

PERBANDINGAN SEDIAAN BASAH DENGAN SEDIAAN GRAM HAPUSAN SEKRET VAGINA UNTUK DIAGNOSIS BACTERIAL VAGINOSIS

(The Comparison of Wet Mount and Gram Stain Method for Vaginal Smear in Bacterial Vaginosis)

P. B. Notopoero, Prihatini

ABSTRACT

Bacterial vaginosis (BV) is a clinical condition with changes in the vaginal ecosystem. Under normal conditions, the vaginal ecosystem contains *Lactobacilli* microflora but in BV condition, it contains mixed microflora ie combination of anaerobic bacteria and *Gardnerella* sp. There are approximately 300 cases of BV a year in the Dr. Soetomo General Hospital. We can examine vaginal fluid microscopically to diagnose BV with wet mount and Gram stain method. Wet mount method is fast to do that clinicians can establish the diagnosis and therapy earlier. Gram stain method is the gold standard method and more common to do in the laboratory but the staining method can affect the result. This study aims to know the diagnostic value of wet mount method compared with Gram stain method for BV. There were 30 subjects from the Gynaecology Outpatient Clinic in the Dr. Soetomo General Hospital. They presented with from the leucorrhoea and fulfilled the clinical criteria for BV. We took the vaginal fluid and examined them with wet mount and Gram stain microscopy. The percentage of agreement between wet mount and Gram stain method for BV Grade I is 66%, BV grade II is 66%, BV grade III is 84.6%, and BV grade IV is 100%. The sensitivity of wet mount method is 85.71%, the specificity is 88.88%, the positive predictive value and negative predictive value are 94.73% and 72.72%. Based on these data, wet mount method can replace Gram stain method to diagnose BV microscopically in the case that there is not enough time and resource for Gram stain. The wet mount method has good sensitivity, specificity, positive and negative predictive value. Wet mount method has a shortcoming in identifying the microorganism, but this problem can be solved by combining this method with Gram stain method.

Keyword: Bacterial vaginosis, wet mount method, Gram stain method.

PENDAHULUAN

Bacterial Vaginosis (BV) adalah suatu keadaan klinik yang ditandai oleh adanya perubahan ekologi vagina, yang pada keadaan normal berisi flora morfotipe *Lactobacilli* sp menjadi keadaan BV yang berisi campuran flora yaitu kombinasi bakteri anaerob dan *Gardnerella vaginalis*.¹ BV merupakan penyebab terbanyak keluhan keputihan (*leukorhea*) di negara maju. Di RSUD dr. Soetomo Surabaya ditemukan sebanyak 325 kasus BV per tahun.² Schwebke dkk,¹ melaporkan bahwa prevalensi BV berkisar antara 40–50% dari populasi yang memiliki risiko tinggi untuk menderita penyakit menular seksual (PMS).

Diagnosis BV ditegakkan secara klinik dengan menggunakan kriteria Amsel yang terdiri dari: adanya sekret vagina yang homogen tipis, pH vagina > 4,5, uji *Whiff* positif dengan KOH 10% , adanya *Clue cell*.

Diagnosis BV perlu didukung oleh suatu pemeriksaan mikroskopik hapusan cairan vagina, yang dinilai dengan menggunakan kriteria diagnosis mikroskopik BV. Spiegel dkk,³ merumuskan suatu sistem penilaian mikroskopik yang membagi flora vagina menjadi 2 kelompok yaitu flora normal yang terdiri dari morfotipe *Lactobacilli* sp dan flora BV yang

terdiri dari campuran flora (*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp, *Bacteroides* sp).³ Pada tahun 1991, Nugent mengemukakan adanya keadaan intermediet yang merupakan keadaan peralihan antara flora normal dan flora BV yaitu keadaan yang terdiri dari campuran flora antara *Lactobacilli* sp dengan jumlah yang bermakna dan flora BV. Sistem penilaian Nugent ini digunakan sebagai baku emas sistem penilaian mikroskopik untuk mendukung diagnosis BV. Pada sistem ini dilakukan kuantifikasi flora cairan vagina secara mikroskopik, sehingga sistem ini memerlukan waktu pemeriksaan yang lama dan keahlian yang tinggi dari teknisi laboratorium.^{1,3}

Pada tahun 2002, Ison dkk,⁴ menemukan suatu sistem penilaian baru untuk mendukung diagnosis BV yang bersifat kualitatif. Kriteria tersebut disebut sebagai kriteria Hay-Ison⁴ yang terdiri dari: *Grade I*: Flora normal , *Lactobacilli* saja, *Grade II*: Flora intermediet, campuran flora dengan jumlah *Lactobacilli* sedikit berkurang, *Grade III*: Flora BV, campuran flora dengan *Lactobacilli* sedikit atau tidak ada, *Grade 0* : Sel epitel tanpa bakteri, *Grade IV*: Sel epitel dengan bakteri *coccus*. *Grade I, II, 0* dianggap sebagai BV negatif, sedangkan *grade III, IV* adalah BV positif.⁴

Pemeriksaan mikroskopik untuk diagnosis BV dilakukan dengan menggunakan sediaan basah dan sediaan dengan pengecatan tertentu. Sediaan basah

* Bagian Patologi Klinik FK UNAIR-RSU dr. Soetomo, email: pdsptklinik_sby@telkom.net

dilakukan secara cepat supaya dapat mendukung diagnosis, sehingga terapi dapat diberikan lebih dini. Sediaan dengan pengecatan rutin dilakukan di laboratorium, tetapi hasilnya dipengaruhi teknik pengecatan. Donders dkk,⁵ melaporkan bahwa pada sediaan Gram memiliki hasil positif palsu lebih tinggi daripada sediaan basah.^{4,5} Selain hal itu, menurut Donders dkk pengenalan morfotipe *Lactobacilli* lebih mudah dilakukan disediaan basah daripada sediaan Gram.⁴ Hal ini disebabkan karena hilangnya sejumlah besar *Lactobacilli* pada proses fiksasi atau proses pengecatan Gram.⁵

Tujuan dan manfaat penelitian ialah untuk memperoleh informasi keandalan pemeriksaan sediaan basah, dibandingkan dengan pemeriksaan sediaan Gram cairan (sekret) vagina untuk mendukung diagnosis BV.

BAHAN DAN METODE

Subyek penelitian: 30 penderita yang berobat di Poli Kandungan RSUD Soetomo Surabaya, dengan keluhan keputihan (*leukorrhea*) dan memenuhi kriteria Amsel. Waktu penelitian: bulan Maret 2006–Mei 2006. Kriteria eksklusi (penolakan): penderita dengan keluhan keputihan yang telah mendapatkan pengobatan antibiotika dalam 2 minggu sebelum pengambilan sampel. Penderita memberi persetujuan tindakan medik.

Pemeriksaan sediaan basah⁶

1) spekulum vagina dimasukkan ke dalam vagina sebelum pemeriksaan vagina lain dilakukan, 2) tidak digunakan bahan lubrikasi vagina pada spekulum, 3) sekret vagina diambil dengan sengkeli steril di *fornix lateralis* dan *fornix posterior*, 4) sengkeli dioleskan pada gelas objek yang telah diberi NaCl 0,9% steril 1 tetes, kemudian ditutup dengan gelas penutup, segera diperiksa dengan mikroskop dengan pembesaran 10–40 ×, dilakukan penilaian sediaan dengan sistem Hay-Ison.⁴

Pemeriksaan sediaan pengecatan Gram⁶ (Baku emas metode pemeriksaan mikroskopik diagnosis BV):

1) spekulum vagina dimasukkan ke dalam vagina sebelum pemeriksaan vagina lain dilakukan, 2) tidak digunakan bahan lubrikasi vagina pada spekulum, 3) sekret vagina diambil dengan lidi kapas steril di *fornix lateralis* dan *fornix posterior*, 4) lidi kapas digulungkan pada gelas objek, gelas objek dikeringkan dan dilakukan fiksasi di atas nyala api, 5) pengecatan Gram kemudian dibaca dengan mikroskop dengan pembesaran 10×, 40×, 100× dengan minyak imersi. Kemudian dilakukan penilaian sediaan dengan sistem Hay-Ison.⁴

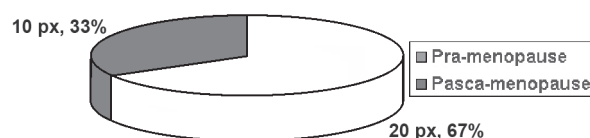
Teknik pengecatan Gram (Reagen modifikasi Hucker)⁷

1) sediaan diberi *crystal violet* selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air yang mengalir, 2) berikan *mordant* larutan lugol iodine selama 30 detik, kemudian cuci lagi dengan air yang mengalir, 3) berikan peluntur *acetone alcohol* 1–5 detik, kemudian cuci dengan air mengalir, 4) sediaan diberi safranin (*counterstain*) selama 30 detik, setelah itu cuci dengan air mengalir dan sediaan dikeringkan.

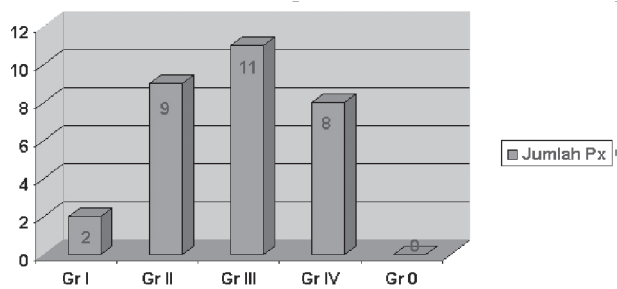
HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah subyek penelitian adalah 30 orang, dengan pembagian 10 penderita (33%) berstatus premenopause dan 20 penderita (67%) berstatus pasca-menopause (Gambar 1). Berdasarkan hasil pemeriksaan sediaan basah, didapatkan hasil sebanyak 2 orang merupakan *grade* I, 9 orang *grade* II, 11 orang *grade* III, 8 orang *grade* IV dan tidak ada penderita yang merupakan *grade* 0 (Gambar 1). Berdasarkan hasil pengecatan Gram sediaan cairan vagina didapatkan hasil sebanyak 3 orang merupakan *grade* I, 6 orang *grade* II, 13 orang *grade* III, 8 orang *grade* IV, tidak ada seorangpun merupakan *grade* 0 (Gambar 2). Menurut kriteria Hay-Ison,⁴ hasil pembacaan sediaan dengan *grade* I, II, 0 dikategorikan sebagai BV negatif, sedangkan hasil pembacaan *grade* III, IV dikategorikan sebagai BV positif.⁵

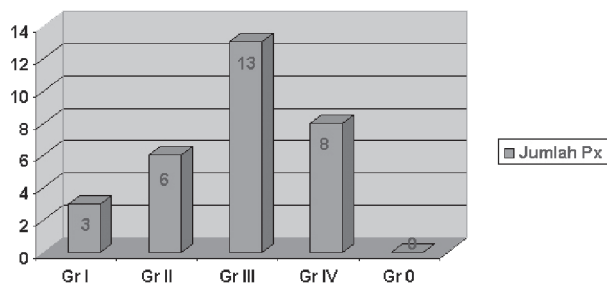
Pada pemeriksaan sediaan Gram ditemukan 2 penderita (8%) yang memiliki gambaran *diplococcus* Gram negatif, sehingga dicurigai sebagai penderita terinfeksi *Neisseria gonorrhoeae*. Untuk konfirmasi perlu dilakukan pembiakan kuman dan uji gula spesifik untuk kuman tersebut. Pada pemeriksaan sediaan basah ditemukan sebanyak 4 penderita memiliki gambaran *budding yeast cell* sehingga dicurigai sebagai penderita terinfeksi jamur. Kesesuaian hasil antara pemeriksaan sediaan basah dengan sediaan Gram sebagai berikut: *grade* I sebanyak 2 dari 3 penderita (66%), *grade* II sebanyak 6 dari 9 penderita (66%), *grade* III sebanyak 11 dari 13 penderita (84,6%), *grade* IV sebanyak 8 dari 8 penderita (100%).



Gambar 1. Status menstruasi penderita *leukorrhea* dengan diagnosis dugaan BV



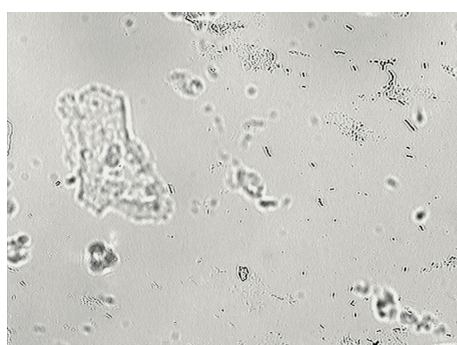
Gambar 2. Hasil pemeriksaan sediaan basah



Gambar 3. Hasil pemeriksaan sediaan pengecatan Gram



BV Grade II



BV Grade III

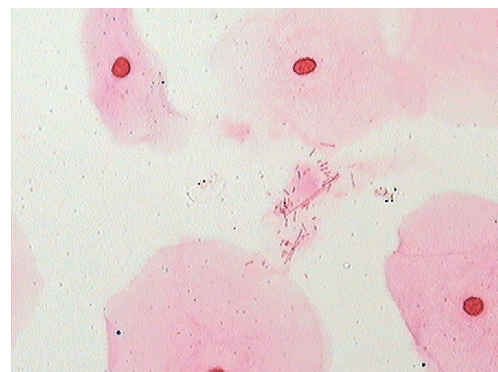
Gambar 4. Hasil pemeriksaan sediaan basah, BV grade II dan III

Grade II : Flora intermediet, campuran flora dengan jumlah *Lactobacilli* kurang,

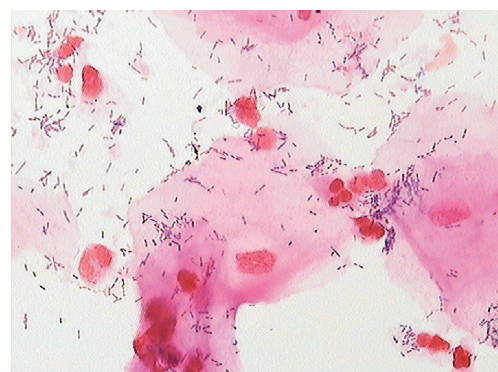
Grade III : Flora BV, campuran flora dengan *Lactobacilli* sedikit atau tidak ada

Terdapat perbedaan hasil pembacaan antara sediaan basah dan sediaan pengecatan Gram pada 5 penderita, sebanyak 3 penderita dengan hasil pembacaan sediaan basah grade II dan pengecatan Gram grade III, sebanyak 1 penderita dengan hasil pembacaan sediaan basah grade III dan pengecatan Gram grade II, dan sebanyak 1 penderita dengan hasil sediaan basah grade II dan pengecatan Gram grade I. (Tabel 1).

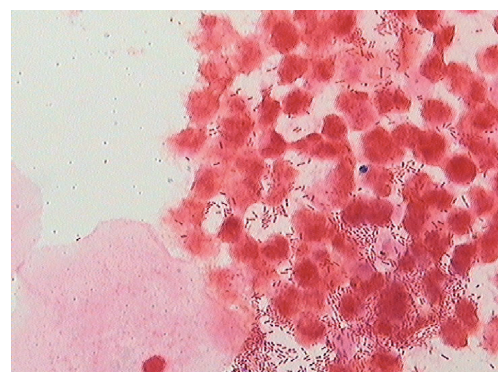
Tabel 1. Perbedaan Hasil Sediaan Basah dan Sediaan Pengecatan Gram



BV Grade II



BV Grade III



BV Grade IV

Gambar 5. Hasil pemeriksaan sediaan Gram

Grade 0,I,II, : dianggap sebagai BV negatif, sedangkan grade III, IV adalah BV positif.

Grade IV : Sel epitel dengan bakteri coccus. ⁴

Sediaan Basah	Sediaan Pengecatan Gram	Jumlah
Gr II	Gr III	3
Gr III	Gr II	1
Gr II	Gr I	1

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh sensitivitas pemeriksaan sediaan basah adalah sebesar 85,71% dan spesifisitas 88,88%. Pemeriksaan sediaan basah memiliki nilai ramal positif sebesar 94,73% dan nilai ramal negatif sebesar 72,72%. (Tabel 2). Pada penelitian ini pengecatan Gram digunakan sebagai metode baku emas untuk menegakkan diagnosis *Bacterial vaginosis*.¹

Tabel 2. Penderita dengan Diagnosis BV positif dan BV negatif Berdasarkan Sediaan Basah & Pengecatan Gram

		Pengecatan Gram		
		BV +	BV -	Jumlah
Sediaan Basah	BV +	18	1	19
	BV -	3	8	11
Jumlah		21	9	30

Menurut penelitian yang dilakukan Donders dkk⁵ disimpulkan bahwa pemeriksaan sediaan basah lebih baik dalam menggambarkan proporsi *Lactobacilli* daripada pemeriksaan sediaan Gram. Hal ini disebabkan karena pada proses fiksasi dan proses pengecatan Gram terjadi hilangnya sejumlah besar *Lactobacilli*. Donders dkk⁵ melaporkan kesesuaian hasil pembacaan sediaan basah dan hasil pembacaan sediaan Gram pada BV grade I sebesar 12%, BV grade II sebesar 54%, dan BV grade III sebesar 66%.⁵ Pada penelitian ini didapatkan hasil kesesuaian antara hasil pembacaan sediaan basah dan hasil pembacaan sediaan pengecatan Gram pada BV grade I sebesar 66%, BV grade II sebesar 66%, BV grade III sebesar 84,6%, dan BV grade IV sebesar 100%. Adanya perbedaan hasil pada penelitian ini kemungkinan karena perbedaan jumlah sampel yang digunakan dan hilangnya sejumlah *Lactobacilli* dan mikroorganisme lainnya pada saat proses fiksasi dalam pengecatan Gram.^{4,5}

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka pemeriksaan sediaan basah dapat menggantikan pengecatan Gram dalam diagnosis kasus BV apabila tidak tersedia cukup waktu dan sarana untuk melakukan pengecatan Gram. Hal ini disebabkan karena pemeriksaan sediaan basah memiliki tingkat kesesuaian hasil pembacaan yang tinggi dibandingkan hasil pembacaan sediaan Gram. Pemeriksaan sediaan basah yang praktis, cepat dan mudah untuk dilakukan juga dapat mendeteksi adanya gerakan *Trichomonas vaginalis* yang tidak terlihat pada sediaan Gram. Di samping itu, pemeriksaan sediaan basah memiliki derajat sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif

dan negatif yang tinggi untuk mendiagnosis kasus BV. Pemeriksaan sediaan basah memiliki kelemahan yaitu adanya kesulitan dalam identifikasi jenis mikroorganisme, contoh *Streptococci*, *Neisseria gonorrhoe* dll yang pada pemeriksaan sediaan basah hanya terlihat sebagai coccus saja. Kelemahan ini dapat diatasi dengan melakukan kombinasi pemeriksaan dengan pemeriksaan sediaan dengan teknik pengecatan Gram.³

SIMPULAN

Pemeriksaan sediaan basah merupakan sarana diagnosis *Bacterial vaginosis* (BV) secara mikroskopik yang sederhana, cepat, praktis, dan mudah dilakukan. Pemeriksaan sediaan basah dapat memberi gambaran proporsi mikroorganisme cairan vagina yang mempunyai tingkat kesesuaian yang tinggi dibandingkan dengan hasil pengecatan Gram. Pemeriksaan sediaan basah dilakukan apabila tidak tersedia sarana untuk melakukan pengecatan Gram dan apabila diperlukan waktu pemeriksaan yang cepat. Pemeriksaan sediaan basah memiliki kelemahan yaitu sulit untuk menentukan identifikasi jenis mikroorganisme. Kelemahan ini dapat diatasi dengan melakukan kombinasi pemeriksaan sediaan Gram. Pengecatan Gram tetap diperlukan dalam diagnosis mikroskopik BV karena pengecatan Gram dapat mengidentifikasi jenis kuman berdasarkan hasil pengecatan Gram.

DAFTAR PUSTAKA

1. Scwebke JR, Hillier SL, Sobel JD, McGregor J, Sweet R. Validity of the Vaginal Gram Stain for the Diagnosis of Bacterial Vaginosis. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 573–6.
2. Sistem Informasi Manajemen RSU dr. Soetomo. Kartu Indeks Penyakit RSU dr. Soetomo Surabaya. 2005.
3. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of Bacterial Vaginosis by Direct Gram Stain of Vaginal Fluid. *J Clin Microbiol*.1983; 18: 170–7.
4. Hay PE, Ison CA. Validation of Simplified Grading of Gram Stained Vaginal Smears for Use in Genitourinary Medicine *Clinics Sex. Transm. Inf.* 2002; 78: 413–15.
5. Forsum U, Jakobsen T, Schmidt H, Beverly A, Bionerem, Carlsson B, Donders G, Ison CA, Hay PE, Keane F, McDonald H, Moi H, Scwebke J. An International Study of the Interobserver Variation Between Interpretations of Vaginal Smear Criteria of Bacterial Vaginosis. *APMIS* 2002; 110: 811–8.
6. Donders GB, Vereecken A, Dekeersmaecker a, Bulck BV, Spitz B. Wet Mount Microscopy Reflects Functional Vaginal Lactobacillary Flora Better than Gram Stain. *J.Clin Pathol.* 2000; 53: 308–13.
7. Cheesbrough M. Collection, Transport and Examination of Urogenital Specimens. In *Medical Laboratory Manual for Tropical Countries: Microbiology*. 1984; 2: 130–6.