

New Evidence of Spondylitis Tuberculosis: Pyogenic Microorganism Contamination or Mixed Infection?

Rahyussalim¹, Rukmana A², Ismail HD¹, Lubis AM¹, Kurniawati T³

1. Department Medic Orthopaedic & Traumatology Faculty of Medicine University of Indonesia/Cipto Mangunkusumo Hospital. Diponegoro Street 71, Jakarta, Indonesia.
2. Department Microbiology Clinic Faculty of Medicine University of Indonesia. Jl. Pegangsaan Timur No. 16 Jakarta, Indonesia.
3. Departement Chemistry Faculty of Mathematics & Natural Science University of Indonesia. Kampus Baru Depok, Indonesia.

ABSTRACT

Introduction. Type of bacteria causing spondylitis is necessary to be specifically recognized. It influences the therapy approach. Mixed bacterial infections found is nowadays being an important issue. This paper revealed evidence of other bacteria in spondylitis tuberculosis as if they are in the condition of mixed infection or contamination.

Materials and methods. Examining the morphology of bacteria was investigated using stain and culture techniques on selective and differential medium to Spondylitis material. All tissue lesions, solid, semisolid and liquid including bone sequester, granulation tissue, pus, and necrotic tissue were used to inspect the raw materials.

Results. It has been successfully identified and isolated. The identification revealed three bacteria, namely *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium tuberculosis* which was derived from solid lesions (sequester and necrotic tissue), semisolid (granulation tissue) and liquid (pus). All of the bacteria were taken from four patients with spondylitis. The result shows that from overall four, there is one case of spinal infection by three bacteria that cause infection.

Conclusions. Culture examination should be using solid, semisolid and liquid material in order to obtain the whole profile of bacteria which play role in the process of spinal infection.

Keywords: Spondylitis, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

Corresponding author:
dr. Rahyussalim, SpOT (K) Spine
Departement of Orthopaedy dan Traumatology
FKUI/RS.dr. Cipto Mangunkusumo
Jl. Diponegoro No. 71, Jakarta 10430
Phone. +62-21 392 9655
Fax. +62-21 390 5894

Bukti Baru Spondilitis Tuberkulosis: Kontaminasi Bakteri Piogenik atau Infeksi Campur?

ABSTRAK

Pendahuluan. Jenis bakteri penyebab infeksi spondilitis penting diketahui karena berpengaruh terhadap pendekatan terapi yang akan dilakukan. Kultur bakteri untuk menentukan bakteri apa saja yang terlibat dianggap masih sulit dan tidak praktis.

Bahan dan cara kerja. Pemeriksaan morfologi bakteri dilakukan dengan teknik pewarnaan dan kultur dalam medium selektif dan diferensial terhadap material spondilitis. Seluruh jaringan lesi baik padat maupun cair termasuk pus, jaringan granulasi, sekueter tulang, dan jaringan nekrotik dijadikan bahan dasar pemeriksaan.

Hasil. Telah berhasil diidentifikasi dan didapatkan isolat dari tiga bakteri yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Mycobacterium tuberculosis* yang berasal dari material lesi padat (jaringan granulasi, sekueter dan jaringan nekrotik) dan cair (pus), dari empat pasien dengan diagnosis spondilitis. Terdapat 1 dari empat kasus yang kami evaluasi adalah kasus infeksi tulang belakang yang disebabkan oleh 3 bakteri penyebab infeksi.

Kesimpulan. Pemeriksaan kultur seharusnya menggunakan bahan pemeriksaan cair maupun padat sehingga diperoleh gambaran seluruh bakteri yang berperan dalam proses infeksi tulang belakang.

Kata kunci: *Spondilitis, Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, kultur bakteri*

Pendahuluan

Spondilitis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan menyerang satu atau lebih tulang vertebra.^{1,2} Spondilitis banyak terjadi di Indonesia, menyerang anak-anak sampai dewasa terutama pada masyarakat dengan tingkat sosioekonomi rendah. Akibat yang ditimbulkan oleh spondilitis ini sangat beragam mulai dari yang ringan sampai lanjut, seperti defisit neurologis, adanya abses epidural, kelumpuhan, bahkan kematian sesuai dengan beratnya infeksi oleh bakteri, kerusakan korpus vertebra, dan struktur organ yang berada disekitarnya.

Berdasarkan jenis bakteri yang ditemukan, spondilitis dibedakan menjadi spondilitis tuberkulosis dan spondilitis piogenik. Bakteri yang paling banyak menginfeksi tulang belakang adalah *M. tuberculosis*, tetapi pada beberapa kasus spondilitis ditemukan juga adanya asosiasi dengan bakteri lain seperti *Staphylococcus*, *Brucella* dan *Salmonella*.²

Infeksi oleh jenis bakteri tertentu memiliki gejala dan tanda klinis yang berbeda-beda, misalkan pada spondilitis tuberkulosis yang disebabkan oleh bakteri *M. tuberculosis* akan memberikan gejala yang ringan sampai berat dalam waktu yang cukup lama(kronis), sementara spondilitis piogenik yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* akan memberikan gejala jangka pendek dan berat(akut).³

Penegakan diagnosis spondilitis di Indonesia sampai saat ini masih berdasar pada pemeriksaan fisik, klinis, radiologis dan patologi anatomis yang kadang memberikan hasil diagnosis yang berbeda dan tidak saling mendukung. Penegakkan diagnosis spondilitis secara klinis tidaklah mudah karena seringkali tidak didapatkan tanda-tanda klinis yang khas dan mendukung adanya infeksi kecuali rasa sakit/nyeri dengan intensitas ringan, terutama pada kasus yang belum terlalu berat. Modalitas pencitraan seperti roentgen, CT-scan dan MRI baru

dapat memberikan diagnosis yang baik bila telah terjadi kerusakan anatomi dan pembentukkan abses. Begitu pula pemeriksaan patologi anatomik yang belum dapat menunjukkan jenis dan sifat bakteri yang sebenarnya menginfeksi masing-masing pasien yang disebabkan karena belum adanya suatu teknik pemeriksaan bakteri yang standar, akurat, cepat dan murah.

Prosedur identifikasi bakteri secara mikrobiologi dilakukan dengan cara pemeriksaan morfologi, kultur dan biomolekuler. Pemeriksaan morfologi dilakukan dengan cara mewarnai bakteri kemudian di amati bentuknya di bawah mikroskop, tetapi metode ini hanya dapat memberikan hasil yang cukup akurat bila jumlah bakteri dalam sampel minimal 5×10^3 koloni per mililiter.^{7,9} Secara laboratorium, pemeriksaan kultur merupakan baku emas untuk diagnosis infeksi bakteri dan jamur. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara mengisolasi dan membiakan bakteri dalam medium selektif atau diferensial sehingga dapat dibedakan jenis bakteri berdasarkan bentuk dan warna koloni, waktu pertumbuhan serta aktivitasnya terhadap antibiotik tertentu. Kelemahan dari metode ini adalah pembiakan tidak selalu berhasil, bakteri sulit tumbuh dan beberapa bakteri memerlukan waktu inkubasi yang cukup lama, tetapi metode ini dapat mengidentifikasi jenis bakteri sampai setingkat genus maupun spesies.

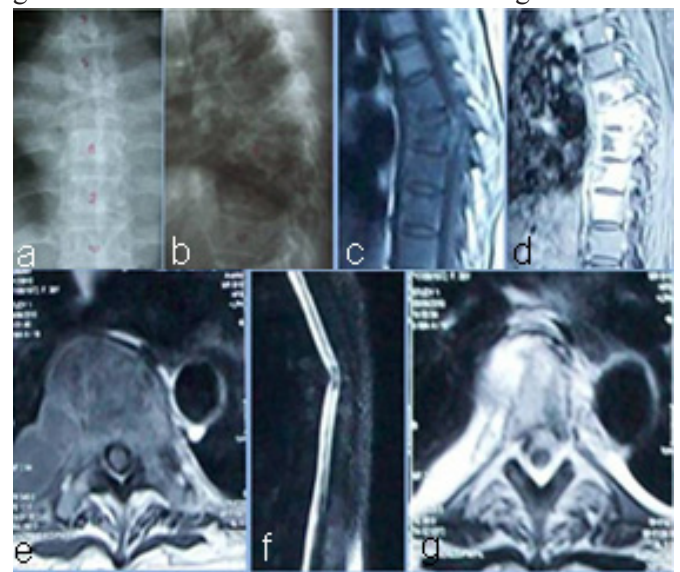
Kemajuan di bidang biologi molekuler memungkinkan dilakukan identifikasi bakteri secara akurat dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang merupakan suatu metode untuk memperbanyak segmen DNA spesifik bakteri yang tidak dimiliki oleh bakteri jenis lain. Metode ini sekaligus mengatasi terbatasnya jumlah bakteri dalam spesimen karena setelah DNA bakteri diekstraksi maka DNA tersebut akan diperbanyak sampai miliaran kali dengan bantuan enzim DNA *polimerase* sehingga identifikasi lebih mudah dilakukan dan memberikan hasil yang akurat. Tetapi pemeriksaan ini membutuhkan tenaga pelaksana yang terampil dan terlatih serta instrumentasi yang mahal, sehingga biaya pemeriksaan juga menjadi mahal. Selain itu teknik PCR tidak

dapat membedakan antara bakteri yang hidup dan mati sehingga akan sulit membedakan antara kondisi infeksi yang telah sembuh atau yang masih aktif.

Pengetahuan mengenai jenis bakteri penyebab spondilitis akan sangat berpengaruh terhadap penentuan modalitas penatalaksanaan yang akan diterapkan, termasuk diantaranya pemakaian antibiotika yang adekuat dan rasional.

Bahan dan cara kerja

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo dan Laboratorium Mikrobiologi Klinik De-



Gambar 1. a,b. Foto roentgen proyeksi anteroposterior dan lateral memperlihatkan destruksi tulang belakang vertebrae setinggi T6 dan T7. c,d. Foto sagittal dengan destruksi sebagian korpus T6, T7 dan sebagian material lesi menempati kanalis spinalis dan mendorong dura kearah posterior. Nampak pula gambaran edema pada korpus vertebra T5, T8 dan T9. e.g. Potongan aksial setinggi T6 yang memperlihatkan kerusakan korpus, adanya massa terutam di sisi kanan yang kemungkinan besar adalah abses dan jaringan granulasi. Tampak pula penekanan pada dura. f. Gambaran myelografi yang menunjukkan adanya hambatan medulla spinalis pada level T6, T7.

Table 1. Penilaian AFB menurut IUATLD

| Pembacaan mikroskopik | Pelaporan hasil |
|----------------------------------|------------------------------------|
| Tidak ditemukan BTA dalam 100 LP | Negatif |
| 1-9 BTA dalam 100 LP | Tuliskan jumlah BTA yang ditemukan |
| 10-99 BTA dalam 100 LP | 1+ |
| 1-10 BTA dalam 1 LP | 2+ |
| > 10 BTA dalam 1 LP | 3+ |

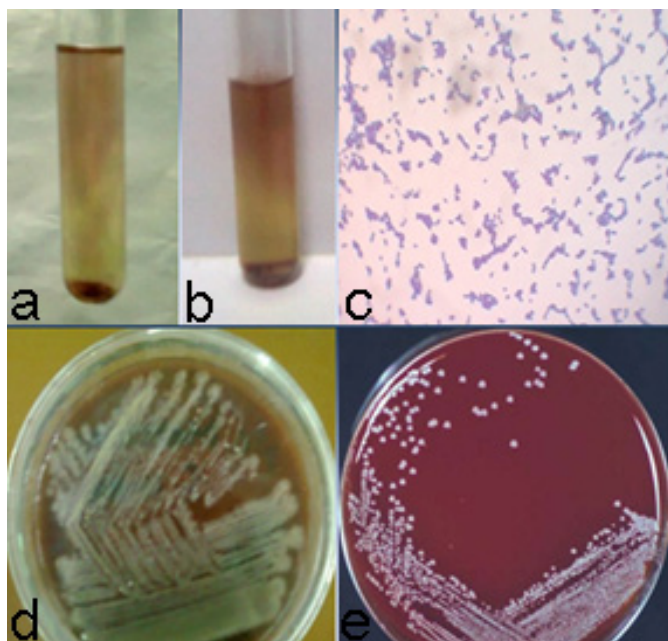
partemen Mikrobiologi FKUI sejak bulan Agustus sampai November 2010.

Diagnosis spondilitis. Diagnosis klinis dilakukan dengan menanyakan keluhan utama, melakukan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang seperti pemeriksaan pencitraan dan laboratorium. Pemeriksaan fisik dilakukan untuk membuktikan adanya keluhan nyeri tulang belakang, kelumpuhan, gangguan neurologis, bongkok, benjolan, gibbus dan adanya sinus/fistel di punggung, pinggang atau lipat paha. Pemeriksaan penunjang meliputi pemeriksaan pencitraan seperti foto roentgen, MRI dan CT-Scan. Pada foto roentgen dilakukan penilaian terhadap foto roentgen proyeksi anteroposterior dan lateral untuk melihat adanya gambaran infeksi di satu atau lebih ruas vertebra, kerusakan tulang vertebra, gibbus, kifosis dan adanya abses. Pada pemeriksaan MRI diperoleh gambaran lebih detil mengenai struktur jaringan lunak yang terkena misalnya medulla spinalis, ligamentum flavum, diskus, ligamentum longitudinal dan jaringan lunak sekitar. Pemeriksaan CT-Scan dilakukan untuk melihat gambaran dekstruksi pada tulang belakang, gambaran osteoporosis, penyempitan kanal yang mengakibatkan penekanan syaraf, adanya abses dan deformitas. Pemeriksaan laboratorium dilakukan dengan pemeriksaan darah rutin, LED dan CRP untuk melihat gambaran infeksi serta kultur bakteri.

Pengambilan sampel material spondilitis. Dua minggu sebelum pengambilan sampel, pasien tidak diperkenankan mengkonsumsi antibiotika untuk memberi kesempatan pada bakteri agar dapat hidup pada media kultur. Pasien dibius total dan disiapkan dalam posisi tertelungkup di kamar operasi bedah elektif sesuai perencanaan operasi. Dilakukan prosedur aseptis dan antiseptis pada daerah sekitar tulang belakang oleh ahli bedah tulang belakang kemudian dilakukan prosedur insisi mencapai tulang belakang sesuai lokasi lesi. Level vertebra diidentifikasi menggunakan C-arm dan dilakukan laminektomi untuk melonggarkan kanalis spinalis. Bagian anterior vertebra dicapai melalui pedikel (transpedikular) atau melalui prosedur pembedahan pada iga

dan prosesus transverses (costotransversektomi), dilanjutkan dengan debrideman luka dan pengambilan material lesi (ligamentum flavum, jaringan granulasi, sequester tulang dari korpus dan lamina) dan/atau pus. Bahan padat (granulasi) dan bahan cair (pus) dari lesi diambil dan dipisahkan oleh ahli bedah untuk diberikan kepada petugas laboratorium mikrobiologi klinik. Material lesi ini diambil menggunakan kapas bertangkai (*BBL™ CultureSwab™ Plus Collective and Transport System For Aerobes and Anaerobes*) pada daerah yang berlendir atau mengambil bagian korpus yang sudah hancur dan dipindahkan secara aseptis ke dalam tabung bersumbat berisi 3-5 mL medium cair thioglikolat (*OXOID*) dan NaCl fisiologis. Sedangkan pengambilan pus dilakukan menggunakan spuit steril dan langsung dipindahkan secara aseptis ke dalam tabung bersumbat berisi 3-5 mL medium cair thioglikolat (*OXOID*) atau tetap dalam tabung spuit. Tabung-tabung ini selanjutnya langsung dibawa ke laboratorium mikrobiologi klinik yang berjarak kurang lebih setengah jam waktu tempuh untuk dilakukan pemeriksaan bakteri. Ahli bedah melanjutkan operasi dengan pencucian menggunakan antibiotika dan pemasangan instrumentasi posterior untuk stabilisasi tulang belakang.

Pemeriksaan bakteri aerob. Bahan material lesi padat dan pus dalam medium cair thioglikolat (*OXOID*) diinkubasi dalam inkubator (*Memmert*) bersuhu 37 °C selama 24 jam. Jika dalam 24 jam terjadi kekeruhan atau perubahan warna medium yang menunjukkan terjadi pertumbuhan bakteri, dilakukan isolasi bakteri dengan metode cawan gores pada medium agar darah (*OXOID*) dengan cara mengambil 1-2 ose medium cair thioglikolat dan digoreskan secara aseptis pada permukaan medium dalam cawan petri berukuran 9 cm, untuk selanjutnya diinkubasi dalam inkubator (*Memmert*) bersuhu 37 °C selama 24 jam. Jika setelah 24 jam terjadi pertumbuhan koloni bakteri di medium tersebut, koloni diamati bentuk dan warnanya kemudian diambil dan dibuat preparat untuk dilakukan pemeriksaan bakteri secara mikroskopik (perwarnaan Gram) serta kultur pada medium diferensial dan uji biokimia untuk menentukan spesies bakteri. Uji



Gambar 2. a. Foto material lesi dalam medium thioglikolat sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras. b. Foto material lesi dalam medium thioglikolat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, medium berubah menjadi lebih keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. c. Foto koloni bakteri yang tumbuh dalam medium agar darah, koloni berwarna putih berbentuk bulat dengan permukaan cembung. d. Foto hasil pewarnaan gram terhadap koloni pada medium agar darah, didapatkan gambaran bakteri gram positif berbentuk coccus dan berwarna ungu. e. Foto koloni bakteri dalam medium *Mannitol Salt Agar* (MSA), koloni berwarna putih berbentuk bulat dengan permukaan cembung, warna medium tidak berubah (tetap berwarna merah). f. Foto pus dalam medium thioglikolat sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, pus berupa cairan kental seperti darah berwarna merah. g. Foto pus dalam medium thioglikolat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, medium tidak berubah menjadi lebih keruh yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

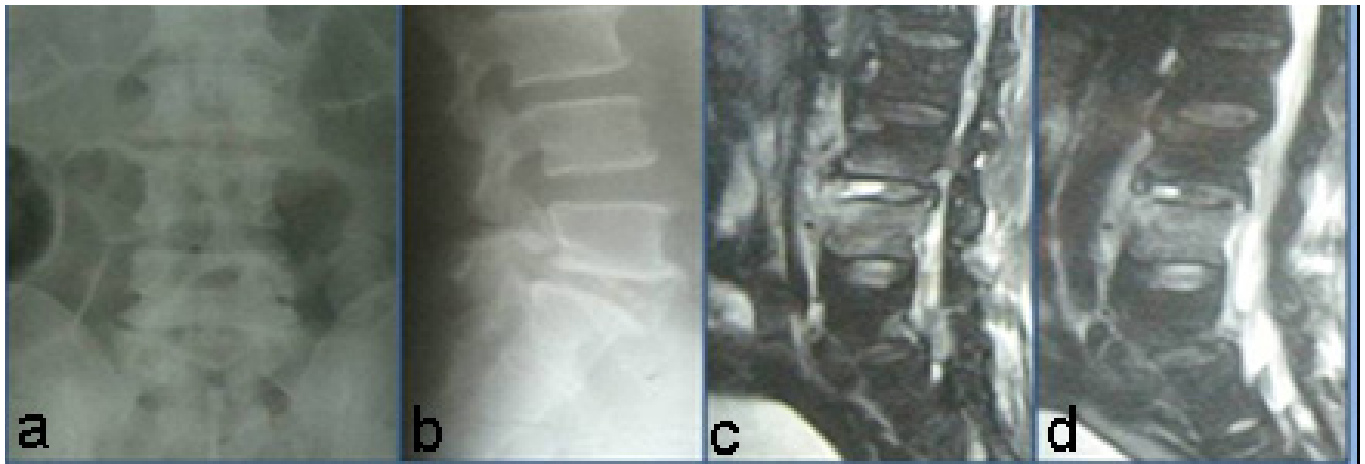
biokimia yang dilakukan mencakup uji karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa dan manitol, uji hidrolisis pati), *methyl red*, sitrat, TSIA, katalase, niasin dan motilitas.

Pemeriksaan bakteri tahan asam (BTA) dan kultur. Dilakukan pemeriksaan BTA secara mikroskopik menggunakan metode Ziehl-Nelsen dan kultur pada medium cair MGIT (*BBL™ MGIT™ Mycobacteria Growth Indicator, BACTEC MGIT OADC Growth Supplement, BBL MGIT PANTA*). Pemeriksaan mikroskopik dari sampel cair dilakukan dengan cara mengambil 1-2 ose suspensi bakteri, kemudian dibuat lapisan tipis di atas kaca preparat dan difiksasi singkat di atas api Bunsen dan mewarnainya dengan *Tb-color staining kit* (Merck). Jika sampel berasal dari medium padat (material lesi) dilakukan dengan menghancurkan materi tersebut menggunakan mortar dalam wadah steril terlebih dahulu. Pengamatan dibawah mikroskop akan menunjukkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* tampak seperti batang merah yang halus dan sedikit melengkung, tersendiri, berpasangan atau berkelompok dengan latar belakang kebiruan. Pembacaan dimulai dari tepi kiri ke kanan atau sebaliknya sampai 100 lapang pandang (LP), penilaian sesuai IUATLD (*International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases*) dapat dilihat pada Tabel 1.

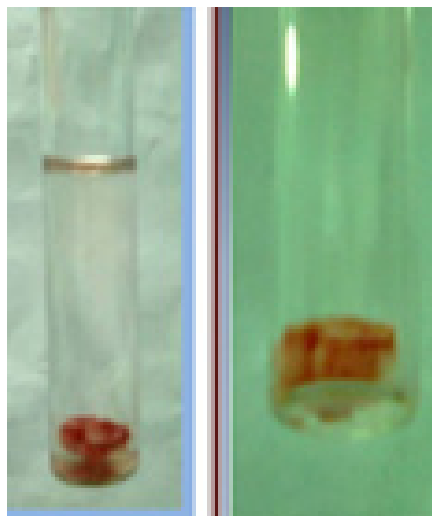
Kultur *Mycobacterium tuberculosis*. Sampel dari

pasien ditumbuhkan pada medium yang mengandung suplemen pertumbuhan *M. tuberculosis* dan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain, (*BBL™ MGIT™ Mycobacteria Growth Indicator, BACTEC MGIT OADC Growth Supplement, BBL MGIT PANTA*). Kultur disimpan pada suhu 37 °C dalam inkubator MGIT (*BACTEC MGIT 960*) untuk diamati pertumbuhannya selama 15-42 hari. Uji kepekaan terhadap *M. tuberculosis* dilakukan pada kultur yang menunjukkan hasil positif, sementara sebagai uji pendukung dilakukan kultur pada medium Lowenstein-Jensen (LJ), kultur LJ + PNB, dan uji niasin.

Kasus 1. Wanita berusia 38 tahun dengan keluhan nyeri punggung yang semakin berat dalam waktu empat bulan dan tidak dapat berjalan sendiri (perlu bantuan orang lain). Penderita juga mengalami gangguan buang air besar dan kecil. Ditemukan juga ulkus dekubitus di daerah bokong. Di daerah punggung teraba adanya abses paravertebra dan gibbus. Gerakan aktif dan pasif tulang belakang menjadi terbatas karena nyeri. Pemeriksaan pencitraan diperoleh gambaran destruksi vertebra T6 dan T7, abses paravertebra, gibbus, dan penekanan medulla spinalis oleh massa lesi yang masuk kedalam kanalis spinalis. (Gambar 1) Data laboratorium menunjukkan peningkatan laju endap darah 95 mm/jam (normal <20 mm/



Gambar 3. a, b. foto rontgen lumbal proyeksi AP dan Lateral memperlihatkan adanya gambaran destruksi di L5. Terdapat penyempitan diskus dan gambaran massa di daerah anterior. c,d. Pencitraan MRI yang memperlihatkan adanya edema subchondral dan massa cair-padat di daerah anterior vertebra setinggi L3, L4 dan L5.



Gambar 4. a. Foto material lesi dalam NaCl fisiologis sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras. b Foto material lesi dalam medium thioglikolat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, medium tidak mengalami perubahan warna ataupun menjadi lebih keruh yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Tabel 2. Jenis material spondilitis dari masing-masing pasien

| Pasien | Jenis material | | |
|--------|----------------|--------------------|---------------------|
| | Material padat | Material granulasi | Material cair (Pus) |
| 1 | √ | - | √ |
| 2 | √ | - | - |
| 3 | √ | √ | √ |
| 4 | √ | √ | √ |

Table 3. Hasil pemeriksaan mikroskopik dari sampel material spondilitis

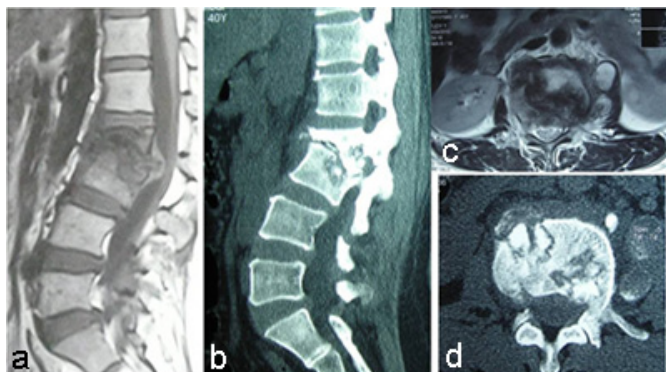
| Pasien | Material padat (gram/BTA) | Material granulasi (gram/BTA) | Material cair/pus (gram/BTA) |
|--------|---------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 1 | +/- | -/- | -/- |
| 2 | -/- | -/- | -/- |
| 3 | -/- | -/5 | -/- |
| 4 | +/- | -/- | +/ |

Table 4. Hasil kultur bakteri dari sampel material spondilitis

| Pasien | Bakteri yang ditemukan dari kultur | | |
|--------|------------------------------------|------------------------|---------------------|
| | Material padat | Material granulasi | Material cair (Pus) |
| 1 | <i>S. epidermidis</i> | - | - |
| 2 | - | - | - |
| 3 | - | <i>M. tuberculosis</i> | - |
| 4 | <i>S. epidermidis</i> | <i>M. tuberculosis</i> | <i>S. aureus</i> |

jam), IgG anti TB positif, dan peningkatan nilai CRP=4,1 mg/dL (normal<0,5 mg/dL).

Pemeriksaan Mikrobiologi. Sampel material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras dan langsung dipindahkan ke dalam medium cair thioglikolat dan NaCl fisiologis untuk diketahui jenis bakteri penyebab infeksi. Hasil kultur selama 24 jam menunjukkan adanya pertumbuhan pada medium thioglikolat. Pengujian mikroskopik dan medium dif-



Gambar 5. a,c. MRI T1W1 Lumbal memperlihatkan gambaran destruksi pada korpus L2 dan L3 disertai kerusakan pada diskus. Tampak pula gambaran penekanan thecal sac setinggi L2-3. Tampak abses paravertebral di anterior L2 dan L3. b,d. CT Scan Lumbal yang memperlihatkan adanya kerusakan L2 dan L3 disertai kifosis dan penekanan thecal sac.

ferensial membuktikan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Adapun pengujian untuk mengetahui adanya infeksi *M. tuberculosis* menunjukkan hasil negatif.

Kasus 2. Laki-laki 38 tahun dengan keluhan nyeri pinggang yang menjalar pada kedua tungkai dan mati rasa di daerah pinggang sejak satu bulan sebelum masuk rumah sakit. Pasien masih dapat melakukan aktifitas sehari-hari dengan bantuan orang lain (Frankel D). Tidak tampak adanya gibbus dan abses paravertebral. Pada pemeriksaan pencitraan diperoleh gambaran destruksi L5, penyempitan diskus L5-S1, terdapat massa di daerah anterior L5 (Gambar 3). Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan peningkatan nilai LED=82 mm/jam ($N < 20$ mm/jam); CRP=33,8 mg/dL ($N < 0,5$ mg/dL); IgG anti TB negatif; dan penanda tumor negatif.

Pemeriksaan Mikrobiologi. Pengambilan material spondilitis didapatkan sampel berupa material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras dan tidak didapatkan pus. Hasil pemeriksaan mikrobiologi tidak menunjukkan adanya bakteri penyebab infeksi.

Kasus 3. Wanita 40 tahun dengan keluhan nyeri punggung yang menjalar ke tungkai sejak tiga bulan sebelum masuk rumah sakit. Penderita juga mengeluh lekas lelah bila berjalan agak jauh (kurang dari 100 m). Aktifitas sehari-hari dapat dikerjakan dengan bantuan

orang lain (Frankel D). Ditemukan adanya gibbus dan abses paravertebral setinggi pinggang dan tidak ada sinus. Pada pemeriksaan pencitraan diperoleh gambaran destruksi korpus L2 dan L3, kerusakan diskus L2-3, penekanan pada kauda equine setinggi L2-3 (Gambar 5). Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan peningkatan hasil LED = 91 mm/jam ($N < 20$ mm/jam) dan CRP > 5 mg/dL ($N < 0,5$ mg/dL).

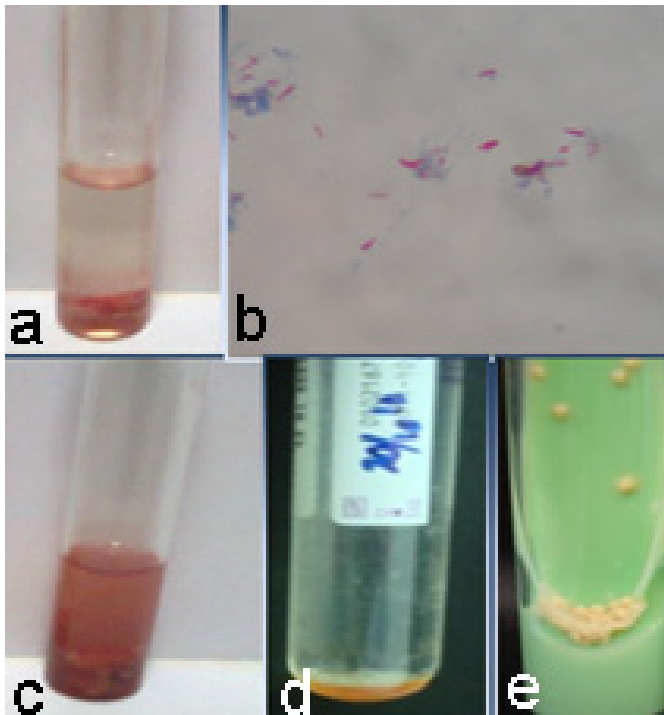
Pemeriksaan Mikrobiologi. Dari prosedur pengambilan material spondilitis didapatkan sampel berupa material lesi. Sampel material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras tanpa granulasi dan pus, serta materi lesi lainnya mengandung granulasi dan pus. Hasil pemeriksaan mikrobiologi menunjukkan tidak adanya bakteri aerob penyebab infeksi dikedua materi tersebut.

Pemeriksaan mikrobiologik BTA dari jaringan yang bergranulasi didapatkan hasil pemeriksaan mikroskopik yaitu 5 BTA/100 LP. Hasil kultur MGIT menunjukkan adanya pertumbuhan BTA, dimana hasil pengujian pada kultur LJ, LJ + PNB, serta uji niasin menunjukkan bahwa bakteri penyebab infeksi adalah *M. tuberculosis*. Hasil pemeriksaan pada sampel pus tidak memperlihatkan adanya bakteri penyebab infeksi.

Uji resistensi. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* hasil isolasi sensitif terhadap antibiotik streptomycin, isoniazid, rifampicin dan ethambutol.

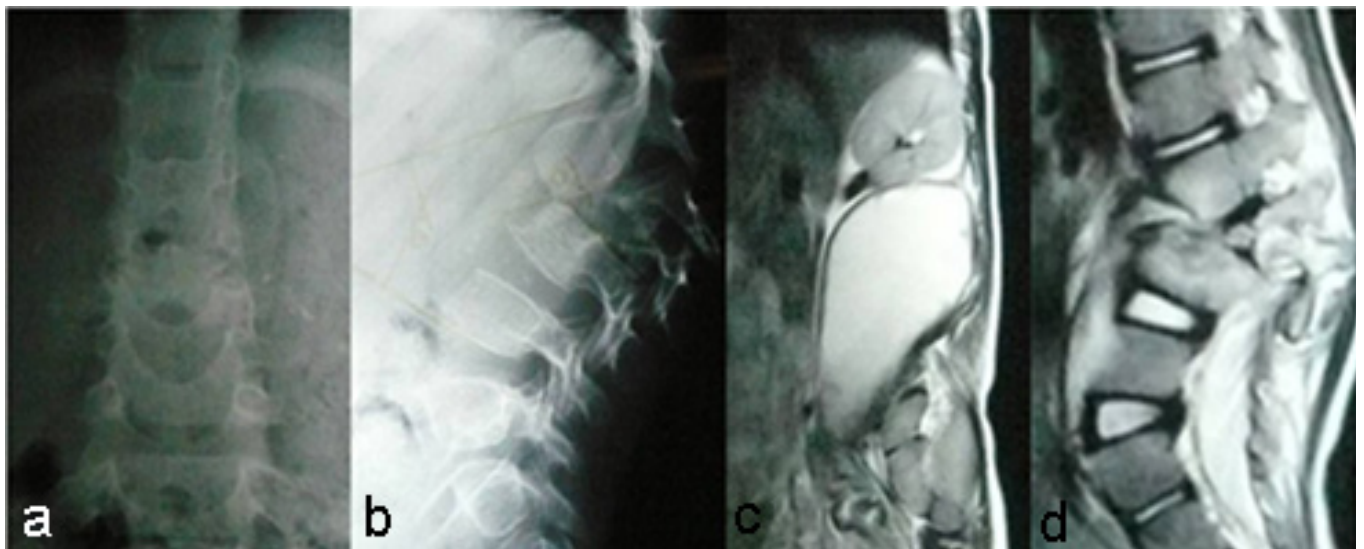
Kasus 4. Anak laki-laki berusia 7 tahun dengan keluhan nyeri yang tidak menjalar dan bertambah bila berjalan serta terdapat benjolan di punggung. Benjolan teraba lunak dan terdapat undulasi, juga terdapat gibbus. Penderita masih dapat bersekolah walaupun dengan keluhan nyeri (Frankel E). Pada pemeriksaan pencitraan tampak destruksi berat pada L1 dan L2, kifosis dan abses paravertebral (Gambar 7). Hasil pemeriksaan laboratorium memperlihatkan terjadinya peningkatan LED=70 mm/jam ($N < 20$ mm/jam) dan CRP 43 mg/dL ($N < 0,5$ mg/dL).

Pemeriksaan Mikrobiologi. Dari prosedur pengambilan material spondilitis didapatkan sampel berupa material lesi dengan atau tanpa jaringan granulasi serta



Gambar 6. a. Foto material lesi dalam medium thioglikolat sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras. b. Foto material lesi dalam medium thioglikolat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 oC, medium tidak mengalami perubahan warna ataupun menjadi lebih keruh yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. c. Foto medium agar darah yang telah diinokulasi 2 ose medium b dan diinkubasi selama 3 x 24 jam, tidak ada koloni yang tumbuh pada medium. d. Foto material lesi yang mengandung jaringan granulasi dalam NaCl fisiologis sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur agak lunak yang diselimuti gumpalan seperti daging yang juga berwarna putih kekuningan. e. Foto material lesi yang mengandung jaringan granulasi dalam NaCl fisiologis setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 oC, medium mengalami perubahan warna dan menjadi lebih keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. f. Foto hasil pewarnaan BTA terhadap filtrat jaringan granulasi yang digerus, didapatkan gambaran basil tahan asam berbentuk batang dan berwarna merah dengan latar belakang kebiruan. g. Foto koloni bakteri Mycobacterium tuberculosis

dalam medium MGIT setelah diinkubasi selama 42 hari di mesin MGIT, koloni berwarna putih berbentuk butiran kecil hidrofobik yang tumbuh di atas medium padat, tampak pula perubahan warna medium cair menjadi keruh seperti suspensi. h adalah foto koloni bakteri Mycobacterium tuberculosis dalam medium Lowenstein Jeensen setelah diinkubasi selama 3 minggu, tampak bakteri Mycobacterium tuberculosis berwarna putih kekuningan, berbentuk butiran kering dan tumbuh bergerombol.

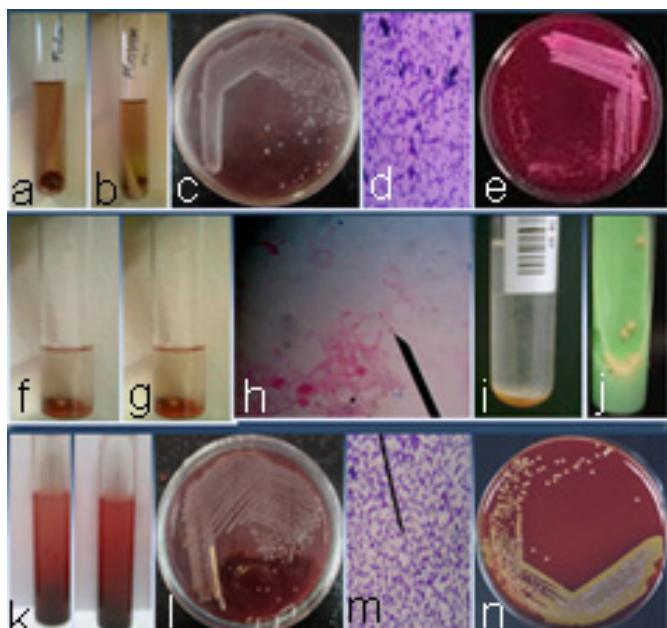


Gambar 7. a,b. Foto roetgen thoraco-lumbar proyeksi antero-posterior dan lateral memperlihatkan adanya kehancuran dan kerusakan berat (hamper 90%) pada korpus dan vertebral lumbar L1 dan L2. Tampak kyphosis regional sebesar 36°(kifosis vertebral 57 derajat). c,d. FotoMRI daerah T2 (T2-W1) yang memperlihatkan kehancuran total tulang belakang lumbar di L1 dan kerusakan parah pada vertebra lumbalis L2. Terlihat gambaran abses paravertebral pada tingkat L1, L2 dan menyebar ke L3 dan L4.

pus. Sampel material lesi terdiri atas potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras yang langsung dipindahkan ke dalam medium cair thioglikolat dan NaCl fisiologis. Hasil pertumbuhan dan identifikasi bakteri menunjukkan sampel yang terinfeksi oleh bakteri

Staphylococcus epidermidis. Sementara itu identifikasi pada sampel pus memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Identifikasi BTA dengan pewarnaan Ziehl-Nelseen dari sampel memperlihatkan adanya bakteri tersebut <9



Gambar 8. a. Foto material lesi dalam medium thioglikolat sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur keras. b. Foto material lesi dalam medium thioglikolat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, medium mengalami perubahan warna ataupun menjadi lebih keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. c. Foto koloni bakteri yang tumbuh dalam medium agar darah, koloni berwarna putih berbentuk bulat dengan permukaan cembung, d. Foto hasil pewarnaan gram terhadap koloni pada medium agar darah, didapatkan gambaran bakteri gram positif berbentuk coccus dan berwarna ungu. e. Foto koloni bakteri *S. epidermidis* dalam medium *Mannitol Salt Agar* (MSA), koloni berwarna putih berbentuk bulat dengan permukaan cembung, warna medium tidak berubah (tetap berwarna merah). f. Foto material lesi yang mengandung jaringan granulasi dalam NaCl fisiologis sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, material lesi berupa potongan korpus berwarna putih kekuningan dengan tekstur agak lunak yang diselimuti gumpalan seperti daging yang juga berwarna putih kekuningan. g. Foto material

lesi yang mengandung jaringan granulasi dalam NaCl fisiologis setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 oC, medium mengalami perubahan warna dan menjadi lebih keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. h. Foto hasil pewarnaan BTA terhadap filtrat jaringan granulasi yang digerus, didapatkan gambaran basil tahan asam berbentuk batang dan berwarna merah dengan latar belakang kebiruan. i. Foto koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dalam medium MGIT setelah diinkubasi selama 42 hari di mesin MGIT, koloni berwarna putih berbentuk butiran kecil hidrofobik yang tumbuh di atas medium padat, tampak pula perubahan warna medium cair menjadi keruh seperti suspensi. j. Foto koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dalam medium Lowenstein Jeensen setelah diinkubasi selama 3 minggu, tampak bakteri *Mycobacterium tuberculosis* berwarna putih kekuningan, berbentuk butiran kering dan tumbuh bergerombol. k Foto pus dalam medium thioglikolat sesaat setelah pengambilan di kamar operasi, pus berupa cairan kental seperti darah berwarna merah. l. Foto pus dalam medium thioglikolat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, medium mengalami perubahan warna dan menjadi lebih keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. m. Foto koloni bakteri yang tumbuh dalam medium agar darah, koloni berwarna putih kekuningan berbentuk bulat dengan permukaan cembung, n. Foto hasil pewarnaan gram terhadap koloni pada medium agar darah, didapatkan gambaran bakteri gram positif berbentuk coccus dan berwarna ungu. o. Foto koloni bakteri *Staphilococcus aureus* dalam medium *Mannitol Salt Agar* (MSA), koloni berwarna putih kekuningan berbentuk bulat dengan permukaan cembung dan warna medium berubah menjadi kuning.

dalam 100 LP. Identifikasi lanjut dengan kultur MGIT, LJ+PNB, serta uji niasin menunjukkan bahwa bakteri *M. tuberculosis* adalah penyebab infeksi.

Uji Resistensi. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sensitif terhadap antibiotik streptomycin, rifampisin dan ethambutol, tetapi resisten terhadap antibiotik isoniazid.

Hasil

Dari empat pasien yang kami laporkan, didapatkan empat material lesi berupa campuran jaringan granulasi, sekuoster tulang, dan jaringan lunak yang sudah mati dari masing-masing penderita. Sementara pus yang terdiri dari massa cair yang berisikan jaringan yang sudah lisis, serum darah, komponen padat darah dan kuman yang mati diperoleh dari 3 penderita, pada 1 penderita lainnya

tidak didapatkan pus sama sekali. Tabel 2 menunjukkan jenis material spondilitis yang ada pada masing-masing sampel pasien. Hasil pemeriksaan mikroskopik terhadap sampel material spondilitis dapat dilihat di tabel 3 dan hasil kultur dapat dilihat pada tabel 4.

Diskusi

Seluruh pasien yang terlibat dalam penelitian ini mengikuti prosedur khusus yaitu harus bebas antibiotika selama dua minggu sebelum pengambilan bahan kultur. Hal ini bertujuan untuk memberikan peluang lebih besar kepada bakteri agar dapat tumbuh pada medium kultur dari pada prosedur dengan pemberian antibiotika. Penentuan tanpa antibiotika selama dua minggu sebelum pengambilan bahan kultur berdasarkan pada kaidah payung antibio-

tika, yaitu dapat bertahan selama dua minggu jika menggunakan antibiotika spektrum luas. Diharapkan dengan dua minggu tanpa antibiotika maka bahan kultur yang mengandung bakteri dapat tumbuh dengan baik sehingga bakteri yang ditemukan adalah benar-benar mencerminkan bakteri penyebab infeksi. Lama waktu tanpa pemberian antibiotika memang masih perlu diperdebatkan dengan melakukan penelitian lebih lanjut.

Prosedur pengambilan bahan kultur hanya dilakukan pada pasien yang direncanakan menjalani operasi, sehingga memiliki keterbatasan terutama dalam menentukan jenis bakteri pada pasien yang tidak menjalani operasi. Pada kasus pasien yang tidak menjalani operasi, prosedur pengambilan bahan kultur dapat dilakukan dengan biopsy jarum halus atau core biopsy pada daerah infeksi.

Dari empat kasus yang dilaporkan diperoleh bahan kultur yang dibagi atas tiga bagian material yaitu material cair(pus), material setengah padat(granulasi) dan material padat(lesi). Bahan cair berupa pus terdiri dari bangkai bakteri, sel darah putih dan jaringan lain yang mati, sementara bahan padat hingga setengah padat terdiri dari campuran jaringan granulasi, campuran sekueter tulang, dan campuran jaringan lunak yang sudah mati.

Pada kasus pasien dimana hasil kulturnya memperlihatkan lebih dari satu bakteri, ditemukan fakta bahwa bakteri yang terdapat pada material padat(lesi) berbeda dengan bakteri yang terdapat pada material cair(pus). Hal ini memberikan inspirasi bahwa perlu adanya perhatian khusus kemungkinan adanya kasus infeksi campuran(*mix infection*) dimana terdapat lebih dari satu jenis bakteri yang menginfeksi tulang belakang pada satu penderita.

Laporan mengindikasikan bahwa direkomendasikan melakukan kultur terhadap seluruh material spondilitis (cair, setengah padat dan padat) sehingga dapat seluruh bakteri yang menyebabkan infeksi dapat terdeteksi.

Hasil kultur bakteri dapat memberikan informasi mengenai seluruh bakteri hidup yang diperkirakan menjadi penyebab kerusakan baik jaringan lunak maupun tulang. Informasi bakteri hidup ini sangat penting dalam mencari antibiotika yang sensitif dan mencegah

overtreatment yang menimbulkan masalah baru terhadap kejadian resistensi antibiotika.

Simpulan

Pemeriksaan kultur seharusnya menggunakan semua bahan pemeriksaan cair maupun padat sehingga diperoleh gambaran seluruh bakteri yang berperan dalam proses infeksi tulang belakang.

Referensi

- Schlossberg, D. Tuberculosis and Non tuberculous Mycobacterial Infections. 5th ed. New Jersey: McGraw-Hill;2006.
- Ribeiro MA, Barouni AS, Augusto CJ, Augusto MV, Lopes MT, Salas CE. PCR identification of Mycobacterium tuberculosis complex in a clinical sample from a patient with symptoms of tuberculous spondylodiscitis. Braz J Med Biol Res. 2007;40:1-4.
- Kapeller P, Fazekas F, Krametter D, Koch M, Roob G, Schmidt R, et al. Pyogenic infectious spondylitis: clinical, laboratory and MRI features. Eur Neurol. 1997; 38:94-8.
- Chaudhary SB, Vives MJ, Basra SK, Reiter MF. Postoperative spinal wound infections and postprocedural diskitis. J Spinal Cord Med. 2007;30:441-51.
- Karuniawati A, Sudiro TM, Wia Melia, Parwati I, Alisyahbana B, Prawoto, et al. Comparison of Tan Thiam Hok, Ziehl Neelsen and Fluorochrome as Acid-Fast Bacilli Staining Methods in Sputum. Makara Seri Kesehatan 2005;9:29-33.
- Ramachandran R, Paramasivan CN. What is new in the diagnosis of tuberculosis? Techniques for diagnosis of tuberculosis. Ind J Tub. 2003;50:133-41.
- Brown, Albert E, Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology. 10th ed. New Jersey: Mc Graw Hill; 2007.
- Carragee EJ. Pyogenic vertebral osteomyelitis. J Bone Joint Surg Am. 1997;79:874-80.
- An HS, Seldomridge JA. Spinal infections: diagnostic tests and imaging studies. Clin Orthop Relat Res. 2006;444:27-33.
- Robinson Y, Tschoeke SK, Kayser R, Boehm H, Heyde CE. Reconstruction of large defects in vertebral osteomyelitis with expandable titanium cages. Int Orthop. 2009; 33:745-9.
- Yoon SH, Chung SK, Kim KJ, Kim HJ, Jin YJ, Kim HB. Pyogenic vertebral osteomyelitis: identification of microorganism and laboratory markers used to predict clinical outcome. Eur Spine J. 2010;19:575-82.
- Noordhoek GT, Kolk AH, BJune G, Catty D, Dale JW, Fine PE, et al. Sensitivity and specificity of PCR for detection of Mycobacterium tuberculosis: a blind comparison study among seven laboratories. J Clin Microbiol. 1994;32:277-84.