



INTISARI SAINS MEDIS

Published by Intisari Sains Medis

Kesesuaian pewarnaan gram dengan kultur darah sebagai prediktor nilai kritis kasus bakteremia di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar



CrossMark

Putu Yoska Arya Harindana^{1*}, Ida Sri Iswari², Indramawan Setyoatmiko¹,
Ni Nengah Dwi Fatmawati²

ABSTRACT

Background: One of the considerations for giving empiric antibiotics in bacteremia cases is gram staining (GS) results. Accurate and fast results are required in distinguishing infection-caused bacteria. However, the data on how much the corresponding gram stain results with bacterial growth in blood cultures are still insufficient.

Aim: The study aims to compare Gram stain results with bacterial growth in positive blood cultures.

Methods: A cross-sectional analytic study obtained data from the VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux) results for six months (January - June 2020). Data involved all blood cultures examined as many as 509.

Results: Of the 509 blood samples, 46 were reported as critical values for bacteremia. Gram-negative *bacillus*

bacteria were identified in 39.13% of the gram staining (GS) and 45.65% of the blood culture (BC) samples. Gram-positive bacteria appeared in 56.52% of GS and 52.17% of BC. MBRO (multidrug-resistant organisms) bacteria were identified in the proportion of 11%, then 13% from ESBL (extended-spectrum beta-lactamase) bacteria, and they remain as 4% MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) bacteria. The higher result, 76% of the data was confirmed from the non-ICU patients.

Conclusion: GS can be used as a reference for empiric antibiotic therapy due to its effectiveness, and it has a high degree of similarity with positive blood culture results.

Keywords: Blood culture, BacT, Bacteremia, Empirical antibiotic, Gram stain.

Cite This Article: Harindana, P.Y.A., Iswari, I.S., Setyoatmiko, I., Fatmawati, N.N.D. 2021. Kesesuaian pewarnaan gram dengan kultur darah sebagai prediktor nilai kritis kasus bakteremia di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar. *Intisari Sains Medis* 12(2): 494-499. DOI: [10.15562/ism.v12i2.1038](https://doi.org/10.15562/ism.v12i2.1038)

ABSTRAK

Latar belakang: Salah satu pertimbangan pemberian antibiotika empiris pada kasus bakteremia adalah berdasarkan hasil pewarnaan gram. Dibutuhkan hasil yang akurat dan cepat dalam membedakan bakteri penyebab infeksi. Namun sedikit data tentang berapa besar kesesuaian hasil pewarnaan gram dengan pertumbuhan bakteri pada kultur darah. Untuk membandingkan hasil pewarnaan gram dengan pertumbuhan bakteri pada kultur darah yang positif.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian analitik *cross-sectional*. Data diperoleh dari hasil VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux) selama enam bulan (Januari-Juni 2020). Sampel penelitian adalah semua kultur darah yang diperiksa pada periode penelitian berjumlah 509.

Hasil: Dari 509 sampel spesimen darah, 46 sampel

dilaporkan sebagai nilai kritis prediktor bakteremia. Bakteri batang gram negatif teridentifikasi pada 39,13% sampel pewarnaan gram dan 45,65% sampel hasil kultur darah. Bakteri gram positif muncul pada 56,52% sampel pewarnaan gram dan 52,17% sampel hasil kultur darah. Bakteri MDRO (*multidrug resistant organisms*) teridentifikasi sebanyak 11%, 13% bakteri ESBL (*extended spectrum beta lactamase*), dan 4% bakteri MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Proporsi 76% sampel berasal dari pasien non-ICU.

Simpulan: Hasil pewarnaan gram dapat digunakan sebagai acuan terapi antibiotika empiris karena memiliki tingkat kesesuaian yang tinggi dengan hasil kultur darah positif.

Kata kunci: Antibiotika empiris, BacT, Bacteremia, Kultur darah, Pewarnaan gram.

Sitasi Artikel ini: Harindana, P.Y.A., Iswari, I.S., Setyoatmiko, I., Fatmawati, N.N.D. 2021. Kesesuaian pewarnaan gram dengan kultur darah sebagai prediktor nilai kritis kasus bakteremia di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar. *Intisari Sains Medis* 12(2): 494-499. DOI: [10.15562/ism.v12i2.1038](https://doi.org/10.15562/ism.v12i2.1038)

¹Program Pendidikan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana/ Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar, Bali;

²Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar, Bali;

*Korespondensi:

Putu Yoska Arya Harindana;
Program Pendidikan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/ Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar, Bali;
yoskaarya@yahoo.com

Diterima: 08-05-2021

Disetujui: 02-07-2021

Diterbitkan: 16-07-2021

PENDAHULUAN

Bakteremia yang signifikan secara klinis merupakan penyebab penting dari morbiditas dan mortalitas yang serius pada pasien. Untuk menurunkan mortalitas dan morbiditas pada pasien bakteremia, perlu dilakukan terapi antimikroba yang efektif sesegera mungkin. Bakteremia sering menyebabkan sepsis dan syok septik. Oleh karena terapi yang cepat aktif melawan patogen penyebab adalah salah satu prediktor hasil yang paling penting, dokter harus menetapkan sistem pemberian obat cepat atau kombinasi obat yang dipilih secara rasional.¹

Laboratorium mikrobiologi klinis memiliki peran penting dalam penanganan bakteremia. Pendeteksian mikroorganisme patogen dalam kultur darah dan menguji kerentanan antimikroba selalu membantu dalam memilih agen antimikroba yang sesuai.² Tes terpenting dan utama untuk dilakukan pada kultur darah positif adalah pewarnaan Gram, yang merupakan tes paling cepat dan paling sederhana untuk mengkaraktirasi mikroorganisme. Oleh karena itu sangat mungkin bahwa informasi yang diberikan oleh pewarnaan Gram akan membantu menilai kecukupan terapi antimikroba yang dipilih setelah mengumpulkan spesimen kultur darah dan sebelum identifikasi akhir mikroorganisme.³

Pewarnaan Gram telah digunakan sebagai *tools* penting dalam perencanaan terapi antimikroba di rumah sakit sejak tahun 1970-an. Meskipun telah ditemukan lebih dari seabad yang lalu, pewarnaan Gram tetap merupakan uji diagnostik cepat yang paling sering digunakan, dan dalam hubungannya dengan berbagai uji biokimia yang merupakan landasan laboratorium klinis.⁴ Pewarnaan Gram adalah langkah awal yang sangat penting dalam karakterisasi awal dan klasifikasi bakteri. Pewarnaan ini juga merupakan prosedur kunci dalam identifikasi bakteri berdasarkan karakteristik pewarnaan, dan memungkinkan bakteri untuk diperiksa menggunakan mikroskop cahaya. Setelah diwarnai, morfologi dan susunan bakteri dapat diamati juga. Selain itu, pewarnaan Gram juga merupakan langkah penting dalam skrining agen infeksius pada spesimen klinis seperti apusan langsung dari pasien. Meskipun pewarnaan

Gram digunakan untuk mendeteksi dan membedakan bakteri tertentu, mikroorganisme lain (paling sering *khamir* dan jamur), juga dapat dilihat pada apusan pewarnaan Gram.⁵

Namun, tidak ada uji laboratorium yang 100% akurat, tidak terkecuali pewarnaan Gram, karena kesalahan interpretasi manusia dan urgensi sifat pewarnaan bakteri tertentu. Studi sebelumnya menyatakan bahwa tingkat kesalahan keseluruhan dari pewarnaan Gram yang salah ditafsirkan dari sebuah kultur darah masih rendah (0,7%), tetapi tenaga laboratorium profesional harus menyadari potensi jenis kesalahan yang dapat terjadi tersebut.^{6,7} Saat ini, kultur darah diikuti dengan analisis pewarnaan Gram atau *blood culture - Gram stain* (BC/GS) adalah metode laboratorium yang paling umum digunakan dan standar emas saat ini untuk mendeteksi bakteremia.⁸

Ada tiga masalah utama terkait penggunaan pendekatan berbasis kultur tersebut untuk mendeteksi bakteremia. Masalah pertama adalah waktu interpretasi hasil, termasuk waktu yang diperlukan untuk memperoleh informasi tambahan yang diperlukan dari identifikasi spesies dan sensitivitas antibiotik, yang umumnya membutuhkan 24 sampai 48 jam. Selain itu, BC membutuhkan waktu hingga 5 hari untuk memberikan hasil yang positif, sehingga tidak berguna sebagai panduan awal pemilihan antimikroba yang tepat untuk pasien bakteremia.⁸ Masalah kedua adalah rendahnya sensitivitas analisis BC/GS. Analisis BC/GS memiliki perkiraan *positivity* keseluruhan hanya 30% hingga 60% meskipun aplikasi dalam konteks klinis yang benar, prosedur standar, dan volume pengumpulan darah yang optimal. Masalah ketiga adalah peluang untuk mendeteksi hasil positif palsu dan menyebabkan pemberian antibiotik yang tidak perlu. Hasil positif palsu dapat disebabkan oleh kontaminasi sampel dari flora kulit pasien atau ahli kesehatan dan diperkirakan terjadi pada 32% hingga 85% sampel klinis.⁹

Akan tetapi, riset terbaru menyatakan bahwa kedua metode tersebut memungkinkan deteksi bakteri dalam kultur media yang tidak menunjukkan pertumbuhan (apabila diberikan pewarnaan fluoresens pada media kultur).

Kedua metode BC/GS mengungkapkan keberadaan bakteri dalam darah pasien dengan sepsis dan kelompok kontrol yang signifikan.¹⁰ Berdasarkan kajian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kesesuaian hasil GS dan BC yang positif dari cairan isolat pasien.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif *cross-sectional*. Data diperoleh dari hasil VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux) selama enam bulan (Januari – Juni 2020). Sampel penelitian adalah semua kultur darah yang diperiksa pada periode penelitian yang berjumlah 509. Subjek yang memenuhi kriteria penelitian ditentukan pada saat pengumpulan data di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Bali, baik dari ruang ICU maupun non-ICU (*intensive care unit*). Sebelum dilakukan pengumpulan data, subjek penelitian diberikan penjelasan tentang penelitian terlebih dahulu baik mengenai manfaat maupun risiko atau kerugian yang mungkin muncul akibat penelitian ini. Kemudian dilanjutkan dengan menandatangani persetujuan (*informed consent*) dan berpartisipasi sebagai subjek penelitian sebelum pengambilan sampel darah masing-masing subjek.

Pemilihan, Pengumpulan, dan Pengangkutan Spesimen

Instruksi pengumpulan spesimen harus tersedia untuk staf klinis, perawat, dan atau tenaga penunjang lain. Kewaspadaan universal harus digunakan untuk semua spesimen yang dikumpulkan. Teknik aseptik yang ketat digunakan dalam pengumpulan spesimen. Jika memungkinkan, spesimen harus dikumpulkan sebelum pemberian agen antimikroba. Spesimen harus dikumpulkan dengan cara yang meminimalkan kontaminasi dengan flora lain. Jumlah spesimen yang mencukupi harus dikirim sesuai pengujian yang di-*order*. Jaringan dan spesimen aspirasi biasanya merupakan spesimen pilihan. Semua spesimen harus diberi label dengan minimal dua pengenal pasien. Pengenal pasien meliputi nama pasien, nomor rekam medis, dan tanggal lahir. Spesimen harus dikumpulkan dengan menggunakan alat pengumpul yang sesuai dan harus

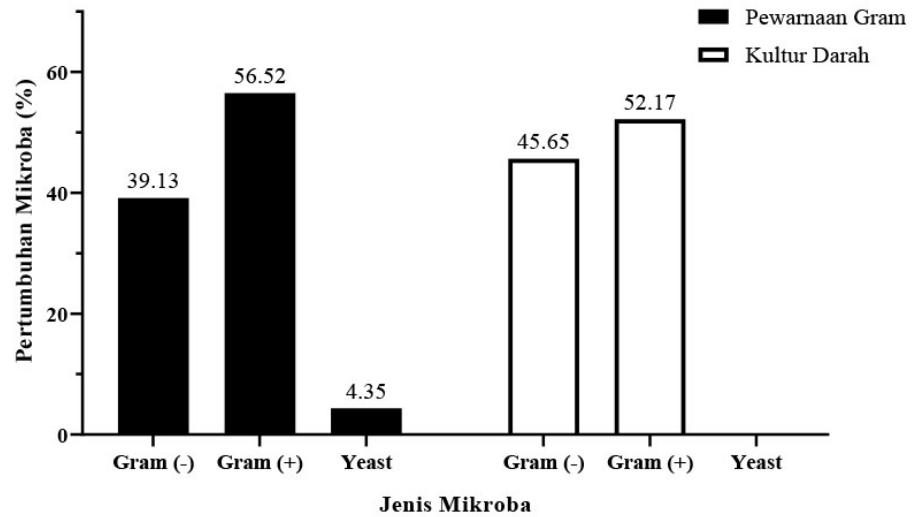
ditutup rapat untuk mencegah kebocoran. Spesimen harus dikantongi sebelum dikirim ke laboratorium. Spesimen harus dikirim ke laboratorium tepat waktu. Permintaan tes harus menyertakan spesimen yang akan diuji. Permintaan harus mencakup sumber spesimen, waktu pengambilan, dokter yang memesan, dan tes yang diperlukan. Informasi tambahan, seperti organisme yang dicurigai dan atau terapi antimikroba saat ini, selalu membantu kajian laboratorium.

Pewarnaan Gram

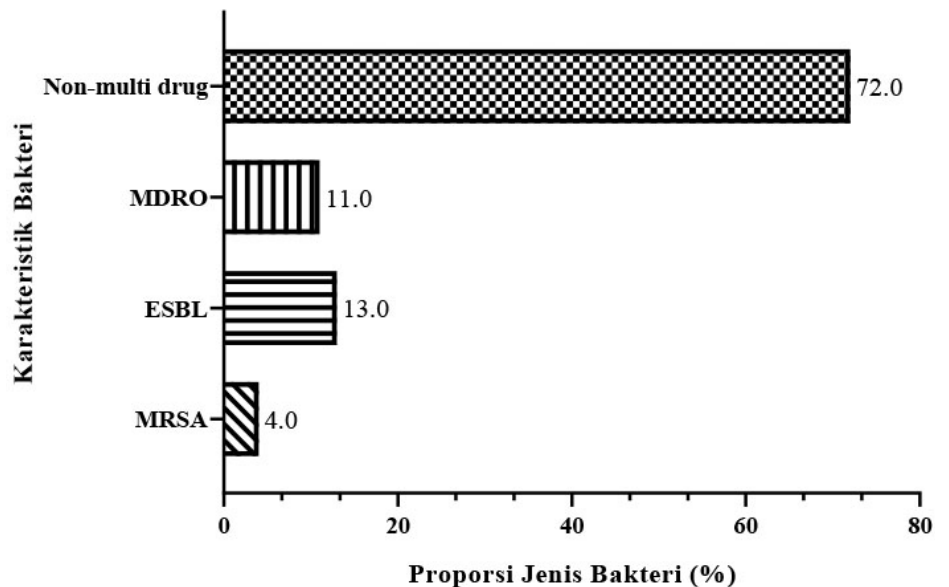
Penelitian ini menerapkan metode pewarnaan Gram secara otomatis. Petugas lab bakteriologi memberikan kode nomor specimen pada *object glass* dan melanjutkan pembuatan sediaan dengan menggunakan ose. Petugas mengeringkan sediaan di atas rak pewarnaan kemudian dilakukan fiksasi sebanyak 3 kali di atas api. Sediaan terfiksasi tersebut dimasukkan ke dalam rak PREVI® *color gram* dengan mempertimbangkan keseimbangan sediaan pada *object glass*. Rak PREVI® *color gram* tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam mesin, lalu petugas menutup dan menekan jumlah sediaan yang diwarnai serta menghidupkan tombol “run” pada mesin. Proses pengecatan berlangsung sampai mesin berhenti beroperasi dan dilanjutkan pembacaan mikroskopis. Pembacaan dikaji melalui mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x. Hasil berupa bentuk *cocci* atau *bacilli*, Gram positif atau negative, dan adanya epitel atau leukosit, dicatat pada buku register rawat jalan atau rawat inap. Hasil tersebut diketik juga pada aplikasi SIMARS (Sistem Integrasi Manajemen Rumah Sakit). Hasil yang telah disetujui oleh *supervisor* dikirim ke loket laboratorium dan ruang perawatan masing-masing pasien melalui alat otomatis (*Aerocom*).

Kultur Darah

Setelah melakukan pengambilan darah dari tubuh pasien sesuai dengan standar prosedur operasional LB/.0201/SPO. XIV.1.4.16/25591/2019, petugas analis akan menggoyangkan tabung darah supaya tercampur untuk menghindari pembekuan. Diambil 1 botol (aerob) perlumen dengan volume 10 ml darah setiap botolnya, maksimal 3 botol untuk setiap



Gambar 1. Persentase bakteri teridentifikasi dari pewarnaan gram dan kultur darah selama periode bulan Januari – Juni 2020.

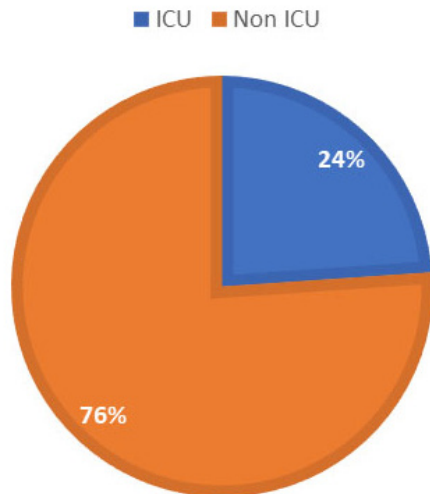


Gambar 2. Karakteristik bakteri yang tumbuh pada spesimen kultur darah periode bulan Januari – Juni 2020. Ket: MDRO = *multidrug-resistant organisms*; ESBL = *extended-spectrum beta-lactamase*; MRSA = *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.

line vena sentral dan setiap botol kultur yang digunakan tidak dalam periode kadaluarsa. Pada waktu yang bersamaan, diambil 2 botol dari vena perifer. Botol spesimen harus berisi nama, lokasi tempat pengambilan darah, tanggal dan waktu pengambilan. Botol kultur tidak boleh disimpan dalam kulkas, tetapi dalam suhu ruangan selama maksimal 4 jam. Sesuaikan dengan petunjuk manufaktur terkait metode penyimpanan spesimen kultur sebelum dilakukan inkubasi.

Pastikan botol kultur tidak rusak selama proses transport spesimen. Foto hasil kultur diabadikan melalui dokumentasi kamera Vivo V5 13 MP (*megapixel*).

Pada hari pertama, bila darah sudah dalam botol BacT Alert/BACTEC®, petugas analis segera memasukkan botol ke dalam mesin BacT Alert/BACTEC®. Bila darah dalam spuit dan sudah membeku (cara konvensional), maka petugas analis menginokulasi darah ke dalam media thioqlikolat (inkubasi 37°C selama 24



Gambar 3. Persentase bakteri teridentifikasi kultur darah di ruangan ICU dan non-ICU periode bulan Januari – Juni 2020. Ket: ICU=*intensive care unit*.



Gambar 4. Kultur mikroba dalam agar darah dan MacConkey (dokumentasi penulis).

jam). Pada hari kedua, petugas melakukan pengecekan spesimen pada mesin BacT Alert/BACTEC[®]. Bila hasil positif, dilakukan penanaman 1 mL specimen pada agar darah dan agar MacConkey dengan cara goresan 4 kuadran dan melanjutkan pewarnaan Gram. Bila hasilnya negatif, maka dilanjutkan proses inkubasi. Petugas tersebut melakukan inokulasi dengan satu ose spesimen dalam media thio pada agar darah dan agar MacConkey dengan cara goresan 4 kuadran. Sampel tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada hari ketiga, petugas analis melakukan cek pertumbuhan bakteri pada media agar darah dan agar

MacConkey. Bila ada pertumbuhan bakteri, maka dilakukan identifikasi dan resistensi terhadap antibiotik. Bila tidak ada pertumbuhan bakteri, maka media disingkirkan. Bila spesimen pada mesin BacT Alert/BACTEC[®] positif, petugas kembali melakukan pengerjaan seperti pada hari kedua. Pada hari keempat, petugas tetap melakukan pengecekan pertumbuhan bakteri sama halnya dengan hari ketiga. Namun, bila petugas mendapatkan spesimen cairan dari tempat steril, pemeriksaan dihentikan hingga hari keempat, dan melaporkan hasil negatif bila tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Selanjutnya bila tidak terdapat spesimen cairan dari tempat steril, maka hari kelima dan hari keenam juga menerapkan prosedur yang sama seperti halnya hari keempat. Jika tidak ditemukan pertumbuhan bakteri sampai hari ketujuh, maka hasil dinyatakan negatif. Petugas analis mengeluarkan spesimen dari mesin BacT Alert/BACTEC[®].

Analisa Data

Data diolah secara manual, dianalisis secara deskriptif, dan disajikan dalam bentuk diagram, disertai penjelasan untuk menentukan tingkat kesesuaian kedua metode BC/GS tanpa analisis lanjutan.

HASIL

Dari 509 sampel spesimen darah, 46 sampel dilaporkan sebagai nilai kritis prediktor bakteremia, tercatat 18 (39,13%) sampel dari hasil pewarnaan gram adalah bakteri batang gram negatif dan sebanyak 21 (45,65%) sampel dari hasil kultur darah adalah bakteri gram negatif. Sedangkan 26 (56,52%) sampel dari hasil pewarnaan gram adalah bakteri gram positif dan sebanyak 24 (52,17%) sampel dari hasil kultur darah adalah bakteri gram positif (**Gambar 1**).

Hasil penelitian juga menunjukkan dari 46 sampel kultur darah positif (**Gambar 2**), 5 (11%) sampel merupakan bakteri yang bersifat multiresisten terhadap berbagai macam antibiotika (MDRO), 6 (13%) sampel merupakan bakteri ESBL, dan 2 (4%) sampel merupakan bakteri MRSA. Sebagian besar sampel berasal dari pasien yang dirawat di ruang non-ICU sebanyak 35 (76 %) sampel (**Gambar 3**).

DISKUSI

Metode laboratorium yang umum digunakan saat ini untuk identifikasi bakteremia adalah pertumbuhan dalam media kultur dengan analisis GS selanjutnya dan sub-kultur sampel positif untuk penentuan organisme dan sensitivitas antibiotik. Deteksi bakteremia diperlukan secepat mungkin. Kajian studi kali ini telah menelaah lebih lanjut perbandingan hasil GS dan pertumbuhan bakteri pada kultur darah yang positif. Standar emas untuk bakteremia adalah kultur darah yang membutuhkan waktu antara 24-48 jam.¹¹ Kultur darah biasanya diambil ketika pasien mengalami demam, menggigil, leukositosis, syok septik, dugaan endokarditis atau sebelum memulai pengobatan antimikroba pada pasien lanjut usia atau gangguan sistem imun. Pengambilan sampel dengan volume darah yang memadai untuk memastikan sensitivitas optimal untuk deteksi bakteremia dapat dicapai baik dengan meningkatkan jumlah venipungsi atau dengan mengumpulkan volume besar yang memadai melalui satu tusukan tunggal.¹²

Perbedaan antara BC positif yang signifikan secara klinis (yaitu, mikroorganisme yang diidentifikasi terlibat dalam gejala yang diderita oleh pasien), dan kontaminan, didasarkan pada jumlah sampel BC positif ketika kultur menghasilkan organisme yang dianggap sebagai kontaminan umum [misalnya, *coagulase-negative Staphylococci* (CoNS), *Corynebacterium spp*, *Micrococcus spp*, dan sebagainya]. Untuk mendeteksi mikroorganisme ini, setidaknya 2 BC positif yang menghasilkan CoNS yang sama biasanya diperlukan untuk mempertimbangkan hasil signifikan secara klinis, mengingat bahwa kontaminasi bisa meningkat dalam jumlah botol positif.¹³

Model sistem BacT saat ini termasuk BacT/Alert 3D dan BacT/Alert VIRTUO yang baru-baru ini diperkenalkan. Kedua sistem mendeteksi produksi CO₂ melalui sistem kolorimetri yang ada di bagian bawah botol yang berubah warna dengan pH. Sistem BacT mengotomatiskan pemuatan dan pembongkaran botol, membantu menjaga stabilitas suhu. Selama proses pemuatan, instrumen memindai label kode batang, menentukan

tingkat pengisian dalam botol, sementara pada instrumen, algoritma yang ditingkatkan mempersingkat waktu untuk deteksi positif.¹⁴ Studi saat ini menggunakan sarana botol BacT Alert/BACTEC® dalam pertumbuhan media kultur bakteri yang akan diuji. Media agar darah dan agar MacConkey membantu fasilitasi pembiakan bakteri uji kultur dan sensitivitas antibiotika (Gambar 1).

Kultur biasanya diinkubasi dengan durasi maksimum 5-7 hari. Sangat sedikit mikroorganisme yang ditemukan antara 5 dan 7 hari. Di antaranya, bakteri atau jamur yang signifikan secara klinis sebagian besar merupakan penghasil CO₂ tingkat rendah, atau mikroorganisme yang tumbuh lambat (misalnya, *Candida spp.*, anaerob obligat, atau *Brucella sp.*).¹⁵ Bila BC tetap negatif pada hari ke-5, beberapa pedoman menyatakan bahwa inkubasi botol harus diperpanjang hingga hari ke-15 atau lebih. Studi berdasarkan sistem pemantauan BC terus menerus telah menunjukkan bahwa waktu inkubasi yang lama tidak secara signifikan meningkatkan sensitivitas BC secara keseluruhan, bahkan karena bakteri dari kelompok HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*) karena mereka ditemukan dalam protokol inkubasi standar 5 hari dalam berbagai penelitian.¹⁶ Lima hari inkubasi tampaknya optimal untuk menyeimbangkan peningkatan pemulihan versus menempati ruang inkubator yang tidak perlu dan menunda pelaporan akhir untuk kultur negatif. Namun, mungkin masuk akal untuk mempersingkat waktu inkubasi menjadi 4 hari atau bahkan 3 hari jika kegagalan peralatan atau lonjakan permintaan untuk kultur darah (misalnya, selama pandemi COVID-19) menyebabkan permintaan mendadak tentang infrastruktur ruang laboratorium yang dapat menampung pengerjaan spesimen.

Berbeda dengan penelitian Bourbeau dan Pohlman yang menyebutkan bahwa 31 isolat signifikan yang terdeteksi pada hari ke-4 atau ke-5 inkubasi, 17 terdeteksi dalam kultur darah bersamaan dalam 3 hari pertama inkubasi.¹⁶ Hasil ini menunjukkan bahwa mungkin tidak perlu menginkubasi botol kultur darah secara rutin selama lebih dari 3 hari.¹⁷ Hampir semua mikroba Gram-negatif (99,30%)

dan Gram-positif (99,01%) terdeteksi dalam 5 hari pertama inkubasi. Selain itu, hampir semua *yeast* (98,85%) terdeteksi dalam jangka waktu ini, yang mengarah pada kesimpulan kuat bahwa masa inkubasi 5 hari cukup untuk mendeteksi hampir semua patogen rutin.¹⁸ Penelitian kali ini menggunakan prinsip kultur sesuai dengan prosedur tetap yang ada di RSUP Sanglah Denpasar dengan memberikan kesempatan uji hingga hari ke-7. Bila terdapat temuan sebelum hari ke-7, maka temuan hari tertentu tersebut menjadikan hasil kultur positif, sedangkan sisanya berlanjut untuk kepastian hasil.

Terdapat kemungkinan kultur positif tidak akan diidentifikasi sebagai positif pada akhir inkubasi 7 hari. Salah satu cara untuk memastikan darah itu merupakan biakan steril pada akhir inkubasi adalah dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram adalah prosedur sederhana, cepat, dan murah, dan juga bisa dilakukan dengan menggunakan sistem otomatis untuk memungkinkan pewarnaan beberapa slide pada saat yang bersamaan.¹⁹ Studi telah menunjukkan bahwa untuk intervensi terapeutik, pelaporan hasil pewarnaan Gram kepada tim perawatan pasien lebih berdampak daripada melaporkan hasil akhir *antimicrobial susceptibility testing* (AST). Waktu pelaporan pewarnaan Gram juga penting. Waktu penyelesaian pewarnaan Gram terhadap hasil kultur darah ditunjukkan dalam penelitian sebelumnya dengan peningkatan mortalitas di antara pasien dengan pelaporan pewarnaan Gram yang tertunda.²⁰ Studi sekarang ini memperlihatkan bahwa temuan proporsi kemunculan bakteri yang dicurigai tidak berbeda jauh antara hasil BS yang menunggu sekian hari dan metode GS yang cukup singkat.

Manfaat utama dari penggunaan BC-GS adalah waktu yang lebih awal untuk melaporkan identifikasi dan resistensi dari kultur darah positif yang memungkinkan pemilihan awal terapi antimikroba yang sesuai dan implementasi tindakan pengendalian infeksi seperti isolasi dan pencegahan kontak.²¹ Hal ini berpotensi membuat dampak yang signifikan dalam sistem penyampaian layanan kesehatan. Perbedaan waktu antara hasil BC-GS dan identifikasi berbasis kultur akhir konsisten

dengan laporan sebelumnya. Beberapa pasien menggunakan terapi yang sesuai atau dapat diterima sebelum hasil kultur darah karena pengobatan empiris (dengan GS sebagai langkah pertama).²² Penelitian saat ini memungkinkan penyampaian suatu hasil kecurigaan bakteri patogen yang menyertai suatu penyakit kritis dari pasien rawat inap, sehingga mengedepankan terapi empiris sekian hari sembari menunggu kepastian hasil akhir kultur.²³ Tatalaksana mikrobiologi ini membantu menurunkan morbiditas dan mortalitas suatu penyakit tertentu yang diderita pasien dan memberikan kemudahan tatalaksana bagi tenaga spesialis yang merawat pasien.

KETERBATASAN PENELITIAN

Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam hal ketersediaan spesimen yang belum mencukupi pengerjaan skala lebih luas. Skala pengujian yang lebih luas memungkinkan dilakukan bila waktu pengumpulan sampel diperpanjang minimal setahun terakhir. Di samping itu, kendala peneliti dalam mengembangbiakan bakteri potensial adalah tidak tersedianya media khusus untuk menumbuhkan bakteri yg sulit tumbuh. Penelitian lebih lanjut diharapkan dapat menutupi kelemahan penelitian deskriptif ini untuk kepentingan klinis dan penyelamatan nyawa pasien secara mikrobiologis yang handal.

SIMPULAN

Hasil pewarnaan gram dapat digunakan sebagai acuan terapi antibiotika empiris karena memiliki tingkat kesesuaian yang tinggi dengan hasil kultur darah positif. Hasil pewarnaan Gram yang mendahului hasil akhir uji kultur bakteri memberikan gambaran penanganan awal pasien yang mengalami bakteremia, termasuk dalam perawatan ICU maupun non-ICU.

KONFLIK KEPENTINGAN

Peneliti menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam pengerjaan penelitian ini dengan pihak lain.

PENDANAAN

Pendanaan dilakukan secara swadaya oleh peneliti.

KONTRIBUSI PENULIS

Putu Yoska Arya Harindana berperan pada *editing*, analisis, dan pendanaan swadaya; Ida Sri Iswari berkontribusi pada supervisi kepada penulis pertama; Indramawan Setyojatmiko memiliki peranan *data sampling*; dan Ni Nengah Dwi Fatmawati merupakan supervisor pada kajian mikrobiologi klinik ini.

KODE ETIK PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kode etik pelaksanaan penelitian yang dinyatakan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor kaji etik 1277/UN14.2.2.VII.14/LT/2021.

KEPUSTAKAAN

- Uehara Y, Yagoshi M, Tanimichi Y, Yamada H, Shimoguchi K, Yamamoto S, *et al.* Impact of Reporting Gram Stain Results from Blood Culture Bottles on the Selection of Antimicrobial Agents. *American Journal of Clinical Pathology*. 2009;132(1):18-25.
- Hoerr V, Zbytnuik L, Leger C, Tam PP, Kubes P, Vogel HJ. Gram-negative and Gram-positive bacterial infections give rise to a different metabolic response in a mouse model. *J Proteome Res*. 2012;11(6):3231-3245. doi:10.1021/pr201274r
- Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, *et al.* A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis*. 2018;67(6):e1-e94. doi:10.1093/cid/ciy381
- Taniguchi T, Tsuha S, Shiiki S, Narita M. Gram-stain-based antimicrobial selection reduces cost and overuse compared with Japanese guidelines. *BMC Infect Dis*. 2015;15:458. doi:10.1186/s12879-015-1203-6
- Thairu Y, Nasir I, Usman Y. Laboratory perspective of gram staining and its significance in investigations of infectious diseases. *Sub-Saharan African Journal of Medicine*, 2014;1(4):168-74.
- Rand KH, Tillan M. Errors in Interpretation of Gram Stains From Positive Blood Cultures. *American Journal of Clinical Pathology*. 2006;126(5):686-90.
- Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G, Verschraegen G, Van Simaey L, De Ganck C, *et al.* Comparison between Gram stain and culture for the characterization of vaginal microflora: Definition of a distinct grade that resembles grade I microflora and revised categorization of grade I microflora. *BMC Microbiology*. 2005;5(1):61.
- Scerbo MH, Kaplan HB, Dua A, *et al.* Beyond Blood Culture and Gram Stain Analysis: A Review of Molecular Techniques for the Early Detection of Bacteremia in Surgical Patients. *Surg Infect (Larchmt)*. 2016;17(3):294-302. doi:10.1089/sur.2015.099
- Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(4):788-802. doi:10.1128/CMR.00062-05
- Żródlowski T, Sobońska J, Salamon D, McFarlane IM, Ziętkiewicz M, Gosiewski T. Classical Microbiological Diagnostics of Bacteremia: Are the Negative Results Really Negative? What is the Laboratory Result Telling Us About the "Gold Standard"?. *Microorganisms*. 2020;8(3):346. doi:10.3390/microorganisms8030346
- Samosir, NE, Loesnihari R, Aman AK. Correlation between Time to Positivity Blood Culture. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 2019; 25(3): 283-289
- Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the-Art. *Front Microbiol*. 2016;7:697. doi:10.3389/fmicb.2016.00697
- Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, *et al.* Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control*. 2015;43(11):1222-1237.
- Gonzalez MD, Chao T, Pettengill MA. Modern Blood Culture: Management Decisions and Method Options. *Clin Lab Med*. 2020;40(4):379-392. doi:10.1016/j.cll.2020.07.001
- Marginson MJ, Daveson KL, Kennedy KJ. Clinical impact of reducing routine blood culture incubation time from 7 to 5 days. *Pathology*. 2014;46(7):636-639. doi:10.1097/PAT.000000000000167
- Bourbeau PP, Pohlman JK. Three days of incubation may be sufficient for routine blood cultures with BacT/Alert FAN blood culture bottles. *J Clin Microbiol*. 2001;39(6):2079-2082. doi:10.1128/JCM.39.6.2079-2082.2001
- Bourbeau PP, Foltzer M. Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. *J Clin Microbiol*. 2005;43(5):2506-2509. doi:10.1128/JCM.43.5.2506-2509.2005
- Moustos E, Staphylaki D, Christidou A, Spandidos DA, Neonakis IK. Major pathogen microorganisms except yeasts can be detected from blood cultures within the first three days of incubation: A two-year study from a University Hospital. *Exp Ther Med*. 2017;14(6):6074-6076. doi:10.3892/etm.2017.5291
- Peretz A, Isakovitch N, Pastukh N, Koifman A, Glyatman T, Brodsky D. Performance of Gram staining on blood cultures flagged negative by an automated blood culture system. *European Journal of Clinical Microbiology*. 2015;34:1539-1541
- Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, *et al.* Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *Am J Clin Pathol*. 2008;130(6):870-876. doi:10.1309/AJCPVMDQU2ZJDPBL
- Roshdy DG, Tran A, LeCroy N, Zeng D, Ou F-s, Daniels LM, *et al.* Impact of a Rapid Microarray-Based Assay for Identification of Positive Blood Cultures for Treatment Optimization for Patients with Streptococcal and Enterococcal Bacteremia. *J Clin Microbiol*, 2015;53(4):1411-1414.
- Kikuchi K, Matsuda M, Iguchi S, Mizutani T, Hiramatsu K, Tega-Ishii M, *et al.* Potential Impact of Rapid Blood Culture Testing for Gram-Positive Bacteremia in Japan with the Verigene Gram-Positive Blood Culture Test. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2017;1:1-10.
- Bramardipa A, Sukrama IDM., Budayanti N. Bacterial pattern and its susceptibility toward antibiotic on burn infection in Burn Unit Sanglah General Hospital. *Bali Medical Journal*. 2019;8(1):328-333. doi:10.15562/bmj.v8i1.1456



This work is licensed under a Creative Commons Attribution