

QUALITY CONTROL OF MICROBIOLOGY LABORATORY

Tri Umiana Soleha

Microbiology Departement, Faculty of Medicine, Universitas Lampung

Abstract

In recent years the establishment of quality standards for goods and services is considered by society at large. One of these is laboratory quality standards. Results of laboratory tests of quality in terms of accuracy, precision, speed, usability, and low cost. In the clinical laboratory, quality control system is one of the steps that must be done in the process of analyzing a sample. [JuKe Unila 2014; 4(8):276-284]

Keywords: laboratory, microbiology, quality control

Pendahuluan

Dalam beberapa tahun belakangan ini penetapan standar mutu bagi barang dan jasa sangat diperhatikan oleh masyarakat luas. Salah satunya standar mutu laboratorium (ISO 17025:2005). Tuntutan informasi teknis dari setiap produk yang diperdagangkan menuntut laboratorium penguji untuk meningkatkan kompetensi dan kepercayaan terhadap hasil uji yang absah.¹

Pada laboratorium klinik, sistem kontrol kualitas merupakan salah satu tahapan yang harus dilakukan dalam proses analisa suatu sampel. Proses kontrol kualitas ini harus dilakukan setiap hari dan dilaporkan dalam jangka waktu tertentu biasanya dalam kurun waktu satu bulan.²

Tujuan kontrol kualitas ini agar dapat mengetahui apakah proses analisa yang dilakukan sesuai dengan ketentuan yang ada, dilihat dari metode, alat analisa, reagen yang digunakan sehingga hasil kontrol yang ada digunakan sebagai acuan apakah sudah masuk dalam faktor ketelitian dan ketepatan (*precisi dan accuracy*) dalam proses analisa.²

I. Definisi

Jaminan mutu laboratorium mikrobiologi adalah suatu usaha atau kegiatan yang dilaksanakan laboratorium untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang bermutu dalam arti:

1. Ketepatan (apakah hasil pemeriksaan betul?)
2. Ketelitian (apakah kalau diperiksa ulang, hasil pemeriksaan tetap sama?)
3. Kecepatan (apakah hasil pemeriksaan cepat dan segera dapat digunakan?)
4. Kegunaan (dapat membantu pencegahan dan pengobatan penyakit menular)
5. Biaya murah (apakah biayanya murah, di dalam hubungannya dengan kemampuan penderita dan masyarakat)

II. Faktor-Faktor yang Berpengaruh Terhadap Ketepatan dan Ketelitian Hasil Pemeriksaan Laboratorium

1. Personil
Kemampuan tehni laboratorium berhubungan dengan mutu pendidikan dan pelatihan, keahlian,

- pengalaman dan kondisi kepegawaian.
2. Lingkungan
Ruang kerja harus cukup cahaya, cukup penerangan, sejuk, tenang, tidak bising oleh suara kendaraan, pendingin ruangan, *freezer*, dan sebagainya.
 3. Spesimen
Pengambilan specimen, pengolahan specimen, penyimpanan specimen, pengiriman specimen dan sebagainya, terkadang kurang diperhatikan, sehingga dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan.
 4. Bahan-bahan laboratorium
Mutu reagensia, bahan kimia, cat, media, binatang percobaan, berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan.
 5. Metode pemeriksaan
Metode pemeriksaan dipilih yang mudah, tepat, dan menurut standard yang diakui oleh departemen kesehatan, *World Health Organization* (WHO), atau lainnya yang bermutu.
 6. Peralatan laboratorium
Alat-alat laboratorium harus baik, berfungsi dengan baik, sesuai standard dan secara rutin di periksa fungsi dan ketepatannya.
 7. Pembacaan dan pemeriksaan
Pembacaan tergesa-gesa (misalnya belum cukup waktu inkubasi) dan pemeriksaan yang tidak tepat (misalnya jumlah lapangan pandang di mikroskop lebih sedikit daripada yang seharusnya) dapat menyebabkan kesalahan
 8. Laporan
Salinan yang salah, laporan yang tidak lengkap dapat menimbulkan problem.^{3,1}

III. Jenis-jenis Jaminan Mutu^{1,7}

1. *Internal quality assurance/Internal quality control* (pementapan mutu internal)

Ini berarti bahwa laboratorium itu mempunyai program pengawasan hasil pemeriksaanya secara terus menerus dan tertentu. Laboratorium bertanggung jawab secara etis untuk memberikan hasil pemeriksaan yang tepat dan bermanfaat bagi pasien. Program pengawasan *internal quality control* dapat dilakukan terhadap:

- a. Prosedur kerja laboratorium meliputi kebersihan ruangan, kesehatan personilnya, pemisahan ruangan kerja dengan ruang makan, minum dan merokok, kesehatan dan keselamatan kerja, penanganan dan penghancuran bahan-bahan reinfeksi, imunisasi karyawan, pemeliharaan alat, penanganan specimen (pengambilan, pengumpulan, pencatatan, penyimpanan, pengiriman dan pengolahan), pencatatan dan pelaporan hasil pemeriksaan, prosedur mudah, terbaru dan sesuai standard.
- b. Pemeliharaan alat yang baik dan benar serta terus menerus akan menghasilkan kerja alat yang baik dan akan mempengaruhi mutu hasil pemeriksaan.
- c. Mutu cat, reagensia, antigen, antisera dan cakram obat
 - Cat dan reagensia
Pengawasan dilakukan setiap kali atau setiap hari apabila reagen atau cat dibuat saat akan melakukan pemeriksaan dengan menyertakan *control* positif

dan *negative*. Pengawasan dapat pula dilakukan setiap 1 minggu, 3 bulan, 6 bulan atau setiap cat atau reagen yang baru dibuka atau dibuat, tergantung dari sifat cat atau reagen itu apabila terpengaruh udara, cahaya dan sebagainya pada waktu penyimpanan. Cat atau reagensia boleh dibuang atau tidak dipakai apabila tanggal kadaluarsanya telah dilampaui atau apabila sudah ada perubahan warna, kekeruhan, dan ada endapan.

- Antigen dan antisera

Beberapa anjuran untuk mendapatkan hasil yang baik dari antigen dan antisera:

1. Selalu mengikuti petunjuk pabrik
2. Simpan dalam suhu yang dianjurkan. Beberapa reagen tidak baik bila disimpan dalam freezer
3. Hindari pengulangan pembekuan dan pencairan
4. Buang zat bila lewat tanggal kadaluarsa
5. Gunakan kultur murni dan baru untuk mengetes antisera
6. Selalu menyertakan serum *control negative* dan positif setiap menggunakan antigen baru.

- Cakram obat

Untuk mengurangi kesalahan dalam penggunaan *disc* obat, ikutilah petunjuk berikut:

- Cakram obat harus betul diameternya (6,35m)
- Cakram obat harus betul potensinya (tes dengan strain)
- Cakram obat stock disimpan pada -20 C
- Cakram obat untuk kerja sehari-hari tidak boleh disimpan lebih dari 1 bulan pada 2-8°C
- Cakram obat yang baru dibeli ditest dulu potensinya dengan strain *standard*

d. Pemeliharaan dan penyimpanan kultur bakteri standar

1. Stock kultur: harus baik dan murni, baik berarti harus cocok sifat-sifat morfologinya, kulturnya, biokimianya, tes kimianya, dan serologinya. Murni berarti kultur tersebut tidak ada kontaminasi dengan bakteri lain.

Stock kultur yang harus dimiliki adalah:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus faecalis*
- *Streptococcus pneumonia*
- *Streptococcus typhimurium*
- *Shigella flexneri*
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Enterobacter cloacae*
- *Klebsiella pneumonia*
- *Citrobacter freundii*
- *Serratia marcescens*

- *Proteus mirabilis*
 - *Yersinia enterocolitica*
 - *Acinetobacter calcoaceticus*
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853
 - *Vibrio cholera* 01 (non 01)
 - *Branhamella catharalis*
 - *Neisseria meningitides*
 - *Haemophylus influenza*
 - *Haemophylus para-influenzae*
 - *Bacteroides fragilis*
 - *Clostridium perfringens*
 - *Candida albicans*
2. Penyimpanan dan Pengawetan
- Cara yang terbaik untuk menyimpan kultur bakteri yaitu dengan di lyophilize (kering dan dingin) atau disimpan pada suhu -70°C dengan deepfreezer.
 - Stock kultur dapat disimpan dengan disuspensikan di dalam glycerol, disimpan pada suhu kurang dari 20°C , dapat bertahan hidup 1 tahun atau lebih. Dapat pula disimpan dengan cara ditanam didalam Trypticase soy agar tabung tegak, dapat disimpan pada suhu kamar, ada yang dapat bertahan sampai 10 tahun.
 - Kultur rutin dapat disimpan degna kultur goresan pada TSA tabung, pada suhu kamar. Bakteri yang cepat tumbuh dan umurnya pendek boleh dipindahtanamkan setiap 2-3 hari sekali.
3. Pemeliharaan kultur bakteri
- Untuk menjaga kelangsungan hidup bakteri yang disimpan. Ini dilaksanakan dengan menanam kembali bakteri yang disimpan pada media baru yang sejenis, dalam jangka waktu tertentu. Pemeliharaan ini diperuntukkan bagi bakteri yang disimpan dengan kultur tusukan dan kultur goresan. Media yang digunakan yaitu Nutrien agar, Trypticase soy agar, Brain Heart Infusion agar, Blood agar.
 - Untuk menjaga kemurnian bakteri yang disimpan. Disamping untuk menghindari pencemaran bakteri lain dari udara, juga untuk menjaga kestabilan sifat-sifat morfologis, kulturil, biochemist, serologis dan pathogenitasnya kalau mungkin. Pemeliharaan ini terutama ditujukan untuk bakteri yang akan disimpan lama atau bakteri yang akan digunakan untuk mengecek disc obat atau untuk pembanding.
- e. Penggunaan laboratorium rujukan
- Bakteri yang tidak dapat diidentifikasi, hasil pemeriksaan yang meragukan dapat dikirim atau dirujuk ke laboratorium

rujukan untuk memperoleh kepastian hasil identifikasi atau hasil pemeriksaan.

- Kadang-kadang laboratorium rujukan dapat melaksanakan program External Quality Assesment.

2. *External Quality Assurance*

Disebut juga *External Quality Assesment* atau kemantapan mutu keluar artinya laboratorium kita dites mutu hasil pemeriksaannya oleh laboratorium lain (biasanya pemerintah) nasional maupun internasional.

Tujuan dari program penerapan mutu:

1. Memberikan jaminan mutu kepada konsumen, dokter, rumah sakit, masyarakat bahwa hasil pemeriksaan bermutu baik.
2. Menetapkan dan membandingkan ketepatan hasil pemeriksaan suatu laboratorium secara nasional.
3. Mengidentifikasi kesalahan-kesalahan umum.
4. Mendorong penggunaan prosedur yang seragam dan reagensia yang standar
5. Mengukur kemampuan administratif. Program penetapan mutu suatu laboratorium dapat dilaksanakan sebagai berikut:
 - Dengan mengirimkan specimen atau kultur bakteri yang tidak diketahui isinya, ke laboratorium yang di tes kemampuannya, untuk memeriksanya dengan cara yang digunakan sehari-hari dan kemudian melaporkan hasilnya.

- Frekuensi penetapan minimal 4 kali dalam setahun idealnya 12 kali dalam setahun, setiap kali minimal 3 spesimen atau kultur bakteri.
- Waktu pelaksanaan pemeriksaan dan pelaporan oleh laboratorium yang ditetapkan mutu atau kemampuannya dibuat sesingkat mungkin, misal 1 minggu setelah spesimen diterima.
- Petunjuk pelaksanaan dan blanko laporan diserahkan bersama-sama *specimen*.

Faktor teknis yang perlu diperhatikan antara lain:

1. Sumber daya manusia yang mempunyai kualifikasi dan pengalaman
2. Kalibrasi dan perawatan peralatan laboratorium yang tepat
3. Sistem jaminan mutu yang sesuai
4. Teknik pengambilan contoh uji dan metode pengujian yang telah divalidasi
5. Mampu telusur pengukuran dan system kalibrasi ke standard nasional atau internasional
6. Sistem dokumentasi dan pelaporan data hasil pengujian
7. Sarana dan lingkungan kerja pengujian

IV. Parameter Dalam Penjaminan Mutu^{4,5}

1. Parameter Sterilisasi
Sterilisasi media mempunyai peranan penting dalam kualitas

media. Umumnya dilakukan autoklaf untuk sterilisasi media. Namun, waktu autoklaf dan kuantitas media harus disterilkan secara diatur. Heat treatment media kultur kompleks dapat mengakibatkan kerusakan gizinya baik melalui degradasi termal langsung atau dengan reaksi antar komponen. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengoptimalkan proses pemanasan untuk meminimalkan pemanasan kerusakan. Siklus yang disarankan adalah tahap 1:20-121 ° C, tahap 2: <100-121 ° C, tahap 3:121-121 ° C dan tahap 4:121-80 ° C.

Volume media dalam satu batch sterilisasi harus tetap kecil, idealnya dua liter. Reguler memeriksa dari proses sterilisasi dengan indikator harus dilakukan; suhu dan tekanan juga harus terus-menerus dipantau. Sterilisasi indikator seperti indikator biologis dan tes Bowie Dick yang tersedia untuk memeriksa efisiensi proses. Indikator biologi seperti spora *Bacillus stearothermophilus* dapat digunakan untuk memeriksa pembunuhan kemanjuran spora.

2. Parameter Fisik

Penampilan fisik kotor media sering menunjukkan kualitas. Media disiapkan harus diperiksa untuk ciri-ciri fisik seperti gelembung yang berlebihan atau lubang, tidak setara pengisian pelat (leveling seragam), retak menengah di piring dan pembekuan atau kristalisasi. Semua karakter yang disebutkan di atas dapat diperiksa secara visual oleh mata telanjang. Namun, untuk yang tidak sama mengisi pelat, ketebalan medium dapat diperiksa pada empat poin. Keempat poin

adalah dua ujung dari dua diameter piring, yang tegak lurus satu sama lain. Jadi, semua empat sisi dapat diperiksa secara bersamaan. Ketebalan pada empat poin adalah catat dan ketebalan rata-rata ditentukan dan dilaporkan sebagai rata-rata ketebalan medium di piring, yang harus $4,0 \pm 0,2$ mm.

Nilai pH medium juga salah satu karakter fisik penting, yang harus diperiksa. Hal ini dapat diukur sementara persiapan medium sebelum dan sesudah autoklaf dengan menggunakan pH meter standar setelah kalibrasi yang tepat dengan buffer standar.

3. Parameter Mikrobiologi

Pendukung pertumbuhan karakteristik adalah parameter yang paling penting saat melakukan pengendalian kualitas media. Prosedur baku inokulasi harus digunakan. Hasilnya harus diperiksa secara kualitatif dan kuantitatif dan saat pengujian banyak baru, baik batch sebelumnya dan batch baru harus tumbuh secara bersamaan.

National committee for clinical laboratory standards (NCCLS)/ Komite Nasional untuk standar laboratorium klinis (NCCLS) telah menetapkan pedoman tertentu untuk organisme kontrol yang akan digunakan untuk setiap medium, konsentrasi inokulum yang diinginkan dan hasil yang diharapkan mereka pertumbuhan. Inokulum untuk medium setiap dapat dipersiapkan sesuai dengan metode dimana organisme kontrol diinokulasikan pada kasein kacang kedelai digest (SCD) kaldu dan diinkubasi selama 4 jam untuk mendapatkan densitas sel

dibandingkan dengan 0,5's standar McFarland. Standar ini suspensi harus memberikan koloni hitungan 10^7 - 10^8 cfu/(0,08 mL -0.1 absorbansi pada 625 nm). 10 μ L jumlah inokulum 1 dalam 10 dan 1 dalam 100 pengenceran dalam salin normal atau dalam kaldu SCD harus digunakan untuk dan nonselektif masing media selektif. Ini inokulum diencerkan digunakan untuk memastikan pertumbuhan mendukung kapasitas media. Penyuntikan ini dilakukan di duplikat untuk setiap jenis inokulum. Setelah inokulasi, piring-piring yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan pertumbuhan mereka dan karakteristik koloni yang diamati. Hasilnya dapat dilaporkan oleh kehadiran menyebutkan atau tidak adanya pertumbuhan dan karakteristik pertumbuhan dalam bentuk tabel.

Dalam prakteknya, pengukuran mutlak dari pertumbuhan mikroorganisme yang baik memakan waktu atau memerlukan instrumen yang canggih. Ukuran koloni dapat digunakan untuk melihat kinerja tetapi lagi indikator tidak sensitif. Karakteristik koloni bersifat subyektif dan sangat sulit untuk merekam.⁵⁻⁸

4. Parameter Kontaminasi

Ini adalah parameter yang sangat penting bagi penentuan kualitas media. Batch tersebut harus benar-benar diperiksa untuk kontaminasi sebelum melewati untuk penggunaan laboratorium. Hal ini juga menyarankan bahwa batch seluruh media disiapkan diperiksa untuk kontaminasi dengan menjaga pelat minimal selama tiga

hari pada suhu kamar. Atau, dua piring dari batch tes dapat diambil dan ditempatkan ke dalam inkubator ditetapkan 37 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi diperlukan, pelat diperiksa untuk pertumbuhan apapun. Jika ada pertumbuhan apapun, proses ini diulang, mengambil lagi dua piring dari batch yang sama. Jika pencemaran terjadi lagi, maka disimpulkan bahwa kontaminasi telah terjadi di batch disiapkan. Sesuai rekomendasi lebih dari 10% kontaminasi membutuhkan batch yang akan dibuang.⁹

5. Parameter Kekuatan Gel

Kekuatan gel merupakan indikasi tingkat pemadatan dari agar-agar dalam medium. Kekuatan gel diukur dengan menggunakan tripod berdiri dengan batang pusat yang digunakan untuk memberikan tekanan pada agar-agar. Ujung bawah batang memiliki porsi bulat, yang terletak pada permukaan media. Ujung atas batang memiliki platform yang standar bobot ditempatkan. Bagian bulat dari batang pusat ditempatkan pada media dan bobot yang ditempatkan pada satu platform atas oleh satu dan diamati selama beberapa waktu. Proses dilanjutkan sampai istirahat agar-agar di bawah berat batang pusat. Sementara menghitung kekuatan gel berat dari batang pusat harus dikurangi. Gaya disampaikan oleh batang pada permukaan agar-agar dapat dihitung dengan rumus: W/pr^2 . Dimana, w=berat terus platform, r=radius bagian bulat di ujung bawah batang pusat dan p=3,14. Sebuah kekuatan gel sekitar 300-

500 dynes/cm² akan memberikan hasil yang memuaskan (data tidak dipublikasikan).

Kontrol kualitas (QC) media yang digunakan dalam laboratorium mikrobiologi klinis tetap penting untuk isolasi yang akurat dan dapat diterima patogen dari pasien yang terinfeksi. Pengujian media menggunakan protokol standar dapat menghemat waktu dan sumber daya. Dalam sebuah studi kepatuhan QC baru-baru ini di Ontario, ditemukan bahwa NCCLS QA rekomendasi tidak diikuti sama sekali. Selain itu, strain ATCC direkomendasikan digunakan hanya setengah dari laboratorium berpartisipasi. Tingkat kegagalan Lot untuk semua media berkisar dari 0,10% menjadi 9,87% (rata-rata 1,01%). Alasan kegagalan ada pertumbuhan (39,9%), tidak ada inhibisi (18,6%), non-steril (17,9%), hemolisis (7,2%) dan cacat permukaan (16,3%).

Dalam studi lain ditemukan bahwa tingkat batch kegagalan adalah jarang (0,5%). Krisher *et al* menunjukkan bahwa 41 dari 109 responden yang digunakan hanya 50% atau informasi kurang dari NCCLS M22-A2. Di Dokumen terbaru NCCLS M22-A3, media dibagi berdasarkan tingkat kegagalan kontrol kualitas ekstrapolasi. Media dengan tingkat kegagalan ekstrapolasi lebih dari 0,5% membutuhkan kontrol kualitas menyeluruh oleh pengguna dan dikenal sebagai media nonexempt seperti gizi kaldu, kaldu Todd-Hewitt, MacConkey agar-agar sorbitol, coklat agar-agar dengan IsoVitalEx,® *Campylobacter* darah

agar, otak infus jantung (BHI) baik dengan darah domba 5%/kloramfenikol dan cycloheximide. Mereka dengan angka kegagalan kurang atau sama dengan 0,5% adalah media yang dikecualikan untuk pengendalian kualitas minimal dianjurkan. Ini akan meminimalkan biaya dan tidak perlu duplikasi dari kualitas kontrol laboratorium.^{8,10}

Simpulan

Hasil pemeriksaan laboratorium yang bermutu adalah dalam arti ketepatan, ketelitian, kecepatan, kegunaan dan biaya murah. Pada laboratorium klinik, sistem kontrol kualitas merupakan salah satu tahapan yang harus dilakukan dalam proses analisa suatu sampel.

Daftar Pustaka

1. Snell JJS, Brown DFJ, Roberts C. Quality assurance: principles and practice in the microbiology laboratory. J Antimicrob Chemother. 2000; 46(5):865.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Application of quality management system model of laboratory service. Edisi ke-3. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute. 2004
3. National Committee for Quality Assurance. Measuring quality: improving health [internet]. Washington, D.C.: National Committee for Quality Assurance. 2014 [disitasi pada 2014 Ags 24] Tersedia dari: <http://web.ncqa.org/tabid/661/default.aspx>.
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Scherenkenberger PC, Win Jr. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincot-Raven Publishers; 1997.
5. Cheesbrough M. District laboratory practise in tropical countries. New York: Cambridge University Press; 2000.
6. Arora DR. Quality assurance in microbiology. IJMM. 2004; 22(2):81-6
7. World Health Organization. Practice of quality assurance in laboratory medicine in developing countries: in Health laboratory services in support of primary health care in developing countries. New Delhi: World Health Organization; 1994.

8. Cheesbrough M. District laboratory practice in tropical countries part 1. Edisi pertama. England: Cambridge University Press; 1998.
9. Laboratorium Pengujian Bioteknologi [internet]. Bogor: Laboratorium Pengujian Bioteknologi; 2014 [disitasi pada 2014 Sep 15]. Tersedia dari: www.biotek.lipi.go.id
10. National Accreditation Board for Testing and Calibration Laboratories. Specific guidelines for accreditation of clinical laboratories. India: National Accreditation Board for Testing and Calibration Laboratories; 1998.