

IDENTIFIKASI BAKTERI YANG MENGONTAMINASI KONSENTRAT TROMBOSIT

Dewi Astuti, Eva Ayu Maharani

Dosen Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Jakarta III

Jl. Arteri JORR Jatiwarna Kec. Pondok Melati, Bekasi

E-mail : astuti_analis@yahoo.com

ABSTRACT

Indonesian Red Cross (IRC) is an organization that received an assignment to provide blood for transfusion therapy. Blood for transfusion should free from infectious disease. Several studies have shown that viruses, bacteria and protozoa can be transmitted by transfusion. Clinical features due to bacterial contamination varies from asymptomatic, mild fever, acute sepsis, hypotension and can even cause death. Components of platelet concentrates can be a good place for the growth of Gram positive and Gram negative bacteria, because it is stored at a temperature of 200-240C with the addition of dextrose that can be used as an energy source for bacteria. Bacteria identification performed by culturing the component of platelet concentrates on BPA tube of Bact / ALERT. Tube with contaminated bacteria is subcultured onto blood agar media. Bacterial colonies from blood agar stained with Gram staining and further identified using API20E, API 20NE, API 20STREP, MSA media or staphilase test using reagents Staphaurex, according to the type of bacteria detected on Gram stain. The results shown a component of platelet concentrates is contaminated by bacteria., The bacteria is Gram positive cocci clusters. MSA and staphilase test have a negative result, so it can be concluded that the bacteria that had contaminated platelet concentrates is Staphylococcus epidermidis.*

Keywords: Identification, Bacteria, Contamination

ABSTRAK

Palang Merah Indonesia (PMI) merupakan organisasi yang mempunyai tugas utama, yaitu menyediakan darah untuk transfusi. Darah untuk transfusi harus bebas dari kuman penyakit. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa virus, bakteri dan protozoa dapat ditransmisikan melalui transfusi. Gambaran klinis yang dapat terjadi dikarenakan kontaminasi bakteri pada kantong darah bervariasi mulai dari tanpa gejala, demam ringan, sepsis akut, hipotensi bahkan dapat menyebabkan kematian. Komponen konsentrat trombosit menjadi tempat yang baik bagi pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif karena disimpan pada suhu 200-240C dengan penambahan zat yang mengandung dekstroza yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi bakteri. Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengkultur komponen konsentrat trombosit pada tabung BPA BacT/ALERT. Tabung BPA BacT/ALERT yang teridentifikasi positif terkontaminasi bakteri akan disubkultur ke media agar darah. Koloni bakteri dari media agar darah diwarnai dengan pewarnaan Gram dan diidentifikasi lebih lanjut menggunakan API20E, API 20NE, API 20STREP, media MSA ataupun uji staphilase menggunakan reagensia Staphaurex, sesuai dengan jenis bakteri yang terdeteksi pada pewarnaan Gram. Hasil penelitian menemukan satu komponen konsentrat trombosit terkontaminasi bakteri. Bakteri kontaminan merupakan bakteri Gram positif, coccus bergerombol. Hasil uji media MSA dan uji staphilase menunjukkan hasil negatif, sehingga dapat disimpulkan bakteri yang mengontaminasi adalah Staphylococcus epidermidis.*

Kata kunci : Identifikasi, Bakteri, Kontaminasi.

PENDAHULUAN

Palang Merah Indonesia (PMI) mempunyai tugas utama yaitu menyediakan produk darah yang aman (Schmidt, et al., 2007). Namun demikian, dari beberapa penelitian telah diketahui bahwa virus, bakteri dan protozoa dapat ditransmisikan melalui transfusi. Kejadian infeksi virus bersumber darah transfusi diperkirakan 1:34.000 sedangkan kejadian kontaminasi bakteri pada trombosit berkisar 1:1000. Di Amerika Serikat, angka kematian karena transfusi darah yang terkontaminasi bakteri terjadi sebanyak 150 pasien setiap tahunnya. Prosedur pencegahan yang dilakukan pada Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) seperti HIV-AIDS, Hepatitis B, Hepatitis C dan sifilis dapat dilakukan dengan skrining kantong darah (Peraturan Pemerintah No. 7 tahun 2011). Metode yang digunakan untuk skrining IMLTD kantong darah adalah *rapid* dan *nucleic acid amplification technique* (NAT) sedangkan skrining kantong darah terhadap infeksi bakteri dapat dilakukan dengan metode kultur (Schmidt, et al., 2007). Skrining terhadap virus sudah merupakan prosedur rutin di PMI, sedangkan skrining terhadap bakteri belum dilakukan rutin. Hal ini dikarenakan waktu yang diperlukan untuk kultur cukup lama, sekitar lima sampai tujuh hari.

Beberapa jenis virus, bakteri dan protozoa dapat ditemukan pada plasma. Adanya bakteri pada kantong darah dapat mempunyai efek buruk karena selama masa penyimpanan, bakteri dapat bermultiplikasi dan meninggalkan endotoksin. Endotoksin dihasilkan ketika bakteri tersebut mati, sehingga dapat menyebabkan gejala klinis dalam waktu yang cepat pada resipiennya (Murphy, 2009). Reaksi klinis yang diakibatkan oleh kontaminasi bakteri dapat berupa asimtomatik, demam ringan, sepsis akut, hipotensi bahkan kematian (Simon, et al., 2009).

Kontaminasi bakteri pada produk darah dapat berasal dari dalam tubuh donor dan berasal dari lingkungan. Kontaminasi yang paling sering terjadi adalah kontaminasi yang didapat dari lingkungan, hal ini dikarenakan donor dengan bakteremia dapat terseleksi untuk tidak menjadi donor pada proses pemeriksaan oleh dokter. Kontaminasi yang berasal dari lingkungan bisa didapat dari proses pengambilan darah donor, proses pembuatan komponen dan penyimpanan darah, serta distribusi darah (Murphy, 2009).

Komponen konsentrat trombosit menjadi tempat yang baik bagi pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif, karena suhu penyimpanan serta komposisi biologis dari komponen konsentrat trombosit (Schmidt, et al., 2007). Penyimpanan komponen konsentrat trombosit dilakukan pada suhu 20^o-24^oC, yang merupakan suhu yang baik untuk pertumbuhan mikroba (Brecker, 2007; Simon, et al., 2009). Komponen konsentrat trombosit disimpan dengan penambahan zat pengawet sehingga viabilitas trombosit dapat dipertahankan. Pengawet yang digunakan antara lain *Citrat Phosphate Dextrose* (CPD) dan *Acid Citrat Dextrose* (ACD) yang mengandung dektrosa, merupakan karbohidrat yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi bakteri. Kantong komponen konsentrat trombosit merupakan kantong berpori, disamping itu penyimpanan kantong dengan proses agitasi memungkinkan adanya sirkulasi dengan udara luar, yang mungkin mengakibatkan kontaminasi bakteri (Brecker, 2007). Organisme yang sering mengontaminasi antara lain organisme aerob yang dapat tumbuh cepat seperti *Staphylococcus epidermidis*. (Murphy, 2009; Simon, et al., 2009). *Food and Drug Administration* (FDA) melaporkan antara tahun 1986-1991, 29 dari 182 (11%) kasus kematian terkait transfusi disebabkan oleh sepsis bakteri, dan 21 dari 29 kasus tersebut (72%) disebabkan oleh transfusi trombosit

yang terkontaminasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri yang mengontaminasi komponen konsentrat trombosit. Jenis bakteri yang diketahui dapat digunakan sebagai informasi kemungkinan bakteri tersebut berasal. Hal tersebut berguna untuk meningkatkan keamanan darah, khususnya produk komponen konsentrat trombosit di Unit Transfusi Darah.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain potong lintang. Penelitian dilakukan di Laboratorium uji mutu Unit Transfusi Darah Daerah (UTDD) PMI DKI Jakarta dan Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan September hingga Oktober 2012. Populasi penelitian adalah semua komponen konsentrat trombosit di UTDD PMI DKI Jakarta dalam kurun waktu penelitian. Sampel diambil secara acak dari 46 donor yang telah setuju darah donasinya dijadikan sampel penelitian. Sampel darah tersebut kemudian dibuat komponen konsentrat trombosit. Komponen konsentrat trombosit yang sudah dibuat kemudian dikultur menggunakan BacT/ALERT. Kultur dilakukan di Laboratorium uji mutu UTDD PMI DKI Jakarta. Sampel dengan kultur positif pada BacT/ALERT, kemudian disubkultur ke media agar darah.

Koloni dari media agar darah dibuat sediaan kemudian diwarnai dengan pewarnaan Gram. Bakteri basil Gram negatif diidentifikasi dengan menggunakan reagensia API 20 E dan API 20 NE produksi BioMerieux. Reagensia API 20E digunakan untuk mengidentifikasi *Enterobacteriaceae* serta bakteri *non-fastidious* dengan menggunakan 21 tes biokimia, sedangkan API 20NE digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *non-fastidious*, *non-enterik* yang terdiri dari 8 tes konvensional serta 12 tes asimilasi. Hasil biokimia yang terbentuk akan diidentifikasi menggunakan software dengan melihat %ID untuk

menentukan spesies bakteri yang diidentifikasi (Benjamin, 2008; Sireis, et al., 2011)

Bakteri yang memperlihatkan hemolisis diidentifikasi menggunakan API 20STREP. API 20STREP digunakan untuk identifikasi spesies bakteri *Streptococci* dan *Enterococci*.

API 20STREP terdiri atas 20 lubang mikro yang mengandung substrat yang didehidrasi untuk mengetahui aktivitas enzimatik serta kemampuan suatu bakteri dalam memfermentasi berbagai jenis gula. Bakteri kokus Gram positif yang tidak memperlihatkan zona hemolisis diuji dengan melakukan inokulasi bakteri ke dalam suspensi gula manitol, media MSA serta uji staphilase menggunakan reagensia Staphaurex*.

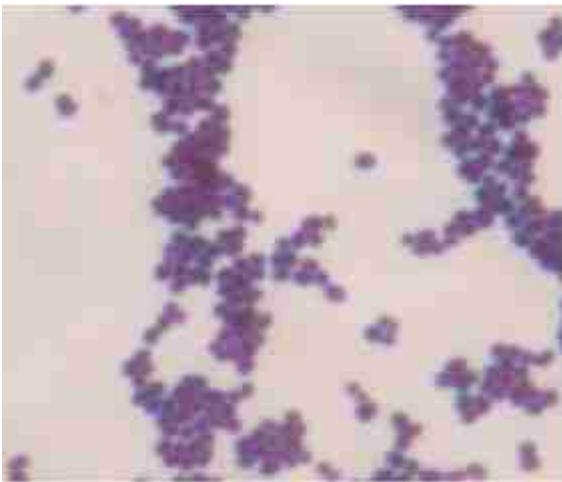
Uji staphilase dilakukan dengan menggunakan reagensia Staphaurex* yang mengandung latex dilapisi fibrinogen manusia serta Fc Imunoglobulin G (IgG). Uji Staphaurex* dilakukan dengan mereaksikan setetes reagensia Staphaurex* dengan sebagian koloni bakteri lalu dihomogenkan. Hasil positif terjadi jika terbentuk gumpalan. Keseluruhan proses identifikasi bakteri dilakukan di Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kultur BacT/ALERT 3D pada 46 komponen konsentrat trombosit, diketahui 45 sampel memperlihatkan hasil negatif dan satu sampel dengan hasil positif. Proses identifikasi bakteri subjek yang positif dilakukan dengan melakukan subkultur suspensi dari botol BacT/ALERT yang positif ke media agar darah. Hasil biakan subkultur pada sampel positif di media agar darah memperlihatkan hasil makroskopis koloni berwarna putih, berbentuk bulat halus, pinggiran rata, basah serta tidak membentuk zona hemolisis. Hasil mikroskopis, ditemukan bakteri kokus Gram positif yang bergerombol.



Gambar 1. Koloni komponen konsentrat trombosit positif pada BacT/ALERT 3D



Gambar 2. Mikroskopis koloni komponen konsentrat trombosit yang positif pada BacT/ALERT 3D dengan menggunakan pewarnaan Gram.

Koloni dari media agar darah disubkultur kembali ke media gula manitol, media *Manitol Salt Agar plate* serta dilakukan uji *Staphilase* menggunakan reagensia *Staphaurex**. Hasil uji dari koloni sampel komponen konsentrat trombosit yang positif memperlihatkan hasil negatif pada subkultur di gula manitol yang ditunjukkan dengan tidak terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Pada media MSA, didapat hasil negatif, karena warna media tidak berubah menjadi kuning, serta negatif pada uji *staphilase* karena tidak terbentuk gumpalan ketika ditambahkan reagensia *Staphaurex**. Hasil uji manitol dan *staphilase* yang negatif serta koloni yang tidak

membentuk zona hemolisis pada kultur agar darah menunjukkan bahwa bakteri yang mengontaminasi subjek adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Sampel positif merupakan sampel komponen konsentrat trombosit yang berasal dari donor mobil unit UTDD PMI DKI Jakarta. Pada saat penelusuran data diketahui bahwa donor tersebut sebelum proses antisepsis pengambilan darah tidak melakukan proses cuci tangan donor.

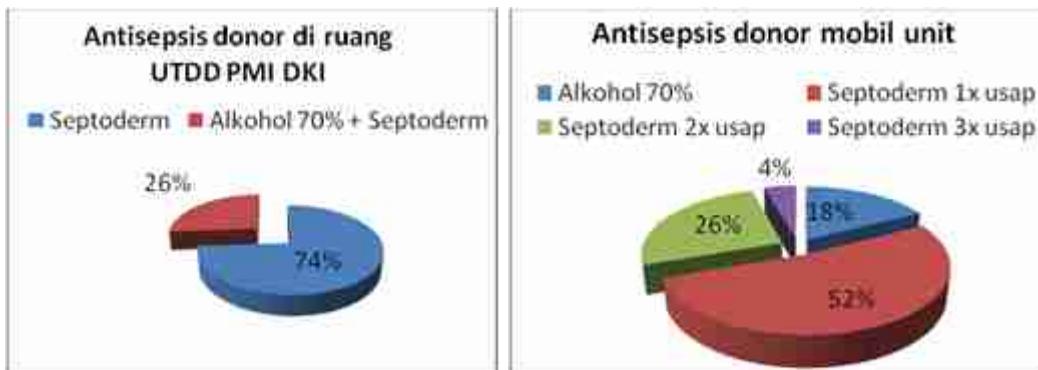
Kontaminasi bakteri pada komponen konsentrat trombosit lebih banyak berasal dari bakteri eksogen, yaitu bakteri yang dapat berasal dari kulit pasien, tangan petugas pengambil darah, ataupun dari peralatan medis. Jenis bakteri yang banyak ditemukan mengontaminasi komponen konsentrat trombosit adalah bakteri Gram positif terutama *Staphylococci* yang merupakan flora normal kulit. Pada penelitian ini, ditemukan satu komponen trombosit terkontaminasi bakteri *Staphylococcus epidermidis*, hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya, dimana ditemukan 83% dari 63 komponen konsentrat trombosit dikontaminasi oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Martini, et al. 2010).

Otto menyatakan bahwa *Staphylococcus epidermidis* tidak menghasilkan zat-zat yang bersifat sangat virulen, akan tetapi mempunyai zat-zat molekuler spesifik yang dapat menekan sistem imun dan menyebabkan penyakit kronis dengan cara menghasilkan *poly-N-acetylglucosamine (PNAG) / polysaccharide intercellular adhesin (PIA)* pada pembentukan biofilms, sehingga melindungi *Staphylococcus epidermidis* dari *fagositosis neutrofil*, desposisi komplemen dan imunoglobulin (Otto, 2009).

Proses antisepsis tangan donor sebelum dilakukan proses donasi darah juga bervariasi. Donor yang melakukan proses donasi secara langsung di ruang pengambilan darah di

UTDD PMI DKI Jakarta sebanyak 17 donor proses antisepsis lengannya dilakukan dengan menggunakan antiseptik cairan septoderm yang mengandung 2-propanol dan 1,3-butanol, 6 donor diantisepsis menggunakan cairan septoderm dan alkohol 70% sedangkan donor yang melakukan proses donor melalui mobil unit; 4 donor diantisepsis dengan larutan alkohol 70% saja tanpa tambahan antiseptik lain, 12 donor diantisepsis dengan cairan septoderm sebanyak 1 kali usap, 6 donor diantisepsis dengan cairan septoderm sebanyak 2 kali usap dan 1 donor diantisepsis dengan cairan septoderm sebanyak 3 kali usap.

diketahui bahwa donor tersebut tidak melakukan prosedur cuci tangan sesuai dengan SOP yang telah ditetapkan. Selain donor dengan hasil positif, terdapat 3 donor lain dari mobil unit yang mendapat perlakuan sama, yaitu tidak mencuci lengan sebelum proses donor. Prosedur antisepsis yang dilakukan hanya menggunakan larutan alkohol 70% saja tanpa tambahan antiseptik lain, akan tetapi sampel dari kantong darah dari donor tersebut tidak ditemukan adanya kontaminasi bakteri. Hasil pengamatan pada proses antisepsis, diketahui bahwa cuci lengan pada donor di UTDD PMI DKI Jakarta dilakukan



Gambar 3. Grafik penggunaan jenis antiseptik lengan donor.

Pada penelitian ini sampel dengan kultur positif berasal dari donor pada mobil unit yang tidak melakukan cuci lengan sebelum proses donasi serta proses antisepsis menggunakan larutan alkohol 70%. Menurut instruksi kerja di UTDD PMI DKI Jakarta no dokumen IK-UTDD-PMIDKI-AF-06 tanggal 03 Januari 2012-Rev.03 tentang pengambilan darah donor, seluruh donor harus mencuci lengan terlebih dahulu dan selanjutnya antisepsis lengan dilakukan dengan menggunakan septoderm. Pada mobil unit untuk donor keliling, SOP antisepsis adalah mencuci lengan, antisepsis lengan dengan menggunakan alkohol 70% kemudian septoderm yang mengandung 2-propanol dan 1,3-butanol.

Pada subjek donor dengan hasil kultur positif,

oleh 22 donor dari 23 donor, sedangkan 23 donor dari mobil unit keseluruhan tidak melakukan cuci lengan.



Gambar 4. Grafik persentase pelaksanaan proses cuci lengan donor

Penelitian tentang metode antiseptik sudah banyak dilakukan, diantaranya penelitian oleh Kiyoyama, et al. (2009), yang menyatakan tidak ada perbedaan yang signifikan antara antiseptik menggunakan povidone-iodine yang dikombinasikan dengan alkohol 70% dan menggunakan larutan alkohol 70% saja. Pada penggunaan antiseptik povidone iodine dan alkohol 70% ditemukan kontaminasi sebanyak 0,46% sedangkan pada penggunaan antiseptik alkohol 70%, kontaminasi ditemukan sebanyak 0,42% (Otto, 2009). Kiyoyama, et al. (2009), menyimpulkan bahwa perbedaan jenis antiseptik yang digunakan untuk antiseptik lengan tidak berpengaruh pada terjadinya kontaminasi. Sedangkan Otto (2009) menyatakan hal yang dapat mempengaruhi kontaminasi antara lain adalah teknik pengambilan darah. Brecker (2007) menyatakan adanya penurunan 57% kontaminasi bakteri pada komponen konsentrat trombosit setelah penggunaan antiseptik isopropil alkohol 70% dan povidone iodine secara bersamaan, sedangkan Korte, et al. (2008), melaporkan pengurangan angka kejadian kontaminasi sebanyak 11% setelah penggunaan antiseptik alkohol 70% sebanyak 2 kali pada proses antiseptik lengan donor.

Salah satu metode pencegahan yang dapat dilakukan untuk mengurangi kontaminasi pada kantong darah yaitu pemisahan sejumlah darah donor pada awal proses donasi menggunakan kantong sampel (Korte, et al. 2008). Andreu, et al. (Andreu, Caldani, Morel, 2002), Adanya pengurangan jumlah kontaminasi disebabkan oleh bakteri flora normal kulit sebanyak 72,4% dengan melakukan pemisahan 35 mL darah donor pada awal proses donor darah, Brecker (2007) membuktikan pengurangan 47% kontaminasi bakteri dengan melakukan pemisahan 20 mL darah donor pada awal proses donor, sedangkan Korte et al. (2008) membuktikan dengan pemisahan 10 mL darah donor pada awal proses donor, mengurangi 40% kejadian kontaminasi yang bermakna secara statistik,

yaitu 0,35% menjadi 0,21. Angka kejadian kontaminasi bakteri pada donor darah dapat dikurangi dengan memisahkan 8-10 mL darah donor pada awal proses donor, khususnya untuk kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus spp.* yang merupakan flora normal kulit bagian superfisial (Korte, et al. 2008; Brecker, 2007). Pemisahan sebagian darah donor pada awal proses donor merupakan cara yang baik, mudah dikerjakan, ekonomis serta efisien untuk mengurangi kejadian kontaminasi bakteri pada komponen konsentrat trombosit (Brecker, 2007).

Prosedur pemisahan darah donor belum dapat dilakukan di UTDD PMI, hal tersebut mungkin dikarenakan akan menambah pembiayaan proses produksi komponen darah. Cara lain yang efektif dan efisien adalah menetapkan dan melaksanakan SOP yang baik dan tepat pada tiap tahap proses (donor, pembuatan komponen darah, penyimpanan dan distribusi). SOP yang dikerjakan dengan baik, diharapkan dapat meningkatkan keamanan kantong darah, seperti meminimalisir kontaminasi kantong darah dari bakteri.

SIMPULAN

Bakteri yang mengontaminasi komponen konsentrat trombosit di UTDD PMI DKI Jakarta periode September 2012 adalah *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri flora normal pada kulit. Bakteri tersebut kemungkinan mengontaminasi pada saat proses pengambilan darah donor, dimana proses antiseptik lengan donor mungkin tidak dilakukan dengan baik. Kontaminasi bakteri yang disebabkan oleh kurang baiknya proses antiseptik dapat dihindari dengan pelaksanaan SOP yang baik dan tepat atau dilakukannya proses pemisahan sebagian darah donor pada awal proses donor, sehingga dapat mengoptimalkan keamanan produk darah PMI.

DAFTAR RUJUKAN

- Andreu G., Cالدani C., Morel P. 2002. *Diversion of first blood volume result in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collection.* Vox Sanguinis.;3:13-16.
- Benjamin, R.J. 2008. *Bacterial culture of apheresis platelet products and the residual risk of sepsis.* ISBT Science Series.;3 : 133-38.
- Brecker, E.A.M. 2007. *Effects of bacterial testing: what risks are remaining?.* ISBT Science Series. 30-34.
- Kiyoyama T., et al. 2009. *Isopropyl Alcohol Compared with Isopropyl Alcohol plus Povidone-Iodine as Skin Preparation for Prevention of Blood Culture Contamination.* Journal of Clinical Microbiology.:54-58.
- Korte D.D., et al. 2008. *Reduction of septic transfusion reactions related to bacteria contamination without implementing bacteria detection.* ISBT Science Series.:124-32.
- Martini R., et al. 2010. *Bacterial contamination in platelet concentrates: identification, antimicrobial susceptibility profile and sepsis associated with the transfusion.* Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine.; 43(6).
- Murphy, M.F. 2009. *Practical Transfusion Medicine.* 3rd Ed. Singapore: Kitchen A.D, Barbara A.J., A John Wiley and Son Ltd.
- Otto, M. 2009. *Stahylococcus epidermidis-the "accidental" pathogen.* NIH Public Acces. : 555-67.
- Peraturan Pemerintah No. 7 tahun 2011. *Pelayanan Darah.* Kementrian Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia.
- Schmidt, M., et al. 2007. *Comparison of three bacterial detection methods under rourine conditions.* Vox Sanguinis:15-21.
- Simon, Toby, L., et al. 2009. *Rossi's Principle of Transfusion Medicine.* 4th Ed. USA: Park Y.A., Brecher M.E. Blackwell Publishing Ltd.
- Sireis, W., et al. 2011. *Extention of platelet shelf life from 4 to 5 days by implementation of a new screening strategy in Germany.* Vox Sanguinis.:191-99.