

**PEMANTAUAN PERSEKITARAN MAKMAL MIKROBIOLOGI: KAEDAH DEDAHAN PLAT**  
*ENVIRONMENTAL MONITORING OF MICROBIOLOGICAL LABORATORY: EXPOSE PLATE METHOD*  
Yahaya Talib, Othman Mahmud, Noraisyah Mohd Yusof, Asmah Mohibat dan Muhamad Syazwan Zulkifli  
Bahagian Teknologi Perubatan

**Abstrak**

*Pemantauan kehadiran mikroorganisma adalah penting dan dilakukan secara kerap terhadap persekitaran makmal mikrobiologi di Bahagian Teknologi Perubatan. Ini bertujuan untuk memastikan kualiti persekitaran kawasan kerja sentiasa terkawal dari segi kontaminasi mikroorganisma dan seterusnya menjamin kualiti ujian-ujian mikrobiologi. Kertas kerja ini akan membentangkan laporan pemantauan persekitaran makmal sejak tahun 2007. Ujian yang terlibat ialah penentuan bilangan koloni bakteria selepas media pertumbuhan didedahkan kepada udara di lokasi-lokasi yang ditetapkan.*

**Abstract**

*Monitoring of microorganism is important and conducted regularly on environment of microbiological laboratory at Medical Technology Division. Its objective is to ensure the quality of working environment is maintained according to microbial contamination, consequently to assure the quality of microbiological tests. This paper presents report of environmental monitoring since year 2007. The test involved was bacterial colony counts after the growth media was exposed to air at identified location*

*Katakunci/keyword: pemantauan persekitaran, expose plat*

**PENGENALAN**

Ujian mikrobiologi bertujuan untuk menentukan kehadiran mikroorganisma dalam sesuatu sampel produk atau bahan untuk menjamin produk tersebut tiada kandungan mikroorganisma di dalamnya seterusnya selamat digunakan. Ujian-ujian yang dilakukan mestilah mematuhi prosedur tanpa berlakunya kontaminasi mikroorganisma ke atas sampel atau bahan ujian yang mana ini boleh menghasilkan keputusan yang salah. Persekitaran di mana ujian mikrobiologi dijalankan, termasuklah udara dalam bilik makmal, meja makmal tempat ujian dilakukan dan personel yang melaksanakan ujian mempunyai potensi menyumbang kehadiran mikroorganisma yang boleh menjejaskan kualiti ujian mikrobiologi. Oleh itu persekitaran dalam makmal ujian perlu dipastikan dalam keadaan bersih dan yang pentingnya tiada berlaku kontaminasi mikroorganisma.

Persekitaran dalam makmal mikrobiologi di Bahagian Teknologi Perubatan juga perlu mematuhi standard yang ditetapkan sebagai menjamin ujian-ujian mikrobiologi seperti ujian sterility dan ujian bioburden, lebih-lebih lagi makmal ini menjadi pusat khidmat ujian mikrobiologi ke atas sampel-sampel dari syarikat luar. Makmal tersebut telah dinaiktaraf dan memenuhi keperluan GMP (Good Manufacturing Practice) pada tahun 2007. Kawasan dalam makmal dibahagi kepada 2 bahagian iaitu bilik bersih dan kawasan *unclassified*. Bilik bersih adalah kawasan yang mana udaranya bertapis dan pengelasan bilik adalah berdasarkan bilangan partikel udara bilik tersebut. Bilik bersih ini dibahagi kepada beberapa gred iaitu A, B dan C yang mana Gred A adalah kawasan yang paling bersih dan digunakan untuk kerja-kerja ujian mikrobiologi. Selain dari bilangan partikel udara, bilangan koloni mikroorganism dalam persekitaran, samada bakteria atau fungi juga dijadikan kriteria dalam penentuan status kebersihannya mengikut gred. Unit untuk bilangan koloni mikroorganisma ialah *colony forming unit (cfu)*. Had yang ditetapkan ialah; gred A: 0 cfu, gred B: 5 cfu gred C: 50 cfu.

Pencemaran mikroorganisma boleh terjadi disebabkan banyak perkara, antaranya ialah; penapis udara tidak lagi berkesan, prosedur yang tidak dipatuhi seperti tidak menggunakan pakaian bersih dengan cara yang betul,

pencucian bilik yang tidak efisien, validasi tidak dijalankan terhadap proses pencucian bilik, kurang kepahaman mengenai teknik aseptik dan amalan kebersihan.

Ujian pemantauan persekitaran dilakukan secara berkala iaitu mengikut kekerapan yang sesuai bagi menentukan adakah bilangan koloni mikroorganisma sentiasa tidak melebihi had yang ditetapkan mengikut standard. Ujian ini terdiri dari pemantauan bilangan partikel udara dan pemantauan mikrobiologi perlu dilaksanakan secara konsisten. Pemantauan mikrobiologi menggunakan kaedah dedahan plat merupakan kaedah yang biasa dilakukan iaitu udara persekitaran diukur berdasarkan bilangan koloni mikroorganisma samada koloni bakteria atau koloni fungi yang tumbuh di atas media. Kepentingan pemantauan ialah pengumpulan data mengenai status semasa kebersihan persekitaran dan juga merupakan maklumat yang boleh digunakan untuk tujuan pembetulan atau penambahbaikan supaya kontaminasi mikroorganisma tidak berulang.

Sejak tahun 2007 hingga 2012, ujian pemantauan udara menggunakan kaedah dedahan plat telah dilakukan di lokasi-lokasi persampelan yang ditetapkan dalam makmal mikrobiologi pada tarikh-tarikh tertentu. Oleh kerana data yang diperolehi sepanjang tempoh tersebut adalah berkaitan dengan pemantauan koloni bakteria, maka kertas kerja ini melapor dan membincangkan hasil pemantauan udara makmal mikrobiologi untuk koloni bakteria sahaja.

## KAEDAH DEDAHAN PLAT

Media Tryptone Soya Agar (TSA) disediakan dan dilakukan pensterilan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 minit. Media di sejukkan dan kemudian diagihkan ke dalam plat (piring petri) bersaiz 90 mm dan media dibiarkan sehingga menjadi agar-agar.

Persampelan udara dilakukan dengan mendedahkan plat tersebut untuk tempoh masa antara 3 hingga 4 jam di lokasi-lokasi yang telah ditentukan seperti dalam pelan makmal mikrobiologi dalam Rajah 1. Persampelan tersebut dilakukan pada hari-hari yang kebiasaannya selepas bilik dicuci. Bilik-bilik dalam kawasan makmal dibahagi kepada 2 bahagian iaitu kawasan bilik bersih ( Gred A, B dan C) dan kawasan *unclassified* iaitu kawasan yang tidak dikelaskan seperti dalam Jadual 2.

Plat tersebut kemudian dieram dalam *incubator* selama 3 hari. Pemerhatian dibuat setiap hari dan koloni mikroorganisma yang tumbuh di atas media pada setiap plat dihitungkan. Bilangan koloni direkod, dikumpul dan dianalisa. Tarikh-tarikh yang mana ujian pemantauan telah dijalankan adalah seperti dalam Jadual 2.

## ANALISA DAN PERBINCANGAN

Bilangan koloni bakteria bagi setiap bilik atau kawasan sejak tahun 2007 hingga 2012 ditunjukkan dalam Rajah 1 hingga Rajah 6. Data yang dikumpul adalah untuk kawasan bilik bersih dan kawasan *unclassified*.

### A. Kawasan Bilik Bersih

Lokasi persampelan untuk kawasan bilik bersih gred A, B dan C ialah no 1 hingga 6, no 7 dan no 9. Secara keseluruhannya corak data pada setiap tahun tidak menunjukkan banyak perbezaan.

#### i) **Gred A**

Rajah 2 menunjukkan kawasan bilik bersih gred A iaitu Biosafety Cabinet yang mana bacaan bilangan koloni sepatutnya tidak melebihi 0 cfu. *Biosafety Cabinet* 2 dan 3 terletak di dalam bilik bersih gred B. Kabinet tersebut sangat terjamin kerana persekitrannya gred B yang berupaya mengurangkan risiko kontaminasi mikroorganisma dan ini menjamin kebersihan biosafety cabinet. Bilangan koloni untuk *Biosafety Cabinet* 3 sentiasa bersamaan 0 cfu. Walaupun begitu bilangan koloni untuk *Biosafety Cabinet* 2 ada ketikanya bersamaan 1 cfu, namun ini tidak terjadi dengan kerap iaitu sekali pada awal tahun 2007, iaitu pertama kali ujian pemantauan dibuat. Secara keseluruhannya, bilangan koloni untuk kesemuanya adalah 0 cfu.

*Biosafety Cabinet 1* terletak dalam kawasan *unclassified* iaitu tiada pengkelasan, bermakna ia mempunyai risiko kontaminasi mikroorganisma. Data menunjukkan ada bacaan bilangan koloni melebihi 0 cfu dalam tahun 2007 dan 009 malahan ada bacaan sebanyak 3 cfu. Secara keseluruhannya ia masih dikawal. Maka untuk memastikan kabinet ini dikekalkan sebagai status gred A, pemantauan secara lebih kerap disamping pematuhan prosedur dengan berkesan boleh mengelakkan berlakunya pencemaran mikroorganisma.

*Laminar Air Flow (LAF)* juga terletak dalam kawasan *unclassified*, iaitu ia mempunyai risiko berlakunya kontaminasi mikroorganisma. Terdapat bilangan koloni yang melebihi 0 cfu malahan ada bilangan yang direkodkan sebanyak 4 cfu dan 2 cfu masing masing dalam tahun 2009 dan 2011. Walaubagaimanapun *LAF* tidak digunakan lagi dan telah dikeluarkan dari bilik tersebut mulai awal tahun 2012.

## ii) Gred B

*Sterility Room, Airlock 2 dan Change Room 2* dikelaskan sebagai Gred B (Rajah 3). Mengikut spesifikasi, had bilangan koloni tidak melebihi 5 cfu. Bilangan koloni yang direkodkan sentiasa dibawah had tersebut kecuali pada awal tahun 2007, yang mana bilangan koloni melebihi had. Ini adalah pertama kali ujian pemantauan dilaksanakan. Pada keseluruhannya bilangan koloni memenuhi spesifikasi. Ketiga-tiga bilik tersebut dapat mengekalkan statusnya sebagai bilik bersih gred B.

## iii) Gred C

*Airlock Room 1* dikelaskan sebagai gred C iaitu bilangan koloni dihadkan kepada 50 cfu. Bilangan koloni yang direkod sentiasa rendah setiap tahun dengan maksima 8 cfu sahaja (Rajah 4). Ini menunjukkan bilik ini dapat mengekalkan staus bilik bersih gred C.

Di beberapa lokasi, terdapat bilangan koloni bakteria yang melebihi had. Ini mungkin disebabkan oleh beberapa perkara, antaranya ialah; tiada validasi dibuat terhadap pencucuan dalam bilik bersih, tiada pengesahan bahan pencuci yang digunakan, pemantauan yang tidak dilakukan dengan konsisten, prosedur teknik aseptik tidak diamalkan sepenuhnya. Walaubagaimanapun penyiasatan rapi diperlukan untuk menentukan apa yang menyebabkan keadaan demikian. Kegagalan mematuhi prosedur berkaitan kawalan kebersihan boleh menjejaskan kualiti pesekitaran bilik bersih dan seterusnya menjejaskan kualiti ujian mikrobiologi.

## B. Kawasan “*unclassified*”

Lokasi persampelan pemantauan persekitaran untuk kawasan *unclassified* adalah seperti dalam pelan di dalam rajah 1 iaitu no 8, dan no 10 hingga no. 18. Kawasan ini terdiri dari beberapa bilik dan koridor (Jadual 1) yang terletak di luar bilik bersih. Bilangan koloni bakteria yang direkod pada setiap tahun sejak tahun 2007 hingga 2012 ditunjukkan dalam Rajah 5 hingga Rajah 10. Tiada spesifikasi ditetapkan untuk kawasan ini, bermakna bilangan koloni tidak dihadkan. Bilangan koloni yang direkod tidak konsisten mengikut tahun iaitu bilangan minima ialah 0 cfu dan bilangan maksima ialah 29 cfu. Walaupun begitu bilangan ini adalah rendah berbanding dengan spesifikasi bilik bersih gred C, iaitu had untuk bilangan koloni ialah 50 cfu. Seolah-olah kawasan ini boleh diklaskan sebagai bilik bersih. Walaubagaimanapun ia tetap sebagai kawasan *unclassified* kerana ciri-ciri rekabentuk bangunan yang tidak memenuhi syarat sebagai bilik bersih. Namun berdasarkan kepada bilangan koloni tersebut yang sentiasa rendah, kebersihan bilik ini adalah pada tahap yang memuaskan. Keadaan begini membantu dalam mengurangkan risiko kontaminasi dalam bilik bersih.

Bilangan koloni bakteria untuk lokasi 17 dan 18 didapati lebih banyak berbanding kawasan lain berhampiran bilik bersih. Ini kerana kedudukan bilik tersebut paling hampir dengan kawasan luar makmal yang sememangnya mempunyai kandungan mikroorganisma yang tinggi.

Berdasarkan bilangan koloni yang yang direkod, kebersihan kawasan *unclassified* sentiasa dikawal dengan cara yang berkesan. Amalan kebersihan dan prosedur yang sedia ada membantu mengurangkan risiko kontaminasi mikroorganisma dalam kawasan ini. Peraturan tersebut termasuklah pemakaian baju makmal yang dikhaskan dan menanggalkan kasut sebelum memasuki kawasan makmal dan memakai kasut khas makmal. Walaupun kawasan ini tidak diklasifikasikan sebagai bilik bersih, namun ia penting sebagai kawasan kawalan dan telah dapat mengurangkan risiko kontaminasi mikroorganisma.

## **KESIMPULAN**

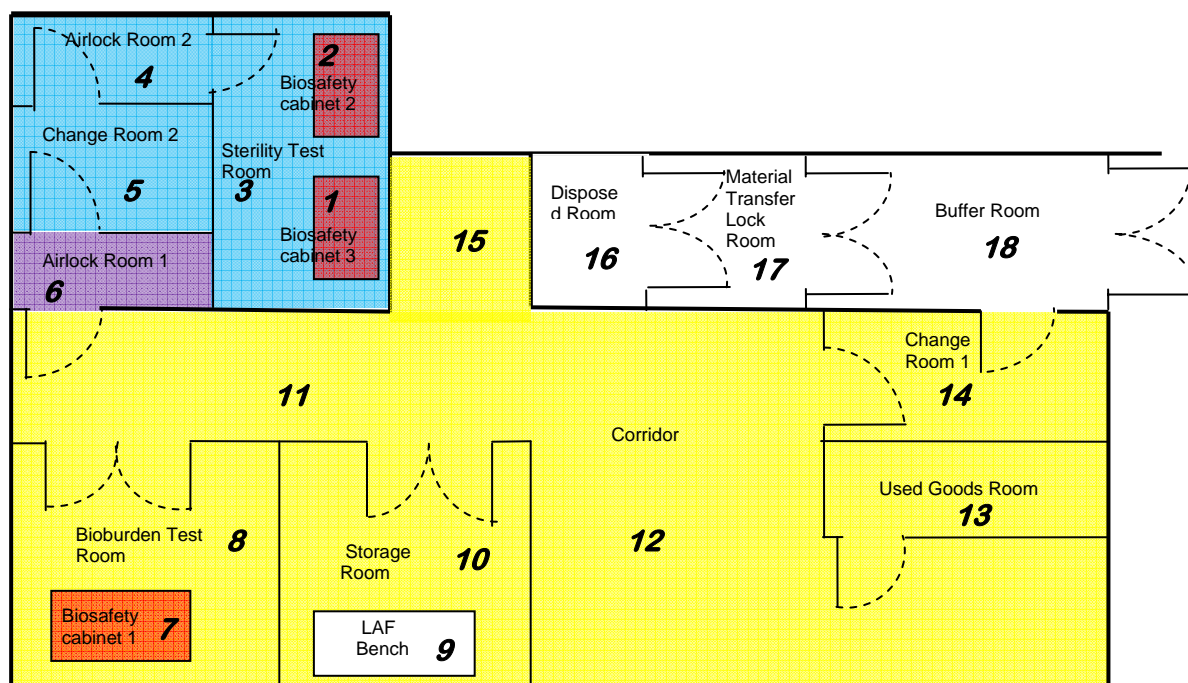
Bilangan koloni bakteria untuk setiap bilik atau kawasan tidak menunjukkan perbezaan ketara sejak tahun 2007 hingga 2012. Bilangan koloni bakteria untuk *Biosafety cabinet* 1, 2 dan 3 memenuhi spesifikasi bilik bersih gred A. *Biosafety cabinet* 1 yang berada dalam kawasan *unclassified* mempunyai risiko tinggi dari segi kontaminasi mikroorganisma, maka pemantauan dengan lebih kerap disamping prosedur kawalan kebersihan yang lebih berkesan diperlukan. Bilik bersih gred B dan C juga menunjukkan bilangan koloni bakteria sentiasa memenuhi spesifikasi. Kebersihan kawasan *unclassified* sentiasa terkawal dan dapat mengurangkan risiko kontaminasi mikroorganisma.

## **PENGHARGAAN**

Penghargaan ditujukan kepada kakitangan Makmal Mikrobiologi Bahagian Teknologi Perubatan atas bantuan yang diberikan dalam menyediakan kertas kerja ini.

## **RUJUKAN**

Tests for Environmental and Personnel Hygiene Monitoring, SOP/QC/MN/04-02, 2012



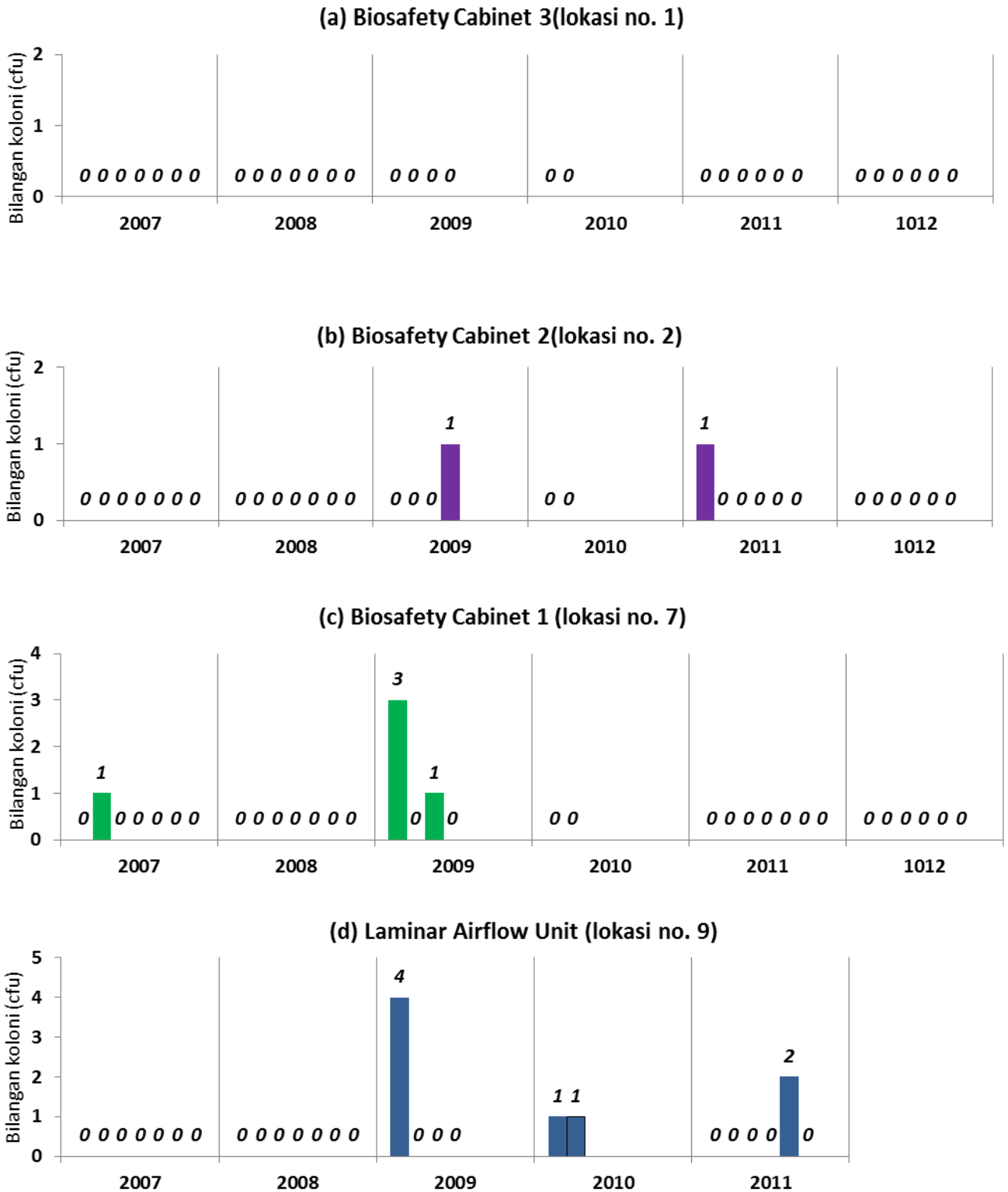
Rajah 1: Lokasi pendedahan plat bagi pemantauan persekitaran Makmal Mikrobiologi.  
(Dalam tahun 2012, tiada persampelan dibuat untuk lokasi no 9 dan no 15)

Jadual 1: Pengelasan bilik atau kawasan

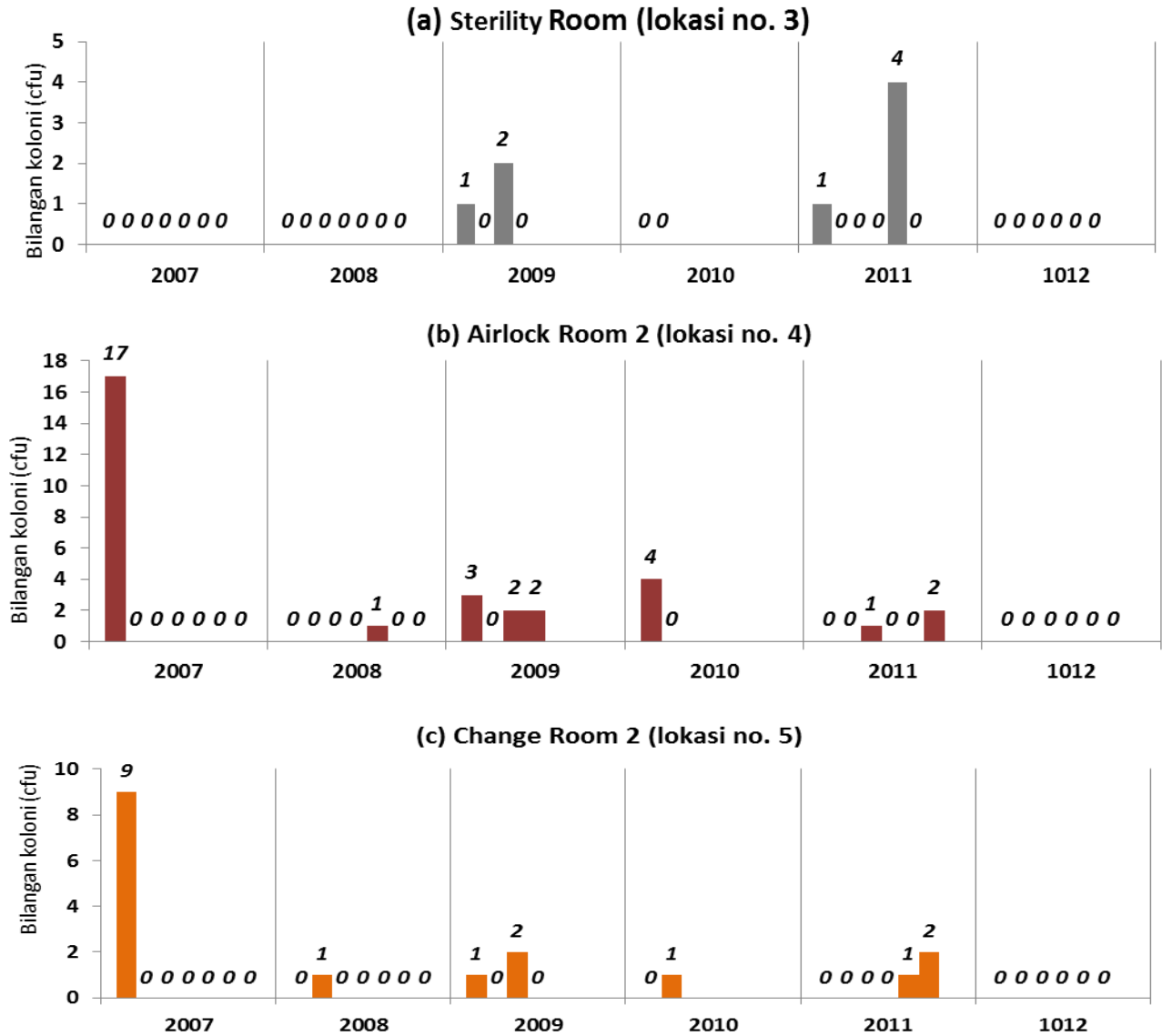
lokasi	Nama bilik/kawasan	Pengelasan	lokasi	Nama bilik/kawasan	Pengelasan
1	<i>Sterility Test Room</i>	Gred B	10	<i>Storage Room</i>	<i>unclassified</i>
2	<i>Biosafety Cabinet 2</i>	Gred A	11, 12, 15	<i>Corridor</i>	<i>unclassified</i>
3	<i>Biosafety Cabinet 2</i>	Gred A	13	<i>Used Goods Room</i>	<i>unclassified</i>
4	<i>Airlock Room 2</i>	Gred B	14	<i>Change Room 1</i>	<i>unclassified</i>
5	<i>Change Room 2</i>	Gred B	16	<i>Dispose Room</i>	<i>unclassified</i>
6	<i>Airlock Room 1</i>	Gred C	17	<i>Material Transfer Lock Room</i>	<i>unclassified</i>
7	<i>Biosafety Cabinet 1</i>	Gred A			
8	<i>Bioburden Test Room</i>	<i>unclassified</i>	18	<i>Buffer Room</i>	<i>unclassified</i>
9	<i>LAF Bench</i>	Gred A			

Jadual 2: Tarikh-tarikh ujian pemantauan

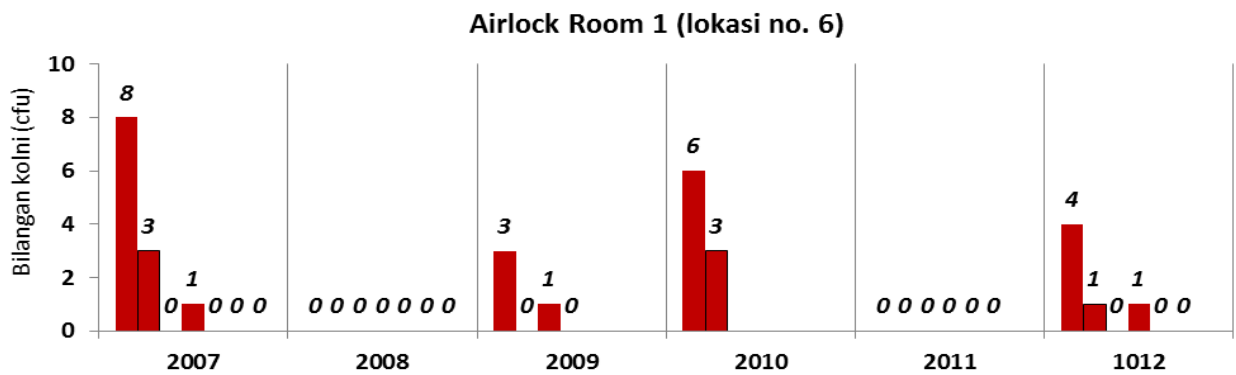
2007	2008	2009	2010	2011	2012
04.02.07	14.01.08	14.02.09	31.01.10	02.01.11	22.01.12
26.03.07	23.03.08	17.05.09	09.05.10	13.23.11	21.03.12
23.04.07	20.04.08	26.07.09		27.03.11	06.05.12
25.07.07	18.05.08	22.11.09		08.05.11	14.07.12
03.09.07	15.06.08			31.07.11	30.09.12
29.10.07	03.08.08			16.10.11	19.11.12
03.12.97	21.09.08				



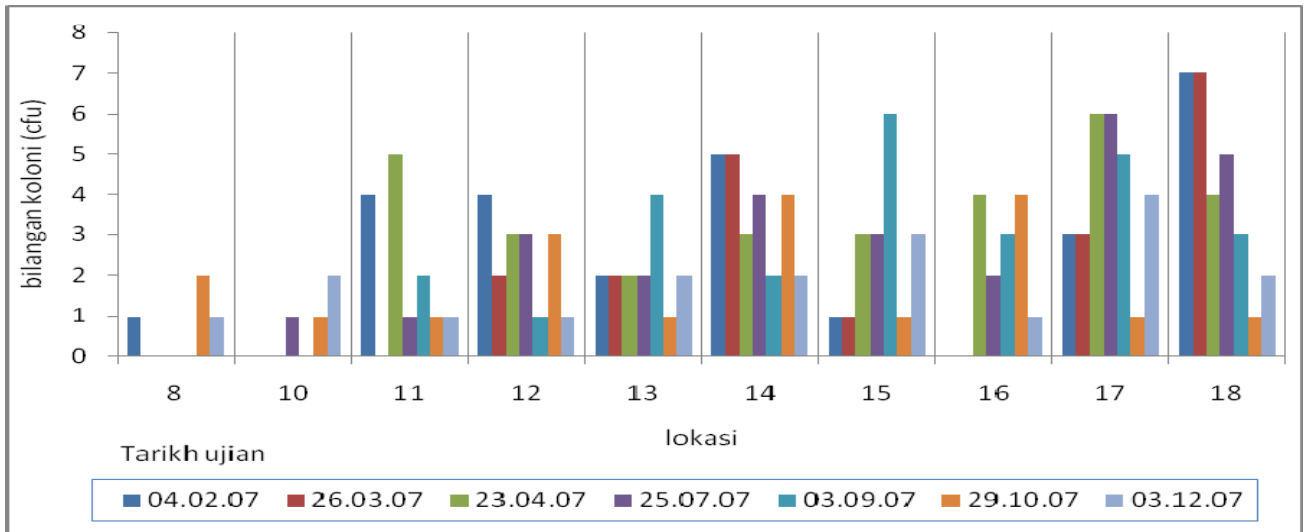
Rajah 2 : Bilangan koloni bakteria untuk bilik bersih gred A sejak tahun 2007 hingga 2012.  
 (a) Biosafety Cabinet 3, (b) Biosafety Cabinet 2, (c) Biosafety Cabinet 1 dan (d) Laminar Air Flow.



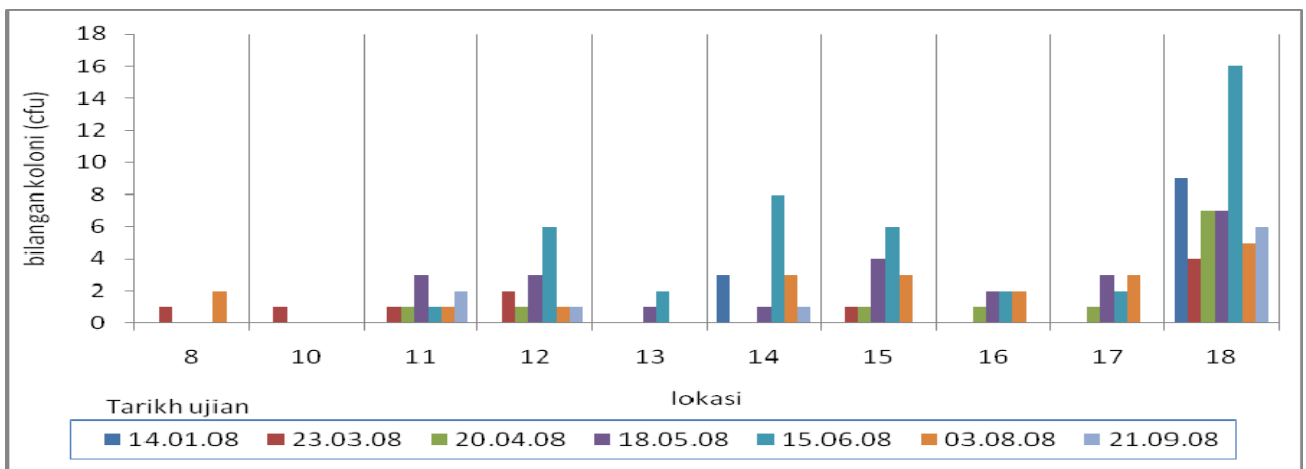
Rajah 3: Bilangan koloni bakteria untuk bilik bersih Gred B (a) *Sterility Room*, (b) *Airlock Room 2* dan (c) *Change Room 2*.



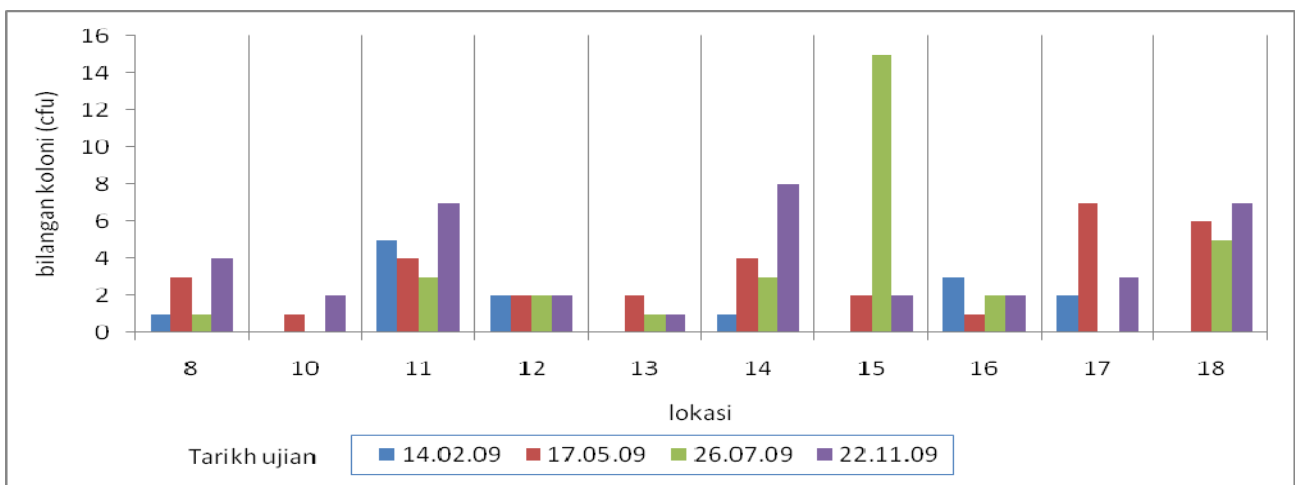
Rajah 4: Bilangan koloni bakteria untuk bilik bersih Gred C (*Airlock Room 1*).



Rajah 5: Bilangan koloni bakteria untuk kawasan *unclassified* bagi tahun 2007.

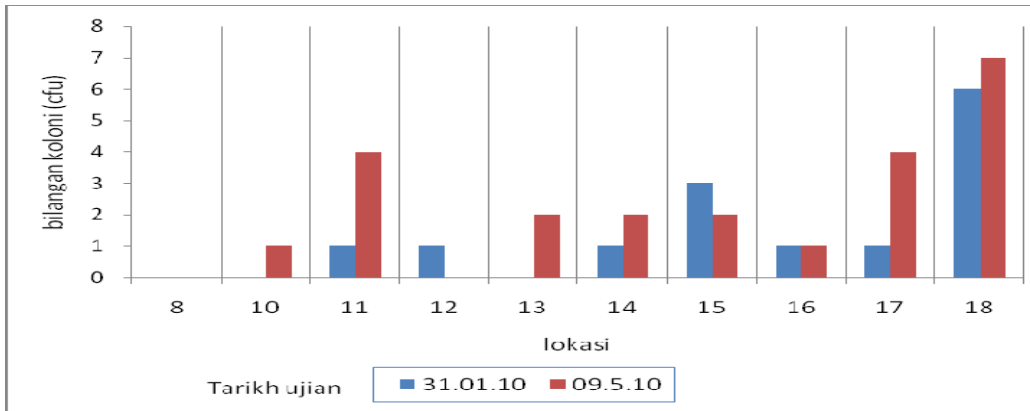


Rajah 6: Bilangan koloni bakteria untuk kawasan *unclassified* bagi tahun 2008

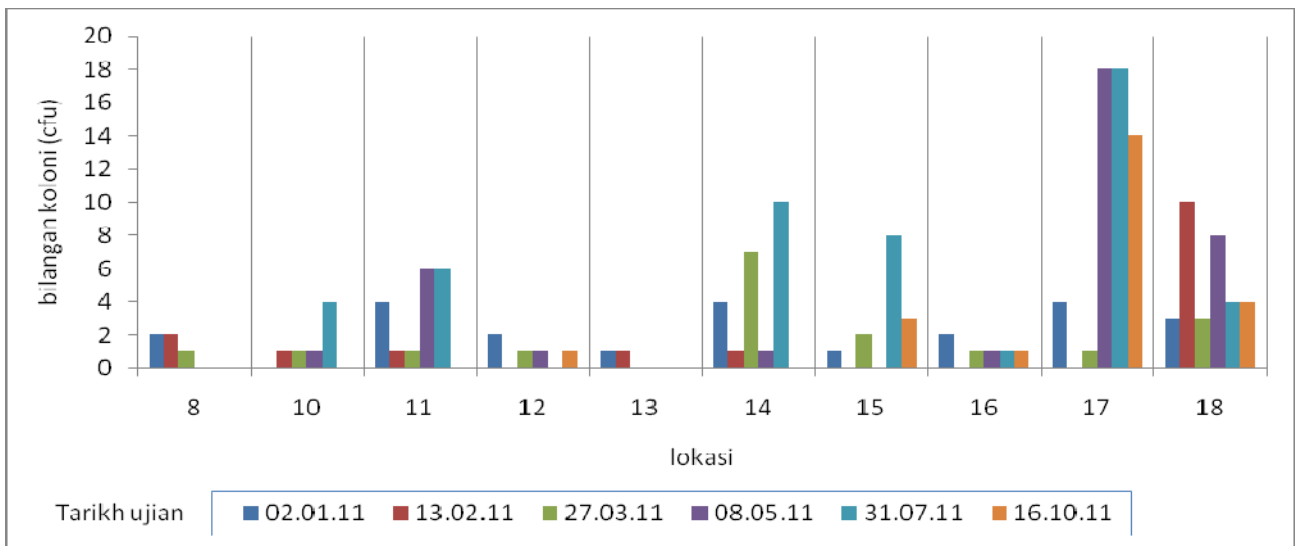


Rajah 7: Bilangan koloni bakteria untuk kawasan *unclassified* bagi tahun 2009

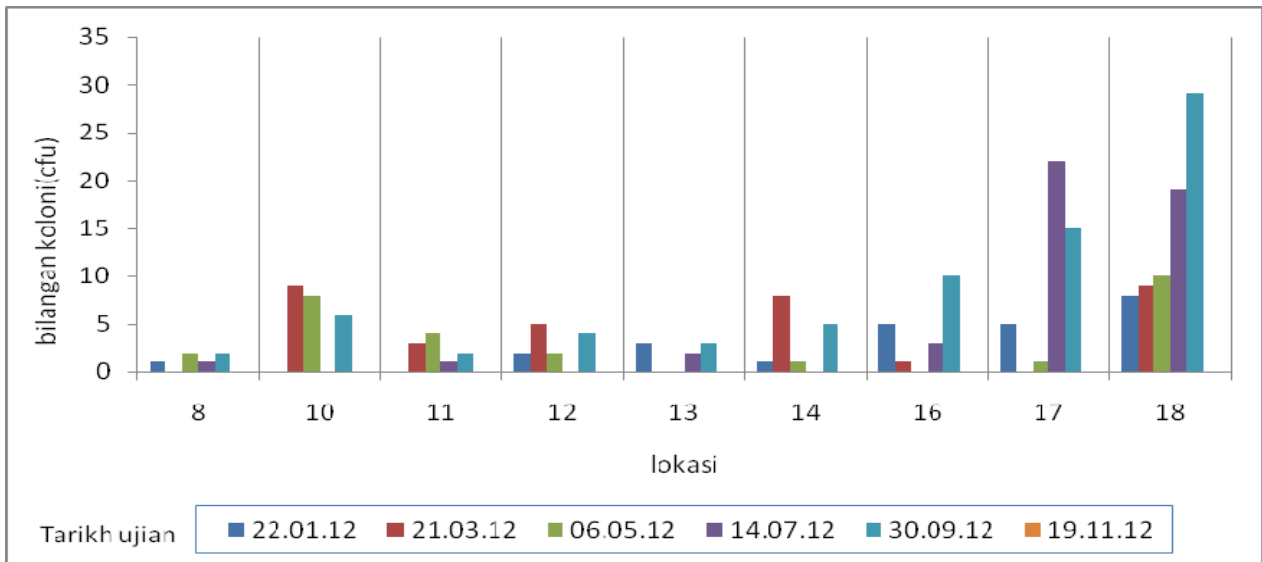




Rajah 8: Bilangan koloni bakteria untuk kawasan *unclassified* bagi tahun 2010



Rajah 9: Bilangan koloni bakteria untuk kawasan *unclassified* bagi tahun 2011



Rajah 10: Bilangan koloni bakteria untuk kawasan *unclassified* bagi tahun 2012.