

Profil Pemeriksaan Fragilitas Osmotik Eritrosit di RS. Dr. Sardjito

Osmotic Fragility Test Eritrosit in Dr. Sardjito Hospital

Adang Muhammad, Usi Sukorini

Bagian Patologi Klinik FK. Universitas Gadjah Mada/RS. Dr. Sardjito, Yogyakarta

Abstract

Osmotic fragility test (OFT) is performed to differentiate anemia diagnose with erythrocyte physical changing. In thalassemia and hemolytic anemia, OFT probably gave variation results that can cause erroneous anemia etiology tracing. Aims of this research are to describe the OFT profile and its comparison with peripheral blood morphology in thalassemia and hemolytic anemia. The method, this retrospective study was conducted in Dr. Sardjito hospital at January 2002 to June 2004. Chi-Square test was used to compare thalassemia and hemolytic anemia proportion in the OFT groups. OFT results from 61 subjects were : increasing 17 (27,8%), increasing-decreasing 17 (27,8%), decreasing 15 (24,4%), and normal 12 (20%). There were significantly difference proportions in thalassemia group between decreasing OFT to increasing and normal OFT ($p=0,005$; $p=0,002$), but no difference to increasing-decreasing group. In hemolytic anemia group, the difference proportion found significantly between increasing OFT to normal, increasing-decreasing and decreasing OFT ($p=0,03$; $p=0,005$; $p=0,000$, respectively). In increasing-decreasing OFT group, there was no difference in type anemia ($p=0,32$). Morphologically, target cell was found in 81% of thalassemia, and spherocyte in 70% of hemolytic anemia. In Dr. Sardjito Hospital, OFT gave variation profile and in Thalassemia and hemolytic anemia groups, morphology evaluation are needed to confirm OFT results.

Key words: Osmotic Fragility test, Thalassemia, hemolytic anemia

Abstrak

Latar Belakang: Pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit (FOE) ini dilaksanakan untuk membantu diagnosis banding beberapa jenis anemia dengan sifat fisik eritrosit berubah. Aplikasi klinis, Talasemia dan anemia hemolitik memberikan hasil bervariasi sehingga dapat menimbulkan kesalahan interpretasi dalam melacak jenis maupun etiologi anemia. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui variasi hasil FOE dan kesesuaian gambaran morfologi darah tepi pada talasemia dan anemia hemolitik. Penelitian retrospektif ini dilakukan menggunakan data rekam medik. Subyek adalah pasien yang diperiksa fragilitas osmotik eritrositnya di laboratorium Patologi Klinik RS. Dr. Sardjito antara Januari tahun 2002 sampai dengan Juni 2004. Uji Chi-square terhadap proporsi talasemia dan anemia hemolitik pada kelompok hasil FOE. Dari 61 subyek, variasi hasil FOE meliputi : peningkatan fragilitas 17 (27,8%), penurunan fragilitas 17 (24,4%), campuran peningkatan dan penurunan 15 (27,8%) dan normal 12 (20%). Terdapat perbedaan bermakna proporsi talasemia kelompok penurunan FOE terhadap kelompok peningkatan FOE ($p=0,005$) dan FOE normal ($p=0,002$), namun tidak berbeda bermakna dengan hasil campuran penurunan dan peningkatan fragilitas ($p=0,26$). Terdapat perbedaan bermakna proporsi anemia hemolitik pada kelompok dengan peningkatan FOE terhadap kelompok normal FOE, campuran penurunan dan peningkatan FOE dan penurunan FOE ($p=0,03$; $p=0,005$; $p=0,000$). Tidak terdapat perbedaan bermakna proporsi jenis anemia pada hasil campuran penurunan dan peningkatan FOE ($p=0,32$). Gambaran morfologi darah tepi pada kelompok talasemia, 81% memiliki sel target dan pada kelompok anemia hemolitik, 70% memiliki sel sferosit. Hasil FOE di RS Dr. Sardjito menunjukkan gambaran variasi. talasemia maupun anemia hemolitik membutuhkan konfirmasi morfologi darah tepi untuk meninjau kesesuaiannya.

Kata kunci: Test Osmotic Fragility, Thalassemia, hemolytic anemia

Pendahuluan

Tes fragilitas osmotik merupakan pengukuran kemampuan eritrosit untuk menyerap cairan tanpa mengalami lisis. Pemeriksaan ini dilaksanakan untuk membantu diagnosis banding beberapa jenis anemia yang mana sifat fisik eritrosit berubah. Faktor primer yang mempengaruhi Tes fragilitas Osmotik adalah bentuk sel yang tergantung pada volume, luas permukaan membran dan kondisi fungsional membran sel eritrosit.^{1,2,3,4}

Permukaan sel membran yang lebih luas akan meningkatkan kemampuannya untuk menyerap cairan sebelum mengalami lisis. Keadaan ini menunjukkan peningkatan resistensi atau penurunan FOE. Bentuk sel target yang memiliki area permukaan membran yang luas akan menyerap banyak cairan sebelum mengalami lisis. Sebaliknya bentuk sel sferosit yang memiliki area permukaan membran lebih sempit akan sedikit menyerap air sebelum mengalami lisis. Kondisi yang terakhir disebut penurunan resistensi atau peningkatan FOE.^{1,2,5}

Penurunan FOE dijumpai pada penyakit anemia sickle cell, pasca splenektomi, penyakit hepar, anemia defisiensi besi, talasemia, polisitemia vera dan pada keadaan dimana terdapat sel target. Peningkatan FOE dijumpai pada penyakit anemia hemolitik dan spherositosis hereditas, dan pada keadaan dimana terdapat bentuk sel spherosit.^{1,2,4,5}

Hasil pemeriksaan FOE memberikan gambaran kurva yang harus dibandingkan dengan range kurva normal. Peningkatan FOE akan memberikan gambaran kurva bergeser ke sebelah kanan sedangkan penurunan FOE akan memberikan gambaran kurva bergeser ke sebelah kiri dibandingkan range kurva normal.^{2,4} Adanya hasil FOE dengan pergeseran kekiri, kekanan maupun tidak adanya pergeseran akan memberikan kontribusi penunjang diagnosis penyakit pasien. Dalam pelaksanaan pemeriksaan FOE di RS Dr. Sardjito dijumpai hasil yang berbeda dari yang diharapkan. Penerapan klinis menyebabkan hasil FOE sulit dipahami dalam mendukung pelacakan jenis anemia. Diperlukan penelitian mengenai profil hasil FOE yang telah dilaksanakan terhadap diagnosis akhir jenis anemia serta tinjauan gambaran morfologi darah tepi.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil hasil pemeriksaan FOE, mengetahui hasil FOE pada talasemia dan anemia hemolitik dan meninjau kesesuaian morfologi darah tepinya. Manfaat yang diharapkan untuk membantu klinisi dalam menginterpretasi hasil FOE secara proporsional dalam mendukung pelacakan jenis anemia dan memberikan pertimbangan yang luas dalam menggunakan alat bantu diagnosis konfirmasi lainnya.

Bahan dan Cara

Penelitian menggunakan desain retrospektif menggunakan data sekunder rekam medik. Subyek merupakan pasien yang diperiksa FOE di laboratorium Patologi

Klinik RS. Dr. Sardjito dari bulan Januari 2002 sampai dengan Bulan Juni 2004. Pemeriksaan FOE dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat dan fotometri.⁶

Kriteria inklusi meliputi : terdapat diagnosis akhir jenis anemia berdasar diagnosis baku (Status Besi, Elektroforesis Hemoglobin, Biopsi/Aspirasi sumsum tulang, Coomb's, tes tes fungsi hati, tes fungsi ginjal), memiliki data morfologi darah tepi. Eksklusi dilakukan bila ditemukan bentuk kurva yang tidak teratur.

Rujukan normal Pemeriksaan FOE berdasarkan prosedur tetap Pengenceran bertingkat pada tiap-tiap tabung tertera sebagaimana lampiran 1.^{1,2,6}

Uji Chi-Square dilakukan terhadap proporsi Talasemia dan anemia hemolitik pada kelompok hasil FOE. Kesalahan analisa statistik dikerjakan pada nilai $\alpha:0,05$, batas kemaknaan kurang dari 0,05 dan interval kepercayaan 95% diolah menggunakan SPSS versi 11. Tinjauan morfologi darah tepi dilakukan pada talasemia, anemia hemolitik dan masing-masing hasil FOE yang berbeda dengan pembobotan morfologi eritrosit yang ditulis lebih awal pada tulisan hasil pemeriksaan diasumsikan memiliki jumlah yang dominan dibanding sesudahnya. Morfologi eritrosit yang diperkirakan mempengaruhi peningkatan fragilitas adalah bentuk sferosit dan fragmentosit sedangkan yang diperkirakan mempengaruhi penurunan fragilitas adalah sel target, sel hipokromik dan sel muda.^{1,3}

Hasil dan Pembahasan

Jumlah subyek yang dilakukan pemeriksaan FOE dan memenuhi kriteria inklusi serta eksklusi sejak bulan Januari 2002 sampai bulan Juni 2004 sebanyak 61. Terdiri atas 34 laki-laki (56%) dan 27 wanita (44%), 34 usia anak-anak (usia 2 bulan – 14 tahun) dan 27 usia dewasa (17 - 65 tahun) (tabel 1). Rata-rata kadar Hemoglobin sebesar 6,2 gr/dl dengan kadar terkecil 2,2 gr/dl dan kadar terbesar 11,0 gr/dl. Gambaran hasil FOE meliputi: 17 sampel dengan peningkatan FOE (27,8%), 17 sampel dengan campuran antara peningkatan dan penurunan FOE (27,8%), 15 sampel penurunan FOE 17 (24,4%), dan 12 sampel dengan FOE normal (20%) (tabel 2). Hasil FOE campuran antara peningkatan dan penurunan FOE menyilang pada konsentrasi NaCl 0,35% sampai dengan 0,45%. Berbeda dengan kemungkinan hasil FOE literatur sehingga menyulitkan interpretasi. Lebih jauh mengenai hal ini dibahas dalam tinjauan morfologi darah tepi.

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian

No.	Subyek Penelitian	Jumlah	%
1.	Jenis Kelamin		
	• Laki-laki	34	56
	• Perempuan	27	44
2.	Usia (tahun)		
	• 0-1	10	16
	• 1-14	24	39
	• 14-60	25	40
	• >60	2	5
3.	Bangsai		
	• Penyakit Anak	34	56
	• Penyakit Dalam	27	44

Tabel 2. Hasil Fragilitas Osmotik Eritrosit

No.	Hasil FOE	Jumlah	%
1.	Peningkatan	17	27,8
2.	Peningkatan dan penurunan	17	27,8
3.	Penurunan	15	24,4
4.	Normal	12	20

Dari 22 pasien Talasemia didapatkan: penurunan fragilitas 45,5%, campuran peningkatan fragilitas dan penurunan 36,4%, peningkatan fragilitas 13,6%, normal 4,5%. Jenis talasemia meliputi talasemia mayor, intermedia dan minor yang masing-masing memiliki hasil bervariasi. Secara statistik terdapat perbedaan bermakna proporsi talasemia kelompok penurunan FOE terhadap kelompok peningkatan FOE ($p=0,005$) dan FOE normal ($p= 0,002$), namun tidak berbeda bermakna dengan hasil campuran penurunan dan peningkatan fragilitas ($p= 0,26$) (tabel 3,4). Hasil FOE Talasemia memberikan kecenderungan peningkatan resistensi eritrosit (7,8,9,10), meskipun ada beberapa hasil menyimpang.

Tabel 3. Hasil FOE pada Talasemia

No.	Subyek Penelitian	Jumlah	%
1.	Penurunan	10	45,5
2.	Peningkatan dan penurunan	8	36,4
3.	Peningkatan	3	13,6
4.	Normal	1	4,5

Tabel 4. Proporsi Talasemia pada Masing-masing Kelompok Hasil FOE

No.	Hasil FOE	Proporsi Talasemia
1.	Penurunan	0,66
2.	Peningkatan dan penurunan	0,47
3.	Peningkatan	0,17
4.	Normal	0,08

Dari 17 pasien Anemia hemolitik didapatkan peningkatan FOE 64% dan campuran penurunan dan maupun peningkatan FOE 18%, dan FOE normal 18%.

Jenis anemia hemolitik meliputi *Auto immune Hemolytic Anemia*, defisiensi G6PD, dan anemia hemolitik berhubungan dengan infeksi. Secara statistik terdapat perbedaan bermakna proporsi anemia hemolitik pada kelompok dengan peningkatan FOE terhadap kelompok normal FOE, campuran penurunan dan peningkatan FOE dan penurunan FOE ($p=0,03$; $p=0,005$; $p=0,000$) (tabel 5,6).

Hasil FOE Anemi hemolitik menunjukkan kecenderungan peningkatan fragilitas eritrosit^{10,11,12,13,14} meskipun terdapat beberapa penyimpangan hasil.

Tabel 5. Hasil Fragilitas Osmotik Eritrosit pada Anemia Hemolitik

No.	Hasil FOE	Jumlah	%
1.	Peningkatan	11	64
2.	Peningkatan dan penurunan	3	18
3.	Normal	3	18
4.	Penurunan	0	0

Tabel 6. Proporsi Anemia Hemolitik pada Masing-masing Kelompok Hasil FOE

No.	Hasil FOE	Proporsi Anemia Hemolitik
1.	Peningkatan	0,64
2.	Normal	0,25
3.	Peningkatan dan penurunan	0,17
4.	Penurunan	0

Jenis anemia pada hasil campuran antara peningkatan dan penurunan FOE meliputi talasemia, anemia defisiensi besi, dan anemia hemolitik. Meski kasus talasemia lebih tinggi dibanding jenis lainnya (anemia defisiensi besi dan anemia hemolitik), proporsi ketiga jenis anemia tidak memiliki perbedaan bermakna ($p=0,32$) (tabel 7).

Tabel 7. Proporsi Jenis Anemia pada Hasil Campuran Peningkatan dan Penurunan FOE

No.	Jenis Anemia	Jumlah
1.	Talasemia	8
2.	Anemia Defisiensi Besi	6
3.	Anemia Hemolitik	3

Morfologi darah tepi pada masing-masing hasil FOE menunjukkan bahwa peningkatan FOE memiliki dominasi bentuk sel spherosit (82%) dan sel fragmen (53%). Penurunan FOE memiliki dominasi bentuk sel target (100%), sel hipokromik (100%), sel muda (60%). Hasil campuran peningkatan dan penurunan FOE memiliki gabungan bentuk dominasi sel dengan kecenderungan lisis dan resisten yaitu sel hipokromik (94%), sel target (88%), sel muda 47%, sel fragmen (70%). Disini nampak bahwa hasil tersebut terjadi dikarenakan adanya sel yang bersamaan mendominasi namun memiliki sifat fisik yang berlawanan terhadap pemeriksaan FOE. FOE normal memiliki sedikit sel dengan kecenderungan lisis maupun resisten (tabel 8). Hasil FOE menunjukkan kesesuaian dengan morfologi darah tepi.^{3,10}

Variasi hasil FOE pada talasemia maupun anemia hemolitik disebabkan adanya morfologi sel-sel dengan kecenderungan memiliki peningkatan maupun penurunan fragilitas terdapat pada kedua jenis anemia tersebut secara bersamaan. Meskipun

talasemia cenderung memiliki morfologi sel berupa sel target namun pada beberapa sample memiliki sel sferosit maupun sel fragmen. Sebaliknya pada anemia hemolitik memiliki sel dengan kecenderungan lisis namun juga memiliki sel yang cenderung resisten seperti sel target (tabel 9,10). Keberadaan sel-sel yang memiliki sifat fisik berbeda dari kecenderungan hasil FOE jenis anemia tertentu mengakibatkan hasil FOE berbeda dari yang diharapkan.

Tabel 8. Morfologi Darah Tepi pada Masing-masing Hasil FOE

No.	Hasil FOE	Sel Target %	Sel Sferosit %	Sel Fragmen %	Sel Muda %	Hipo Kromik %
1.	Peningkatan	18	82	53	35	12
2.	Penurunan	100	0	27	60	100
3.	Peningkatan-penurunan	88	5	70	47	94
4.	Normal	17	17	25	25	33

Tabel 9. Morfologi Darah Tepi Talasemia pada Masing-masing Hasil FOE

No.	Hasil FOE	Jml.	Sel Target	Sel Sferosit	Sel Fragmen	Sel Muda	Hipo kromik
1.	Penurunan	10	10	0	4	5	10
2.	Peningkatan-penurunan	8	7	1	4	2	7
3.	Peningkatan	3	1	3	3	0	0
4.	Normal	1	0	0	0	0	0

Tabel 10. Morfologi Darah Tepi Anemia Hemolitik pada Masing-masing Hasil Foe

No.	Hasil FOE	Jml.	Sel Target	Sel Spherosit	Sel Fragmen	Sel Muda	Hipo kromik
1.	Peningkatan	11	0	10	3	6	2
2.	Normal	3	1	2	3	1	1
3.	Peningkatan- penurunan	3	2	1	3	3	3
4.	Penurunan	0	0	0	0	0	0

Kelompok talasemia (talasemia Mayor, Intermedia dan minor) memiliki morfologi darah tepi bentuk sel target sebanyak 81 % dari seluruh anemia jumlah talasemia yang terjadi pada talasemia mayor, intermedia maupun minor. Bentuk spherosit sebanyak 19% (dari keseluruhan talasemia) yang terjadi pada talasemia mayor dan minor. Bentuk campuran sel target dan spherosit sebesar 9,5% (dari seluruh talasemia) terjadi pada talasemia mayor dan minor. Terdapat gambaran morfologi tanpa bentuk sel target maupun spherosit pada talasemia mayor dan minor (9,5%) (lampiran 2). Ditunjukkan bahwa talasemia pada umumnya memiliki morfologi sel target.^{1,2,3,4,5,7} Namun terdapat sejumlah perkecualian adanya sel yang cenderung lisis.

Kelompok anemia hemolitik meliputi memiliki morfologi darah tepi bentuk spherosit sebesar 70% (dari seluruh anemia hemolitik) yang terjadi pada anemia spherositosis, AIHA, defisiensi G6PD dan yang berhubungan dengan infeksi. Bentuk sel target sebesar 17,6% (dari seluruh anemia hemolitik) yang terjadi pada defisiensi G6PD dan yang berhubungan dengan infeksi. Campuran bentuk spherosit dan sel target sebesar 5,8% yang terjadi pada jenis defisiensi G6PD (lampiran 3). Ditunjukkan bahwa anemia hemolitik pada umumnya memiliki bentuk spherosit.^{1,2,3,4,5,7} Namun terdapat sejumlah perkecualian adanya bentuk sel target.

Sumber penyimpangan hasil FOE dapat disebabkan oleh faktor pre-analitik, analitik maupun post-analitik meliputi : pengambilan sample yang terlalu cepat, sampel tertunda pemeriksaannya, penentuan konsentrasi NaCl, pemipetan sample, suhu ruang, spektrofotometer dan pelaporan hasil.¹³ Upaya pengendalian mutu pemeriksaan FOE telah dilakukan sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan di RS. Dr. Sardjito. Metode pemeriksaan FOE dengan inkubasi merupakan cara yang dapat ditempuh meningkatkan mutu pemeriksaan FOE.^{1,2,3}

Penelitian ini memiliki banyak kekurangan meliputi desain retrospektif terhadap data sekunder, jumlah sampel yang terbatas dan pendekatan diagnosis yang bersifat praktis serta sarana penunjang diagnostik yang terbatas. Adanya penyakit yang terjadi secara bersamaan pada seorang penderita dapat memberikan gambaran morfologi darah tepi yang tidak khas untuk penyakit tertentu yang mendasarinya.

Simpulan dan Saran

Variasi hasil pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit di RS Dr. Sardjito meliputi penurunan, peningkatan, campuran penurunan dengan peningkatan, dan normal. Meskipun memiliki kecenderungan penurunan FOE pada Talasemia atau peningkatan FOE pada anemia hemolitik, keduanya memiliki hasil bervariasi. Morfologi darah tepi diperlukan untuk meninjau kesesuaian hasil FOE.

Pelacakan jenis maupun etiologi anemia membutuhkan konfirmasi penunjang diagnostik lain yang luas tanpa terpaku atas hasil FOE.

Daftar Pustaka

1. Stiene- Martin EA, Lotspeich-Steininger CA, Koepke JA, 1998. *Clinical Haematology Principles, Procedures, Correlatoinis*, 2nd ed. Lippincot Philadelphia, New York, 193-265.
2. Kjeldsberg CR, 1995. *Practical Diagnosis of Hematologic Disorders*, 2th ed American Society of Clinical Pathologists, Chicago Illinois, 109-162
3. Brown BA, 1993 . *Hematology Principles and Procedures*, 6th ed. Lippincot Williams and Walkins, Philadelphia, 174-180.
4. Hoffbrand AU, Pettit JE, 1992. *Kapita Selektta Hematologi*. EGC, Jakarta.
5. Dacie JV, Lewis SM, 1991. *Practical Haematology*, 7th ed. Churchill Livingstone Edinburgh London, Melbourne and New York, 175-256.
6. Anonim. 2004. *Prosedur Tetap Pemeriksaan Sub Hematologi*. Instalasi Patologi Klinik RS. Dr. Sardjito.
7. Ronald A. Sacher, Richard A. Mc Pherson , 2004 *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium* , Edisi 11 EGC Jakarta, 82-108.
8. Suphan Soogarun, Viroj Wiwanitkit, Jamsai Suwansakri, Nara Paritpokee, 2004. *The Prevalence of Fragile Red Cell for Talasemia*. Department of Clinical Microscopy, Faculty of Allied Health Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
9. E. Setoudeh Maram, Mohtasram Amiri, M. Haghshenas 2000. *Effectiveness of Osmotic Fragility Screening with varying saline Concentration in Detecting δ - Talasemia Trait*. *Iran Jornal Mediciae Science* 25 (1&2). 56-58.
10. Sanjay Kumar, 2002. *An Analogy for Explaining Erythrocyte Fragility :Concepts made easy*, *Advances in Physiologi Education* – June.
11. Giger Urs , 2000. *Regenerative Anemias Caused by Blood Loss of hemolysis*, "Textbook of Veterinary Internal Medicine, S.J. Ettinger an E.C. Felman, ed. Philadelphia , PA Saunders.

12. Elghctany and Davey FR, 1996. Erythrocyte Disorders. In Clinical Diagnosis and management by Laboratory Methods, 19 ed. JB Henry, ed, Philadelphia : WB Saunders Co, 634.
13. Gladen BE, Luicens JN , 1999. Hereditary Spherocytosis and Other Anemias oe to Abnormalities of the Red Cell Membrane. In Wintrobe's Clinical Hematology. 10th ed. Baltimore , William and Wilkins, p 1132-1159.
14. Gallagher PG, Jarolin P, 2000. Red cell membrane disorder. In Hematology: Basic Principles and Practise. 3rd New York Churchill Livingstone, p 576-610.
15. Mazon et al . Theoretical Approach of The Measurement of Osmotic Fragility of Erythrocytes by Optical transmissions . Journal : Photochemistry and Photobiology Volume 72 Issue: 2 Pages: 172-178.

*Mejapa
abstrak ini
sangat baik*