

Vol. 17, No. 1 November 2010

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 17	No. 1	Hal. 1-60	Surabaya November 2010	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-----------	---------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 43/DIKTI/Kep/2008, Tanggal 8 Juli 2008

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**SUSUNAN PENGELOLA MAJALAH INDONESIAN JOURNAL OF
CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY**

Pelindung (Patron)

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Penasehat (Advisor)

Prof. Hardjoeno, dr., Sp.PK(K)
Prof. Siti Budina Kresna, dr, Sp.PK(K)
Dr. R. Darmawan Setijanto, drg, M.Kes

Penelaah Ahli/Mitra Bestari (Editorial Board)

Prof. Dr. Indro Handoko, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. J B Soeparyatmo, dr, Sp.PK(K)
Prof. Riadi Wirawan, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. A A G Sudewa, dr, Sp.PK(K)
Prof. Tiki Pang, PhD
Prof. Marzuki Suryaatmadja, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. Rustadi Sosrosuhardjo, dr, DMM, MS, Sp.PK(K)
Prof. Rahayuningsih Dharma, dr, Sp.PK(K), DSc

Penyunting Pelaksana (Managing Editors)

Prof. Dr. Prihatini, dr, Sp.PK(K), Prof. Adi Koesoema Aman, dr, Sp.PK(K), Yuli Kumalawati, dr, DMM, Sp.PK(K),
Lia Gardenia Partakusuma, dr, Sp.PK(K), MM; Dr. Ida Parwati, dr, Sp.PK(K), PhD; Dr. FM Yudayana, dr, Sp.PK(K),
Prof. Dr. Krisnowati, drg, Sp.Pros, Tahono, dr, Sp.PK(K), Nurhayana Sennang Andi Nanggung, dr, M.Kes, DMM, Sp.PK,
Osman Sianipar, dr, DMM, MS, Sp.PK(K), Dr. Sidarti Soehita, FHS, dr, MS, Sp.PK(K), Purwanto AP, dr, Sp.PK,
Dr. Jusak Nugraha, dr, MS, Sp.PK(K); Endang Retnowati, dr, MS, Sp.PK(K), Dr. Aryati, dr, MS, Sp.PK(K),
Puspa Wardhani, dr, Sp.PK, Bastiana, dr, Maimun Zulhaiddah Arthamin, dr, M.Kes, Sp.PK,
Sulistyo M. Agustini, dr, Sp.PK(K), Dr. Noormartany, dr, Sp.PK(K), MSI

Pelaksana Tata Usaha

Ratna Ariantini, dr, Sp.PK, Leonita Aniwati, dr, Sp.PK(K), Yetti Hernaningsih, dr, Sp.PK:
Tab. Siklus Bank Jatim Cabang RSU Dr. Soetomo Surabaya; No AC: 0323551651,
Tabungan Mandiri KCP SBY PDAM; No. AC: 142-00-0743897-0
Email:majalah.ijcp@yahoo.com (PDSPATKLIN Cabang Surabaya),
Bendahara PDSPATKLIN Pusat, RS PERSAHABATAN, Jl. Persahabatan Raya no 1, Jakarta Timur 13230,
Tlp. 62-021-4891708, Fax. 62-021-47869943
Email: pds_patklin@yahoo.com

Alamat Redaksi (Editorial Address)

Departemen/Laboratorium Patologi Klinik RSU Dr. Soetomo Gedung Diagnostik Terpadu Lantai 4 RSUD Dr. Soetomo
Jl. Prof. Dr. Moestopo 6-8 Surabaya Tlp/Fax. (031) 5042113, Fax (031) 5042113, Email: majalah.ijcp@yahoo.com

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Air Kemih (Urin) Bereosinofil dengan Dugaan Radang Sela Ginjal Mendadak/Nefritis Interstisial Akut (NIA) <i>(Urine Eosinophil in Acute Interstitial Nephritis (AIN))</i>	1-4
Felly G Sahureka, Fitriani Mangarengi, Uleng Bahrun	
Resistensi terhadap Methicillin (<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> di Instalasi Rawat Inap <i>(Methicillin Resistant on Staphylococcus aureus at Hospital Ward)</i>	5-8
Wildana, Nurhayana Sennang, Benny Rusli.....	
Uji Kesahihan (Validitas) Pemeriksaan <i>D-Dimer</i> Cara Menyaring Kekebalan (Metode Imunofiltrasi) dan Cara Mengukur Imunoturbidimetri <i>(The Validity Examination D-Dimer Assay Between Immunofiltration Method and Immunoturbidimetric Method)</i>	9-11
David Rustandi, Delita Prihatni, Tiene Rostini, Nina Tristina	
Aktivitas Fosfolipase-A ₂ Sekretoris Plasma Trombositopenia Demam Berdarah Dengue <i>(Plasma Secretory Phospholipase-A₂ Activity in Thrombocytopenic Dengue Haemorrhagic Fever)</i>	12-20
Endang Retnowati K.,* Wiyanda Hidayati S, Liana	
Profil Virus Dengue di Surabaya Tahun 2008-2009 <i>(Dengue Virus Profile in Surabaya From 2008-2009)</i>	21-24
Aryati, Puspa Wardhani.....	
Korelasi antara <i>Neuron-Specific Enolase Serum</i> dan <i>Glasgow Coma Scale</i> di Pasien Cedera Kepala <i>(Correlation Between Serum Neuron-Specific Enolase and Glasgow Coma Scale in Traumatic Head Injury)</i>	25-31
Usi Sukorini, Isti Setijorini Wulandari, Budi Mulyono, Handoyo Pramusinto	
Nilai Batas Antigen NS1 Dengue Kuantitatif sebagai Prediktor Keparahan Jangkitan/Tularan (Infeksi) Virus Dengue Anak <i>(Cut off Value Dengue Quantitative NS1 Antigen as Predictor Severity of Dengue Viral Infection in Children)</i>	32-37
Betty A Tambunan, Aryati, D Husada	
Peran Polimorfisme Gen Interferon- γ (IFNG) pada Fenotip Histologi Nefritis Lupus <i>(The Role of γ-Interferron Gene (IFNG) Polymorphism in Phenotype Histology Lupus Nephritis)</i>	38-43
Kusworini Handono.....	

TELAAH PUSTAKA

Pengangkaan (Kuantifikasi) Periksaan Pulasan Gram Di Berbagai Jenis Bahan Pemeriksaan <i>(Quantification of Gram Staining on Various Specimens)</i>	44-50
Adhi Kristianto Sugianli, Ida Parwati	

LAPORAN KASUS

<i>Flaming Cells</i> Di <i>Multiple Myeloma</i> <i>(Flaming Cells in Multiple Myeloma)</i>	51-57
Nursin Abd. Kadir, Hj. Darmawaty E.R, Mansyur Arif.....	

INFO LABORATORIUM MEDIK TERBARU

TELAAH PUSTAKA

PENGANGKAAN (KUANTIFIKASI) PERIKSAAN PULASAN GRAM DI BERBAGAI JENIS BAHAN PEMERIKSAAN

(*Quantification of Gram Staining on Various Specimens*)

Adhi Kristianto Sugianli, Ida Parwati

ABSTRACT

In a clinical microbiology laboratory the Gram staining is used to classify bacteria on the basis of their forms, sizes, cellular morphologies, and Gram reactions. Additionally it is a critical test for rapid presumptive diagnosis of infectious agents and serves to assess the quality of clinical specimens. Several methods of Gram staining quantification are already applied: Canadian Coalition for Quality in Laboratory Medicine (CCQLM), Clinical Microbiology Proficiency Testing (CMPT), and World Health Organization (WHO). Each method consists of several criteria for quantification and its interpretation, such as neutrophil cell (polymorphonuclear cells), squamous epithelial cell, and number of microorganisms. Those methods aren't limited in sputum specimen, but also could be used for other specimen such as urine, vaginal discharge, and other body fluids. These methods are also could be used as screening for specimen before it is continued into further testing. Even though there is several limitation for each method, quantification method of Gram staining could be provide better diagnostic value in microbiology laboratory as an early detection in the examination to get better diagnosis as well as treatment.

Key words: Gram staining, Quantification

ABSTRAK

Pemeriksaan pulasan Gram merupakan pemeriksaan identifikasi bakteri berdasarkan bentuk, ukuran, morfologi secara selular dan reaksi pulasan. Peranan pulasan Gram dalam laboratorium mikrobiologi adalah sebagai pemeriksaan awal dalam mendiagnosis suatu infeksi (presumptif) dan melakukan penilaian kualitas bahan pemeriksaan. Beberapa metode kuantifikasi dan interpretasi pulasan Gram telah diterapkan, yaitu berdasarkan Canadian Coalition for Quality in Laboratory Medicine (CCQLM), Clinical Microbiology Proficiency Testing (CMPT), dan World Health Organization (WHO). Kriteria penilaian kuantifikasi dan interpretasi pulasan Gram meliputi sel neutrofil (polymorphonuclear cells), sel epitel skuamos serta mikroorganisme yang ditemukan. Penerapan metode yang tersedia tidak terbatas hanya pada bahan pemeriksaan sputum saja, namun dapat diterapkan pada berbagai jenis bahan pemeriksaan lain seperti urin, sekret vagina, dan cairan tubuh lain. Metode kuantifikasi ini bermanfaat pula sebagai skrining atau penilaian awal kualitas bahan pemeriksaan sebelum dilakukan pemeriksaan lanjutan. Meskipun setiap metode yang telah diterapkan memiliki keterbatasan, namun metode kuantifikasi pulasan Gram ini dapat memberikan nilai diagnostik yang lebih baik dalam perannya sebagai pemeriksaan awal guna mendapatkan diagnosis dan pengobatan yang tepat.

Kata kunci: Pulasan Gram, Kuantifikasi

PENDAHULUAN

Pulasan Gram merupakan periksaan mikroskopis awal yang handal di laboratorium mikrobiologi untuk setiap bahan pemeriksaan yang dikaji, karena hasil periksaan pulasan Gram dapat menjelaskan (informasi) hal yang penting bagi para peklinik perkara/hal terkait penyebab infeksi. Untuk kepentingan klinis, banyak peklinik memercayakan hasil menafsirkan/tafsiran (interpretasi) pulasan Gram sebagai titik awal diagnosis di berbagai kasus, sehingga hasil tafsiran harus memiliki kenasaban (korelasi) dengan hasil biakan (kultur) yang dilakukan sebagai penetapan

(konfirmasi) lebih lanjut. Oleh sebab itu, pembakuan tafsiran periksaan pulasan Gram harus dikembangkan, sehingga dapat diterima dan digunakan oleh seluruh laboratorium mikrobiologi klinik.¹

Tujuan pengangkaan (kuantifikasi) pemeriksaan pulasan Gram

Pengangkaan (kuantifikasi) periksaan pulasan Gram bertujuan untuk menilai mutu (kualitas) bahan periksaan yang dikaji, sehingga bahan periksaan tersebut termasuk layak atau tidak untuk diperiksa dengan kultur, selain menilai mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pemeriksaan tersebut.¹⁻³

* Korespondensi (correspondence): Dr. Ida Parwati, dr., SpPK(K), PhD., idaparwati2008@gmail.com, Adhi Kristianto S., dr., adhi1682@yahoo.co.id

Penilaian kelayakan bahan periksaan, dengan pulasan Gram menjadi dasar penentu langkah selanjutnya dalam pengelolaan bahan pemeriksaan. Dengan demikian hasil memeriksa (periksaan) pulasan Gram dan biakan dapat menafsirkan hasil yang berkesesuaian serta bernilai diagnostik tinggi untuk peklinik dalam menentukan langkah pengobatan (terapi). Namun, pengangkaan ini belum dapat digunakan untuk menentukan derajat keparahan penyakit yang terjadi. Sistem pengangkaan yang ada saat ini lebih menekankan untuk kepentingan pengambilan bahan pemeriksaan yang baik untuk menghasilkan periksaan dan biakan yang berkesesuaian untuk membantu diagnosis penyakit yang terjadi dan pelaksanaan pengobatannya.^{1-3,7}

Panduan pengangkaan (kuantifikasi) periksaan pulasan Gram

Pedoman penilaian kuantifikasi periksaan pulasan Gram telah diterapkan oleh beberapa institusi seperti:

1. *Canadian Coalition for Quality in Laboratory Medicine* (CCQLM)
2. *Clinical Microbiology Proficiency Testing* (CMPT)
3. *World Health Organization* (WHO)

Sistem kuantifikasi ini memerlukan pengambilan bahan periksaan yang baik dan benar supaya menghasilkan periksaan mikroskopis dan biakan yang berkesuaian.^{4,18}

Panduan pengangkaan (kuantifikasi) berdasarkan CCQLM (angka Q)

Tabel 1. Sistem memberi angka Q (Q score) untuk penilaian kualitas sputum¹

Jenis dan Jumlah Sel dalam LPK (x100)	angka Q
Neutrofil:	
< 10	0
10-25	+1
>25	+2
Lendir (mukus)	+1
Sel kulit bertatah (epitel skuamous):	
10-25	-1
>25	-2

Syarat dan patokan (kriteria) menggunakan angka Q:^{1,3,4,10}

Bahan periksaan sputum ditolak untuk diperiksakan lebih lanjut bila sistem penilaian angka (pemberian angka) bernilai "0" atau kurang.

Perhitungan angka Q (Q score):

1. Pemeriksaan jenis dan jumlah sel dalam dahak (sputum) untuk menentukan mutu (kualitas)-nya

dilakukan sekurang-kurangnya dalam 20 lapangan pandang.

2. Setiap lapang pandang dinilai sesuai sistem pemberian angka.
3. Nilai angka akhir diperoleh berdasarkan rumus: jumlah angka per lapang pandang yang dihitung dibagi dengan jumlah lapang pandang yang diperiksa.
4. Sistem pemberian angka ini hanya dapat diterapkan untuk dahak (sputum) yang berasal dari penderita dewasa (>14 tahun).

Cara lain memperhitungkan angka Q untuk menilai bahan pemeriksaan diterima atau ditolak untuk mengkaji lebih lanjut adalah dengan menggunakan tolok ukur (parameter) sel epitel bertatah (skuamous) sebagai dasar patokan penilaian. Penilaian dilakukan dengan cara:

1. Menghitung sel epitel skuamous dalam 20 sampai 40 lapang pandang kecil (LPK) ($100\times$) dan hasil hitungan direratakan, sehingga diperoleh jumlah sel per lapang pandang.
2. Bahan periksaan ditolak untuk dikaji lebih lanjut jika hasil penghitungan rerata sel epitel skuamous ≥ 10 sel per LPK, sedangkan patokan bahan pemeriksaan diterima untuk dikaji lebih lanjut, yaitu bila sel epitel skuamous < 10 sel per LPK.
3. Patokan penerimaan bahan pemeriksaan untuk dibiakkan berdasarkan angka Q adalah bila jumlah sel PMN berjumlah 10 kali dari jumlah sel epitel, disertai bakteri yang dijumpai dengan derajat (3+)/jumlah sedang sampai derajat (4+)/jumlah banyak.

Tabel 2. Sistem memberi angka untuk penilaian mutu bahan pemeriksaan selain sputum dan sekret vagina¹

Sel epitel atau PMN		Mikroorganisme (Bakteri, Jamur)	
Pemerian (deskripsi)	Jumlah/ LPK	Pemerian (deskripsi)	Jumlah/ LPB
1+, Jarang	< 1	1+, Jarang	< 1
2+, Sedikit	1-10	2+, Sedikit	1-10
3+, Sedang	11-25	3+, Sedang	11-25
4+, Banyak	> 25	4+, Banyak	> 25

* Keterangan:

- LPK = pembesaran $100\times$; LPB = pembesaran $1000\times$ dengan minyak emersi.
- Penghitungan jumlah sel dilakukan dalam 10 lapang pandang

Syarat dan patokan angka Q untuk bahan pemeriksaan lain selain dahak (sputum) dan sekret vagina:^{1,10}

Penilaian dilakukan dengan memeriksa seluruh daerah hapusan pulasan Gram dengan menggunakan pembesaran $100\times$ untuk mendeteksi adanya sel radang/inflamasi (sel PMN dan epitel) dan

dilanjutkan dengan pembesaran 1000× dengan menggunakan minyak emersi untuk mendeteksi mikroorganisme.

Yang termasuk bahan pemeriksaan selain sputum dan sekret vagina adalah usapan: tenggorok, selaput mata (konjungtiva), nanah (pus) abses atau luka, cairan otak (serebrospinal) dan cairan tubuh lainnya.

Pedoman pengangkaan (kuantifikasi) berdasarkan CMPT

Tabel 3. Sistem memberi angka untuk pelaporan periksaan pulasan Gram^{2,3}

Angka (skor)	Pemerian (deskripsi)	Jumlah per LPB (1000×)	
		Sel	Bakteri
1+	Jarang	< 1	< 1
2+	Sedikit	1–5	2–10
3+	Sedang	6–10	11–50
4+	Banyak	> 10	> 50

* Pemeriksaan dilakukan sekurang-kurangnya dalam 10 lapang pandang

Syarat dan patokan memberi angka CMPT:²⁻⁴

Yang dimaksud dengan sel pada perhitungan sistem pemberian angka ini adalah meliputi sel epitel dan sel polimorfonuklear (PMN).

Pelaporan:

Secara semikuantitatif, yaitu dengan melaporkan derajat angka yang diperoleh (1+, 2+, 3+, 4+), atau

kuantitatif, yaitu dengan menyebutkan jumlah setiap epitel, sel PMN dan bakteri yang ditemukan dengan pembesaran 1000x menggunakan minyak emersi.

Berdasarkan hasil telitian dengan menerapkan sistem pemberian angka berdasarkan CMPT diperoleh simpulan, sebagai berikut:

1. Bila dijumpai jumlah sel neutrofil lebih dari 25/LPK, jumlah sel epitel kurang dari 10/LPK dan banyak dijumpai kuman kokus Gram positif dengan susunan seperti rantai atau berpasangan (derajat 4+), maka bahan periksaan tersebut dapat digunakan untuk pemeriksaan pembedakan atau memadai (adekuat) untuk dibiakkan.
2. Bahan pemeriksaan yang telah diuji-cobakan pada penelitian tersebut adalah sputum.

Panduan pemeriksaan pulasan Gram untuk dahak (sputum) menurut WHO

WHO menyarankan bahan pemeriksaan sputum yang layak untuk diperiksa pulasan Gram adalah bagian yang bernanah (purulen) atau lendir bernanah (mukopurulen) dari dahak tersebut. Syarat yang diterapkan sebagai patokan penolakan membiakkan bahan periksaan sputum adalah jika bahan pemeriksaan diperoleh dari sel neutrofil kurang dari 10 per sel epitel atau angka banding (rasio) sel neutrofil (polimorfonuklear) terhadap sel epitel skuamous (P/S) < 10:1. Metode lain yang dapat dijadikan acuan diagnostik cepat untuk peklinik, yaitu jika diperoleh hasil pulasan Gram sebagai berikut:¹⁰⁻¹²

Tabel 4. Perkiraan penafsiran (interpretasi presuntif) bakteri pulasan Gram untuk bahan pemeriksaan sputum¹²

Gram	Bentuk	Susunan	Perkiraan penafsiran (interpretasi presuntif) Bakteri
Positif	Kokus	Pasangan kokus, yang diselubungi kapsul	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Negatif	Kokobasil kecil	–	<i>Haemophilus Influenzae</i>
Negatif	Kokus	Pasangan kokus, dalam sel (intraseluler) atau di luar sel (ekstraseluler)	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Positif	Kokus	Berbentuk rangkaian buah anggur	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Negatif	Batang	–	<i>Enterobacteriaceae</i> atau <i>Pseudomonas spp.</i>
Positif	Sel mirip ragi (<i>Yeast-like cells</i>) berukuran besar	Disertai adanya talus jamur (miselium)	<i>Candida spp.</i>
Negatif	Kokus	Diplokokus	<i>Neisseria spp.</i>
Positif	Batang	Diphtheroid	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>

Tabel 5. Kuantifikasi pemeriksaan pulasan Gram dalam menilai kualitas sputum untuk pembiakan didasari beberapa telitian

No	Telitian	Bahan pemeriksaan	Simpulan
1	Manolito L. Chua dkk. (1996)	Sputum	Bahan periksaan yang memadai (adekuat) dan sesuai untuk dibiakkan (-kulturkan) adalah bahan periksaan yang mengandung lekosit > 25/LPK dan sel epitel bertatah (skuamous) < 10/LPK
2	Amir Gal-Oz dkk. (2004)	Sputum	Mutu (kualitas) bahan periksaan sputum dinilai sebagai: a. Penjelasan (informatif), bila jumlah lekosit (PMN) > 25/LPK dan sel epitel bertatah (skuamous) < 10/LPK. b. Menjelaskan (semi-informatif), bila jumlah lekosit (PMN) > 25/LPK atau sel epitel bertatah (skuamous) < 10/LPK. c. Tidak memberi informasi, bila jumlah lekosit (PMN) < 25/LPK dan sel epitel bertatah (skuamous) > 10/LPK. Untuk butir (a) & (b) dinilai cocok untuk dibiakkan (dikulturkan). Butir (c) dinilai sebagai BUKAN SPUTUM.
3	Leonardo Gilberto dkk. (2008)	Sputum	Kesahihan (validitas) bahan periksaan sputum untuk dibiakkan bila ditemukan sel epitel < 10/LPK dan jumlah lekosit (PMN) > 25/LPK dari pemeriksaan mikroskopis. Penilaian untuk biakan (kultur) dianggap sahih/benar bila memiliki kesesuaian dengan hasil periksaan mikroskopis.
4	Pirali dkk. (1994)	Sputum dan Aspirasi Bronkus	Pengangkaan (kuantifikasi) bahan pemeriksaan dinilai terbaik (optimal) untuk dibiakkan bila ditemukan jumlah lekosit > 25/LPK dan sel epitel skuamous < 10/LPK.

Panduan pemeriksaan pulasan Gram untuk cairan tubuh menurut WHO

WHO menyarankan periksaan pulasan Gram untuk setiap bahan pemeriksaan cairan tubuh. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan pembesaran $1000\times$ yang diberi minyak emersi dan mengenali setiap bentuk yang tampak di sediaan (preparat). Pelaporan hasil pulasan Gram meliputi bakteri yang dijumpai serta jumlahnya dengan menggunakan tanda "+" (plus system):^{10,14,15}

Tabel 6. Penafsiran kesahihan (interpretasi presuntif) bakteri di pulasan Gram untuk bahan periksaan cairan tubuh¹⁴

Susunan (struktur) pewarnaan	Perkiraan penafsiran (interpretasi presuntif) Bakteri
Granulosit (polimorfonuklear)	sel nanah (pus)
Bakteri kokus Gram positif tersusun berkelompok	<i>Staphylococcus spp</i>
Bakteri kokus Gram positif tersusun seperti rantai	<i>Streptococcus</i> atau <i>Enterococcus</i>
Bakteri batang Gram negatif	Bakteri coliform (<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i>), <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Proteus</i> , <i>Serratia</i>), batang tanpa fermentasi (non-fermenter) (<i>Pseudomonas spp.</i>) atau bakteri obligat anaerob (<i>Bacteroides spp.</i>)
Bakteri batang Gram positif berukuran besar	<i>Clostridium perfringens</i> atau <i>Bacillus anthracis</i>
Bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan bentuk pleomorfik	<i>mix flora anaerob</i>
Bakteri Gram positif dengan bentuk lonjong (oval) dan memiliki tunas (<i>budding</i>) di ujungnya	<i>Candida spp.</i> atau sel jamur. Kadang organisme tersebut disertai dengan adanya talus jamur palsu (<i>pseudomycelium</i>)

Panduan pengangkaan (kuantifikasi) pada pemeriksaan pulasan Gram untuk bahan pemeriksaan air kemih (urin) berdasarkan WHO

Syarat air kemih yang diperoleh tidak menunjukkan adanya jangkitan (infeksi) adalah tidak ditemukannya lekosit dan bakteri dalam pulasan Gram bahan periksaan tersebut. WHO menyarankan sebagai pemeriksaan pendamping yang berhasil guna (efektif) dan mudah untuk penapisan (skrining) adalah uji carik celup yang menilai kegiatan esterase asal lekosit maupun nitrit. Adanya hasil positif nitrit maupun kegiatan esterase asal lekosit menunjukkan cemaran di bakteri mencapai 10^5 per mL air kemih.^{10,13}

Bila ditemukan satu atau lebih bakteri per lapang pandang dengan pembesaran $600\times$ atau lebih menggunakan minyak emersi di pulasan Gram menunjukkan kemungkinan terdapat bakteri sebesar 10^5 atau lebih per mL urin. Namun, bila ditemukan satu atau lebih lekosit menunjukkan infeksi saluran kemih. Bila ditemukan banyak sel epitel bertatah (skuamous) di air kemih perempuan, tanpa maupun dengan disertai bakteri tanpa melihat jumlah bakteri per lapang pandang, maka bahan pemeriksaan kemih tersebut lebih menunjukkan adanya cemaran (kontaminasi) di dalam bahan pemeriksaan air kemih.^{10,13}

Panduan pengangkaan (kuantifikasi) pada periksaan pulasan Gram untuk bahan pemeriksaan sekret vagina

Pemeriksaan pulasan Gram untuk sekret vagina bermanfaat dalam menemukan adanya vaginosis bakterialis. Peningkatan jumlah dan perubahan bau sekret vagina merupakan tanda vaginosis

bakterialis. Hal ini disebabkan karena ada penurunan jumlah bakteri *Lactobacillus spp.* dan peningkatan bakteri seperti *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Prevotella bivia*, *Peptostreptococcus spp.* serta *Mycoplasma hominis*.^{10,21,22}

Gardner dan *Dukes* menetapkan sebuah patokan untuk mendiagnosis vaginosis bakterialis berdasarkan keadaan klinis, yaitu:²²

1. Perubahan sekret vagina secara kasat mata (visual)
2. Peningkatan pH (> 4,5)
3. Ditemukannya sel petunjuk/*Clue Cell* (sel epitel yang dikelilingi oleh bakteri) di sediaan basah secara mikroskopis.
4. Perubahan bau, yaitu bila sekret vagina dicampur dengan KOH 10% akan menghasilkan bau amis (*fishy odor*)

Mengingat sulitnya diagnosis vaginosis bakteria, maka peran pemeriksaan laboratorik sangat penting, terutama dengan menitikberatkan pada pemeriksaan pulasan Gram untuk menemukan serta mengenali ciri (identifikasi karakteristik), bentuk bangun (morfologi) bakteri berdasarkan pengangkaan (kuantitatif). Pengangkaan (kuantitatif). pemeriksaan pulasan Gram rembihan (secret) vagina menggunakan sebuah sistem memberi angka yang dikenal dengan sistem memberi angka cara *Nugent* (*Nugent numerical scoring system*). Sistem ini memiliki beberapa persyaratan untuk dapat diterapkan, yaitu:^{10,22}

1. Sebelum dinilai pulasan Gram dengan sistem pemberian angka cara *Nugent* (*Nugent numerical scoring system*), terlebih dahulu dinilai mutu (kualitas) bahan pemeriksaan, yaitu dengan menilai ada atau tidak adanya sel epitel. Bila tidak ditemukan sel epitel di sediaan (preparat), maka bahan pemeriksaan dipertimbangkan tidak memadai (adekuat) atau tidak sesuai untuk dikaji lebih lanjut.
2. Sistem ini berlaku untuk penderita dengan usia lebih dari 12 tahun dan kurang dari 55 tahun.
3. Untuk pembuatan sediaan pulasan Gram dilakukan teknik pewarnaan ubah suai (modifikasi) Gram yang disarankan oleh *Spegel*. Teknik pewarnaan modifikasi Gram tidak menggunakan safranin sebagai pulasan tandingan, tetapi

menggunakan fuksin dasar (*basic fuchsin*). Tujuan penggunaan fuksin dasar (*basic fuchsin*) ialah untuk meningkatkan ketajaman warna dalam menemukan bakteri Gram negatif.

Nugent Scoring System memiliki beberapa segi (aspek) penilaian, yang dilakukan dengan menggunakan gabungan (kombinasi) sistem angka dan sistem derajat "+" ("+" system). Seluruh hasil nilai dilakukan dengan penjumlahan dan hasil menjumlahkan (jumlahan) yang memiliki nilai tafsiran dalam mendiagnosis vaginosis bakterialis.^{10,21,22}

Berbeda dengan patokan (kriteria) yang diterapkan oleh WHO dalam mendiagnosis vaginosis bakteri, yaitu bila di bahan pemeriksaan ditemukan sel petunjuk (*clue cell*) yang disertai campuran bakteri Gram positif dan Gram negatif berbentuk batang, kokobasil atau batang bengkok serta dijumpai jumlah lekosit kurang dari 5 sel per lapang pandang. Gambaran sekret vagina normal dengan pulasan Gram akan menghasilkan jumlah sel lekosit yang sedikit (<5/LP) dan dikuasai (dominasi) oleh bakteri Gram positif berbentuk batang besar (*Lactobacillus spp.*).²¹

Tabel 7. Sistem memberi angka *Nugent* (*Nugent Scoring System*) untuk penilaian morfologi bakteri²²

Morfologi bakteri	
Bakteri Batang Gram Positif berukuran besar	<i>Lactobacillus</i>
Bakteri Batang Gram Positif atau Negatif berukuran kecil	<i>Gardnerella</i>
Bakteri Gram Negatif berbentuk seperti batang bengkok atau Bakteri Gram Positif atau Negatif	<i>Mobiluncus</i>
Sediaan (Preparat) pulasan Gram diperiksa dengan menggunakan pembesaran 1000× menggunakan minyak emersi	

Tabel 8. Penilaian jumlah bakteri²¹

Jumlah bakteri besaran (kuantitatif)	
<1/LP	1+
1–4/LP	2+
5–30/LP	3+
>30/LP	4+

Tabel 9. Penilaian angka (skor) akhir²¹

<i>Lactobacillus</i>	Angka	<i>Gardnerella</i>	Angka	<i>Mobiluncus</i>	Angka	Jumlah keseluruhan angka
4+	0	4+	4	4+	2	
3+	1	3+	3	3+	2	
2+	2	2+	2	2+	1	
1+	3	1+	1	1+	1	
0	4	0	0	0	0	
	A	+	B	+	C	a + b + c

Tabel 10. Penafsiran (interpretasi) Nugent Scoring System²²

Jumlah keseluruhan Penafsiran (Interpretasi) angka (Total Skor)	
0–3	Persiapan (preparat) pulasan Gram menunjukkan bakteri vaginal flora normal
4–6	Persiapan pulasan Gram menunjukkan adanya perubahan bakteri flora vaginal normal yang tidak berhubungan dengan vaginosis bakterialis. Kemungkinan ke arah tahapan peralihan (fase transisi); tetapi bila secara gejala klinis sangat mendukung, sekret vagina dapat diperiksa ulang.
7–10	Persiapan (preparat) pulasan Gram menunjukkan adanya Vaginosis Bakterialis

Panduan pengangkaan (kuantifikasi) pemeriksaan pulasan Gram untuk bahan pemeriksaan usapan/swab luka

Yang termasuk luka permukaan (*superficial*) adalah jejas (lesi), luka terbuka dan nanah (pus) abses. Pengambilan bahan pemeriksaan untuk luka permukaan dilakukan dengan menggunakan usapan steril. Besaran usapan luka permukaan di pulasan Gram menggunakan sistem penilaian Q (*Q-Value*) dengan menilai sel neutrofil polimorfonuklear (PMN), sel epitel bertatah dan bakteri yang ditemukan.^{10,15}

Tabel 11. Sistem penilaian Q (*Q-Value*) untuk usapan/swab luka^{15,29}

Jumlah Neutrofil	Q-Value untuk Neutrofil	Q-Value untuk sel epitel bertatah (skuamous) yang ditemukan			
		0	1–9	10–24	≥ 25
		0	-1	-2	-3
0	0	(1)	0	0	0
1–9	1+	1	0	-1	-2
10–24	2+	+2	+1	0	-1
≥ 25	3+	+3	+2	+1	0

* Jumlah sel dihitung dengan menggunakan pembesaran mikroskop objektif 10× per Lapang pandang (LP)

Penafsiran (interpretasi) sistem penilaian Q (*Q-Value*)¹⁰

Bahan pemeriksaan yang nilai Q-nya positif semakin tinggi berarti mengandung banyak bakteri patogen dan sedikit kemungkinan cemaran (risiko kontaminasi) bahan pemeriksaan.

Bahan pemeriksaan dengan nilai *Q-Value* negatif atau "0" memiliki petunjuk (indikasi) kemungkinan cemaran (risiko kontaminasi) bahan periksaan.

Faktor penimbrungan pengangkaan (interferensi kuantifikasi) pemeriksaan pulasan Gram

Setiap pemeriksaan tidaklah terlepas dari faktor penimbrungan (inferensi) yang dapat mempersulit penafsiran (interpretasi) hasil periksaan tersebut. Faktor simpulan utama pada pemeriksaan tanpa alat (manual) seperti pemulasian Gram adalah faktor pengamatan ragaman dalam (variasi intra observer). Pada pengangkaan (kuantifikasi) pemeriksaan pulasan Gram didapatkan beberapa hal yang dapat menjadi faktor timbrungan penafsiran (interferensi interpretasi) hasil, yaitu:^{1,10–11}

Kesalahan kecil (minor)

Melaporkan adanya polimikroba di bahan periksaan yang dikaji yang seharusnya tidak ditemukan atau tidak ada.

Kesalahan utama (major)

Melaporkan ditemukannya bakteri di bahan periksaan yang seharusnya tidak ada atau tidak ditemukan. Tidak dapat melaporkan adanya polimikroba derajat 1+ atau 2+

Kesalahan besar

Tidak dapat melaporkan penemuan bakteri
Tidak dapat melaporkan adanya polimikroba derajat 3+ atau 4+

SIMPULAN

Penerapan pengangkaan (kuantifikasi) pulasan Gram sangat penting dan bermanfaat di laboratorium Mikrobiologi Klinik. Beberapa metode penilaian dapat diterapkan dalam kegiatan sederhana (praktis) sehari-hari, sehingga mampu meningkatkan mutu (kualitas) pemeriksaan baik untuk pulasan Gram maupun kultur. Di samping itu pula penerapan metode penilaian tersebut diharapkan bahan periksaan yang diterima di laboratorium adalah bahan yang benar-benar memenuhi syarat secara makroskopis dan mikroskopis. Bila metode ini diterapkan, mutu pemeriksaan di laboratorium mikrobiologi khusus pulasan Gram akan meningkat jumlahnya dan menjadi handal bagi para peklinik sebagai penemu (deteksi) dini dalam mendiagnosis dan memberikan pengobatan awal.

DAFTAR PUSTAKA

- Canadian Coalition for Quality in laboratory Medicine. Guideline for Quantitative Interpretation of Gram Stains. CCQLM Microbiology Working Group November 2004.
- Church D, Melnyk E, Unger B. Quantitative Gram Stain Interpretation Criteria Used by Microbiology Laboratories in Alberta, Canada. J Clin Microbiol, 2000; 38(11): 4266–8.
- Clinical Microbiology Proficiency Testing Guideline Agustus 2003.

4. Chua ML, Barez MYC, Santos M, et al. The Value of Prompt Culture of an Adequate Sputum Specimen in predicting the Potential Etiology of Community Acquired Pneumonia. *Phil J Microbiol Infect Dis*, 1996; 25(1): 13–7.
5. Gal-Oz A, Kassis I, Shprecher H, et al. Correlation Between Rapid Strip Test and the Quality of Sputum. *Chest*, 2004; 126(5): 1667–171.
6. Nair B., Stapp J, Stapp L, et al. Utility of Gram Staining for Evaluation of the Quality of Cystic Fibrosis Sputum Samples. *J Clin Microbiol*, 2002; 40(8): 2791–4.
7. Valenstein PN. Semiquantitation of Bacteria in Sputum Gram Stain. *J Clin Microbiol*, 1988; 26(9): 1791–4.
8. Signori LGH, Ferreira MW, Muller KR, et al. Sputum examination in the clinical management of community-acquired pneumonia. *J Bras Pneumol*, 2008; 34(3): 152–8.
9. Pirali F, Longo M, Gelmi M, et al. Diagnosis of Bronchopulmonary Infections by Quantification of Microflora. *Europe J Epid*, 1994; 10: 703–6.
10. College of Physicians and Surgeons of Saskatchewan Laboratory Quality Assurances Program. Guideline for Quantitative Interpretation of Gram Stain. In: Procedures – Guideline for Microbiology Laboratory 2010 Edition, 2010; 3–6.
11. Nath SK, Revankar SG. Respiratory Tract Infections. In: Problem-Based Microbiology. USA, Saunders – Elsevier, 2006; 35–9.
12. Vandepitte J. Lower Respiratory Tract Infections. In: Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. Geneva, World Health Organization, 2003; 66–75.
13. Vandepitte J. Urin. In: Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. Geneva, World Health Organization, 2003; 30–6.
14. Vandepitte J. Purulent exudates, wounds, and abscesses. In: Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. Geneva, World Health Organization, 2003; 86–97.
15. Heineman HS, Radano RR. Acceptability and Cost Savings of Selective Sputum Microbiology in a Community Teaching Hospital. *J Clin Microbiol* 1979; 10(4): 567–73.
16. Wilson MJB, Martin DE. Quantitative sputum culture as a means of excluding false positive reports in the routine microbiology laboratory. *J Clin Path*, 1972; 25: 697–700.
17. Reed MD, Stern RC, O'Brien CA et al. Randomized Double-Blind Evaluation of Ceftazidime Dose Ranging in Hospitalized Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1987; 31(5): 698–702.
18. Pye A, Stockley RA, Hill SL. Simple Method for Quantifying Viable Bacterial Numbers in Sputum. *J Clin Pathol*, 1995; 48: 719–24.
19. Buenaviaje MB. Quantitative Sputum Culture and Gram Stain: Pulmonary Infection vs. Colonization. *Phil J Microbiol Infect Dis*, 1989; 18(1): 28–35.
20. Odhiambo JA, Nagatake T. Gram Stain and Quantitative Sputum Culture in Bacteriological Assessment of Lower Respiratory Tract Infection. *Trop. Med.* 1990; 32(3): 115–120.
21. Vandepitte J. Sexual Transmitted Disease. In: Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. Geneva, World Health Organization. 2003; 76–85.
22. College of Physicians and Surgeons of Saskatchewan Laboratory Quality Assurances Program. Guideline for Laboratory Processing and Interpretation of Vaginal Specimens in the Diagnosis of Bacterial Vaginosis. In: Procedures – Guideline for Microbiology Laboratory 2010 Edition, 2010; 31–3.