pertanyaan klinis yang diajukan.

**Hasil:** Dari hasil penelusuran didapatkan dua artikel dari database dan 1 artikel dari googlescholar yang memenuhi kriteria eligibilitas, dua artikel yang didapatkan dari database sudah tercakup di dalam systematic review, sehingga telaah kritis dilakukan pada satu artikel systematic review tersebut. Hasil dari artikel tersebut adalah LFA CrAg serum memiliki sensitivitas yang cukup tinggi 97,9% dan spesifisitas sedang 89,5%.

**Kesimpulan:** Akurasi deteksi antigen Cryptococcus dalam serum dengan LFA pada penderita HIV untuk mendiagnosis meningitis Cryptococcus cukup baik dibandingkan dengan metode kultur CSF.

**Kata Kunci:** *lateral flow assay, meningitis kriptokokus*

## 1. Pendahuluan

Meningitis kriptokokus merupakan radang selaput meninges akibat infeksi jamur *Cryptococcus neoformans*.<sup>[1]</sup> Infeksi ini sering dialami oleh penderita dengan sistem imun rendah seperti penderita *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS). Insiden meningitis kriptokokus 223.100 kasus setiap tahunnya dan paling banyak ditemukan pada daerah Afrika dan Asia Tenggara. Dengan tingkat kematian per tahun mencapai 40 – 70%. Di Indonesia sejak tahun 2004 insidensi meningitis kriptokokal pada penderita AIDS meningkat seiring dengan penambahan pasien AIDS. Diperkirakan insiden meningitis kriptokokus terkait HIV di Indonesia sebesar 6600 kasus per tahun. Prevalensi meningitis kriptokokus pada penderita HIV tahun 2018 dilaporkan sebesar 7,1% di Bandung dan 7,3% di Surabaya.<sup>[1,2]</sup>

Beberapa strategi diagnostik yang tersedia untuk mendiagnosis meningitis kriptokokus antara lain biakan dari spesimen cairan serebrospinal pada medium Sabouraud Dextrose Agar (SDA) atau Bird Seed Agar (BSA) merupakan baku emas diagnosis meningitis kriptokokus. Akan tetapi, teknik ini memerlukan sekitar 7-10 hari untuk identifikasi dan hitung jumlah kuantitatif. Pemeriksaan mikroskopis menggunakan tinta India merupakan metode paling sederhana tetapi sensitivitasnya agak rendah (<86%) dan bahkan menurun 42% jika jumlah koloni jamur kurang dari 1000 colony forming unit (CFU/mL) pada kultur kuantitatif. Saat ini, hasil deteksi antigen *Cryptococcus* (AgCr) dengan lateral flow assay (LFA) mulai direkomendasikan, di mana pemeriksaan ini memiliki kelebihan stabil pada suhu ruang, memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, biaya lebih terjangkau, dan memberikan hasil cepat kurang lebih 10 menit. Deteksi AgCr dapat dilakukan pada CSS maupun darah. AgCr dapat terdeteksi di darah dalam kurun waktu berminggu-minggu hingga berbulan-bulan sebelum timbul gejala meningitis kriptokokus.<sup>[2,3]</sup> Adapun perbedaan CrAg dengan kultur dapat dilihat pada tabel 1.

LFA CrAg	Kultur Kriptokokus
Pemeriksaan serologi dengan mendeteksi antigen kriptokokus.	Pemeriksaan mikrobiologi dengan menumbuhkan mikroorganisme.
Hasil diperoleh dalam waktu 15-30 menit.	Hasil membutuhkan waktu beberapa hari.
Dapat sebagai <i>point of care test</i> .	Dilakukan di laboratorium oleh tenaga terlatih.
Sampel darah vena perifer.	Sampel CSS.
Pengambilan sampel lebih mudah.	Pengambilan sampel harus dengan teknik punksi lumbal.

Berangkat dari latar belakang tersebut, masalah pada EBCR ini dirumuskan dalam pertanyaan penelitian “Bagaimana akurasi LFA *Cryptococcal antigen* serum dalam pemeriksaan diagnosis meningitis kriptokokus dibandingkan dengan metode kultur cairan serebrospinal?”. Tujuan dari penulisan EBCR ini adalah mencari seberapa sensitive dan spesifik metode deteksi antigen kriptokokal serum untuk menegakkan diagnosis meningitis kriptokokus pada pasien HIV.

## 2. Pembahasan

### Ilustrasi Kasus

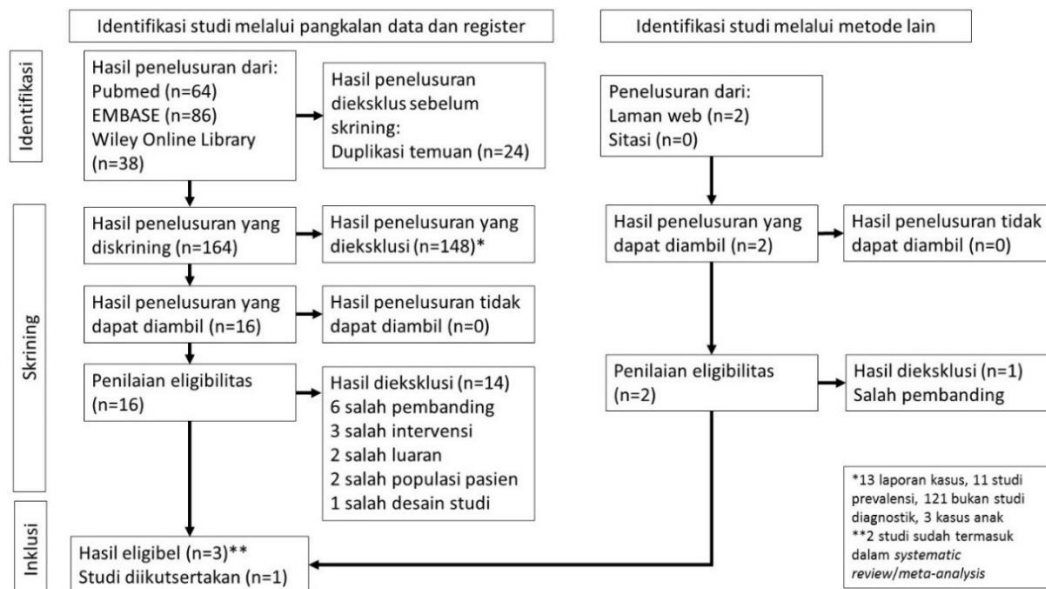
Pasien Tn. X usia 30 thn datang ke poli rawat jalan dengan keluhan demam hilang timbul selama 1 bulan terakhir, penurunan berat badan sekitar 5 kg dalam 1 bulan terakhir, sakit kepala terutama di bagian depan dalam 3 hari terakhir yang tidak hilang dengan obat pereda nyeri, batuk kadang-kadang, cepat lelah, leher terasa pegal, terlihat bingung, nafsu makan menurun dan mual. Tn X. kemudian dirawat dan diperiksa HIV dengan hasil positif, nilai CD4 absolut 80 sel/mm<sup>3</sup>, hasil rontgen thorax normal, dahak TCM (tes cepat molekuler) tuberkulosis tidak ditemukan TB dan pada pemeriksaan CT scan kepala tidak ditemukan gambaran toxoplasmosis. Setelah 3 hari dirawat, kondisi pasien tidak membaik dan kesadaran pasien menurun.

Dokter penanggung jawab pasien (DPJP) mencurigai adanya meningitis kriptokokus dan meminta pemeriksaan kriptokokus dari cairan serebrospinal namun keluarga menolak untuk dilakukan pungsi lumbal terhadap Tn. X. DPJP kemudian berkonsultasi ke bagian mikrobiologi untuk mengetahui metode pemeriksaan lain yang lebih tidak invasif namun akurat dan cepat untuk mengetahui adanya infeksi meningitis kriptokokus.

## 3. Metode

### Strategi Pencarian Literatur

Penelusuran artikel dilakukan melalui pangkalan data PubMed, Embase, dan Wiley Online Library dengan strategi pemilihan artikel seperti yang diuraikan pada Tabel 2. Selain dari ketiga pangkalan data tersebut, kami juga melakukan penelusuran pada google scholar. Penelusuran artikel dilakukan pada tanggal 18 Oktober 2021 dengan menggunakan beberapa kata kunci yang sesuai dengan pertanyaan klinis yang meliputi *Adult*, HIV, *Cryptococcal Meningitis*, LFA (*lateral flow assay*), *Cryptococcal antigen* (CrAg) yang dikombinasikan menggunakan boolean operators AND dan OR. Kata kunci yang digunakan berupa *Mesh*, *title/abstract* dan *text word*. Artikel yang di dapat dari hasil penelusuran (Tabel 1) tiga database yang berbeda bersama dengan artikel yang didapatkan dengan metode *handsearching* dilakukan skrining secara bertahap sesuai diagram alir (Gambar 1).



Gambar 1. Alur Prisma Flowchart

Skrining pertama adalah dengan mengeksklusi duplikasi artikel yang ditemukan dari strategi pencarian yang berbeda. Skrining kedua dilakukan dengan membaca judul dan abstrak serta mengeksklusi berdasarkan kriteria inklusi, kriteria eksklusi, ditelaah oleh tiga peneliti sehingga didapatkan 16 artikel yang

harus ditelaah lebih lanjut dan dilakukan pencarian artikel lengkapnya. Dari 16 artikel tersebut, kami memilih satu artikel yang sesuai untuk menjawab pertanyaan klinis dari *evidence-based case report* (Tabel 1).

Tabel 2. Metode dan hasil strategi penelusuran artikel

Database	Strategi pemilihan artikel	Hasil pencarian	Artikel yang dipilih
PubMed	((((((((cryptococcal meningitis[MeSH Terms]) OR (cryptococcal meningitis[Title/Abstract])) OR (adult[Title/Abstract])) OR (adult[MeSH Terms])) OR (Cerebral Cryptococcosis[MeSH Terms])) OR (Cerebral Cryptococcosis[Title/Abstract])) OR (HIV[MeSH Terms])) OR (HIV[Title/Abstract])) AND ((LFA cryptococcal antigen[Title/Abstract]) OR (LFA cryptococcal antigen[MeSH Terms]))	64	2
Embase	('cryptococcal meningitis':ab,ti OR 'cryptococcal meningitis'/exp OR 'cryptococcus meningitis':ab,ti OR 'cryptococcus meningitis'/exp OR 'cryptococcus neoformans meningitis':ab,ti OR 'cryptococcus neoformans meningitis'/exp OR 'hiv-associated cryptococcal meningitis':ab,ti OR 'aids-associated cryptococcal meningitis':ab,ti OR 'cryptococcal meningitis in aids patients':ab,ti OR 'cryptococcal meningitis in hiv patients':ab,ti OR 'hiv-associated cryptococcal meningitis'/exp OR 'aids-associated cryptococcal meningitis'/exp OR 'cryptococcal meningitis in aids patients'/exp OR 'cryptococcal meningitis in hiv patients'/exp) AND 'cryptococcal antigen'/exp	86	0
Wiley Online Library	"HIV OR "Cryptococcal meningitis"" in Abstract and ""Cryptococcal antigen" OR "Lateral Flow assay"" in Abstract	38	0

HIV: *human immunodeficiency virus*; LFA: *lateral flow assay*

**Kriteria Eligibitas**

Artikel yang ditelaah harus berupa studi diagnostik meta-analisis/*systematic review* dan studi diagnostik potong lintang. Populasi studi adalah pasien HIV dewasa dengan suspek meningitis kriptokokus. Pada populasi tersebut dilakukan pemeriksaan LFA CrAg dari darah dan kultur kriptokokus dari cairan serebro spinal.

Analisis keakuratan LFA CrAg didapatkan dengan membandingkan kedua metode tersebut sehingga didapatkan nilai sensitivitas dan spesifisitas metode LFA CrAg. Artikel yang tidak memiliki naskah lengkap, tidak ada artikel dalam bahasa inggris

ataupun studi yang masih berupa protokol penelitian tidak diikutsertakan dalam telaah.

**Telaah Kritis**

Telaah kritis dilakukan menggunakan *Oxford CEBM diagnostic tools* untuk studi diagnostik potong lintang dan *Oxford CEBM systematic review tools* untuk studi *systematic review/meta-analysis*. Studi-studi tersebut kemudian dinilai berdasarkan level of evidence menggunakan *OCEBM Levels of Evidence Working Group "The Oxford 2011 Levels of Evidence"* (Tabel 2).

Tabel 3. Telaah Kritis dan Penilaian *Level of Evidence*

Study	Validity								Importance	Applicability	Level of Evidence	
	Does the systematic review address a focused question (PICO)?	outcomes of interest	interventions or exposures and	should specify the patients,	The eligibility criteria used	relevant evidence?	Did the search find all the	Have the studies been critically appraised?				Did they only include high quality studies?
Elvis T, 2021	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	LFA CrAg serum sensitivity 97.9%(87.9-100), specificity 89.5% (74.3 - 98.5), PPV 98%, NPV 99.5%, LR+ 9.3, LR- 0.02	Yes	1

LFA: lateral flow assay; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; LR+: positive likelihood ratio; LR-: negative likelihood ratio

#### 4. Hasil

##### Penelusuran Artikel

Total hasil pencarian pada tanggal 18 Oktober 2021 dari 3 pangkalan data PubMed (n=64), Embase (n=86) dan Wiley online library (n=38) didapatkan 188 artikel. Setelah jurnal yang duplikasi diekskusi, terdapat 164 artikel yang kami lakukan skrining hingga didapatkan 16 artikel untuk dicari artikel lengkapnya. Setelah dilakukan penilaian eligibilitas dari 16 artikel lengkap tersebut, didapatkan 2 jurnal yang relevan (Gambar 1). Dari penelusuran dengan *google scholar* didapatkan 2 artikel lengkap, dimana 1 artikel tidak dapat digunakan karena berbeda comparator. Setelah ditelaah lebih lanjut kedua artikel yang

didapatkan dari database PubMed sudah masuk di dalam pembahasan jurnal *systematic review/ meta-analysis* yang didapatkan dari pencarian dengan google scholar, sehingga kami eksklusikan karena duplikasi. Total artikel yang relevan adalah 1 artikel.<sup>[4]</sup>

##### Karakteristik Literatur

Studi yang relevan terdiri dari 1 studi diagnostik *systematic review/ meta-analysis*. Studi tersebut menggunakan test LFA CrAg serum pada pasien HIV suspek meningitis yang dibandingkan dengan kultur jamur kriptokokokus sebagai baku emas (*gold standard*) disertai nilai sensitivitas dan spesifisitasnya (Tabel 4).

Tabel 4. Karakteristik Literatur

Studi/Artikel	Desain Studi	Populasi	Intervensi	Komparasi	Outcome/Luaran	Hasil Inti
Elvis T, 2021	Systematic review/Meta-analysis	1690 pasien HIV dewasa suspek meningitis kriptokokokus	LFA CrAg serum	Kultur cairan serebrospinal	Akurasi LFA CrAg serum	LFA CrAg serum: sensitivitas 97.9% (97.4-100) & spesifisitas 89.5% (74.3-98.5)

HIV: *human immunodeficiency virus*; LFA: lateral flow assay; CrAg: *Cryptococcal antigen*

Dari studi *systematic review/meta-analysis* yang digunakan didapatkan hanya 3 studi yang menggunakan uji *lateral flow assay* (LFA) CrAg serum dari 11 studi yang dibahas. Dua dari tiga studi tersebut membandingkan hasil uji LFA CrAg serum dengan reference test gabungan sehingga beresiko untuk terjadinya overestimasi dari akurasi test diagnostik LFA CrAg.<sup>[5-7]</sup>

Selain itu, studi-studi yang ada menunjukkan heterogenitas tinggi, kemungkinan karena jumlah sampel, karakteristik populasi yang bervariasi, penggunaan test index yang berbeda metode yaitu LFA dan *latex agglutination* (LA) dan terdapat beberapa studi menggunakan *reference test* gabungan. Pada investigasi heterogenitas di jurnal tersebut dilakukan pengelompokan akurasi yang menggunakan *lateral flow assay* dan *latex agglutination* di serum dan cairan serebro spinal. Hasil yang didapatkan pada serum tidak ada perbedaan statistik yang bermakna dari sensitivitas (p = 0.08) dan spesifisitas (p = 0.14) antara LFA dan LA.<sup>[4]</sup> Untuk mengurangi bias pada studi tersebut dilakukan analisis sensitivitas dengan hanya menggunakan studi-studi yang memiliki risiko bias rendah dan didapatkan akurasi LFA CrAg serum yang cukup tinggi yaitu sensitivitas 97.9% (87.9-100) dan spesifisitas 89.5% (74.3-98.5).<sup>[4]</sup>

Dari salah satu studi yang ada pada artikel sytematic review yang ditelaah didapatkan kemungkinan terjadi false positif dikarenakan adanya antibodi lain yang dapat membuat hasil test menjadi positif, untuk membuktikan hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Selain itu, bagaimana meningkatkan nilai

spesifitas yang ada saat ini juga merupakan salah satu studi yang perlu dilakukan ke depannya.<sup>[6]</sup> Jika dilihat hasil sensitivitas dan spesifisitas yang didapatkan dari masing-masing studi dengan LFA CrAg serum, menunjukkan nilai yang mirip dan konsisten dengan nilai gabungan dari ketiganya. Nilai interval kepercayaan untuk sensitivitas sempit menunjukkan bahwa hasil dari LFA CrAg serum memiliki presisi yang tinggi. Sedangkan untuk nilai kepercayaan pada spesifisitasnya masih cukup lebar dengan demikian memiliki nilai presisi sedang.<sup>[4]</sup>

Perbedaan karakteristik pada populasi HIV perlu menjadi bahan pertimbangan dalam penerapan test LFA CrAg serum ini, meskipun demikian melihat studi-studi diagnostik dari studi *systematic review/ meta-analysis* yang ditelaah dilakukan pada negara berkembang yang umumnya masih memiliki keterbatasan dalam hal fasilitas laboratorium, maka test LFA CrAg serum ini masih relevan untuk dapat diterapkan di Indonesia. WHO sendiri telah merekomendasikan untuk penggunaan rapid CrAg antigen assay untuk mendeteksi kriptokokokus meningitis pada kondisi dimana pengambilan cairan serebro spinal dengan punksi lumbal tidak memungkinkan.<sup>[7,8]</sup>

#### 5. Kesimpulan

Meningitis kriptokokokus memiliki angka mortalitas yang tinggi terutama pada ODHA dengan CD4 rendah. Angka mortalitas ini dapat diturunkan apabila infeksi meningitis kriptokokokus dapat

dideteksi lebih awal dan segera diberikan terapi antifungal. Pada praktek sehari-hari, dimana tidak semua fasilitas kesehatan memiliki sarana untuk menganalisis cairan serebro spinal dan pada keadaan sulit dilakukan pungsi lumbal, dibutuhkan alat diagnostik dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi, mudah, cepat, tidak memerlukan petugas khusus, serta dapat dilaksanakan di klinik maupun *bedside*.

Berdasarkan *evidence-based* dari artikel yang telah ditelaah, didapatkan sensitivitas LFA CrAg serum yang sangat tinggi, sehingga bila didapatkan hasil test negatif maka kemungkinan besar pasien tersebut tidak terinfeksi kriptokokus. Nilai spesifisitas LFA CrAg serum yang didapatkan cukup baik, pada situasi dimana tidak dapat dilakukan pungsi lumbal seperti pada laporan kasus ini, LFA CrAg serum tetap dapat direkomendasikan sebagai alat diagnostik dan hasilnya dapat menjadi pertimbangan untuk memulai terapi anti jamur. Nilai sensitivitas yang sangat tinggi menunjukkan test ini lebih direkomendasikan sebagai alat skrining dan sebagai *point of care test* pada layanan HIV, sehingga deteksi lebih lanjut dan pengobatan terhadap meningitis kriptokokus dapat dilakukan lebih awal.

## 6. Daftar Pustaka

- [1] Williamson PR, Jarvis JN, Panackal AA, Fisher MC, Molloy SF, Loyse A, dkk. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2017; 13:13
- [2] Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, dkk. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an update analysis. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17:873-81
- [3] Rajasingham R, Wake RM, Beyene T, Katende A, Letang E, Boulware DR. Cryptococcal meningitis diagnostic and screening in the era of point of care laboratory testing. *J Clin Microbiol*. 2019;57: e01238-18
- [4] Temfack E, Rim JJB, Spijker R, Loyse A, Chiller T, Pappas PG, dkk. Cryptococcal Antigen in Serum and Cerebrospinal Fluid for Detecting Cryptococcal Meningitis in Adults Living with Human Immunodeficiency Virus: Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies. *Clin Infect Dis*. 2021; 72:1268-78.
- [5] Williams DA, Kiiza T, Kwizera R, Kiggundu R, Velamakanni S, Meya DB, dkk. Evaluation of fingerstick cryptococcal antigen lateral flow assay in HIV-infected persons: a diagnostic accuracy study. *Clin Infect Dis an Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2015.
- [6] Mpoza E, Mukaremera L, Kundura DA, Akampurira A, Luggya T, Tadeo KK, dkk. Evaluation of a point-of-care immunoassay test kit “StrongStep” for cryptococcal antigen detection. *PLoS One*. 2018;13(1): e0190652.
- [7] Ssebambulidde K, Bangdiwala AS, Kwizera R, Kandole TK, Tugume L, Kiggundu R, dkk. Symptomatic Cryptococcal Antigenemia Presenting as Early Cryptococcal Meningitis with Negative Cerebral Spinal Fluid Analysis. *Clin Infect Dis*. 2019;68(12):2094–8.
- [8] World Health Organization. Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-infected adults, adolescents, and Children. 2018. Hal.1–40