

Validitas Metode Konvensional Modifikasi Terhadap Metode Konvensional Dan Chromid™ Esbl Untuk Deteksi Bakteri-bakteri Penghasil *Extended-spectrum Beta-lactamases*

Maya Savira*

ABSTRACT

Extended spectrum beta lactamases (ESBL) enzymes producing microorganisms are a major problem in increasing of betalactamases antibiotics resistance include cephalosporins. These enzymes are produced by gram negatives bacilli especially a variety of Enterobacteriaceae, however the most common ESBL producing microorganisms are *Klebsiella spp* and *Escherichia coli*. Detection and identification of gram negatives bacilli producing ESBL are challenging for clinical microbiology laboratory to determine the best method to get the optimal results. The objective of this study was to determine the sensitivity and specificity of conventional method modification using MacConkey added with cefpodoxim disc 10 µg, 2 mg/l to conventional method and ChromID™ ESBL. The method of this study was an observational analytical study using cross sectional design on 200 isolates, which were *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia spp*, and *Enterobacter spp*. The sensitivity of conventional method modification was 93,8%, conventional method was 68,8% and ChromID™ ESBL method was 100%. The spesificity of conventional method modification was 98,7%, conventional method was 11,2% and ChromID™ ESBL method was 100%. The sensitivity of conventional method modification was higher than conventional method and as good as ChromID™ ESBL for detecting ESBL producing bacterias.

Keywords: Extended spectrum beta lactamases, MacConkey, cefpodoxim, Mueller-Hinton, ChromID™ ESBL

Bakteri penghasil ESBL merupakan salah satu penyebab infeksi nosokomial terutama di negara berkembang dengan spektrum infeksi yang luas dan umumnya ditemukan di rumah sakit terutama pada ruang rawat intensif. Pasien yang dirawat lama di rumah sakit, pasien dengan kateter intra vena dan kateter urin, pasien dengan pemasangan intubasi dan penggunaan ventilator serta telah mendapatkan berbagai jenis antibiotik yang berlebihan sebelumnya, terutama golongan sefalosporin biasanya terinfeksi oleh bakteri ini. Angka kematian yang diakibatkan oleh infeksi bakteri gram negatif penghasil ESBL lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan oleh bakteri penghasil non-ESBL.^{1,2,3}

Prevalensi ESBL yang tinggi umumnya ditemukan pada rumah sakit yang banyak menggunakan antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga secara tidak rasional. Di Indonesia, prevalensi bakteri penghasil ESBL sekitar 33.3% untuk *K. pneumoniae* dan 23% untuk *E. coli*.^{4,5}

ChromID™ ESBL merupakan media kromogenik yang dirancang khusus untuk mendeteksi bakteri-bakteri penghasil ESBL secara akurat dalam waktu 24 jam. Media ini mengandung pepton, glukosa dan antibiotik yaitu sefpodoksim yang digunakan sebagai marker mekanisme resistensi ESBL serta memiliki sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi ESBL.^{6,7} Sensitifitas dan spesifisitas ChromID™ ESBL dalam mendeteksi *E. coli* dan *K. pneumoniae* cukup tinggi sekitar 97,7% dan 89%.⁸ Media ChromID™ ESBL ini memiliki kekurangan, antara lain harga yang relatif mahal, masa kadaluarsa yang pendek, waktu pemesanan media yang lama dan hanya dapat mendeteksi 3 kelompok bakteri penghasil ESBL, yaitu *E. coli*,

* Corresponding Author:
Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau
Pekanbaru, Jl. Diponegoro no. 1 Pekanbaru, Telp. (0761)
839264. Email : mayadonel@yahoo.co.id

KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*) dan Proteae (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*).^{9,10}

Penelitian dengan memodifikasi metode konvensional menggunakan media MacConkey yang ditambahkan dengan antibiotik seftazidim telah dilakukan untuk meningkatkan kualitas deteksi dan identifikasi bakteri gram negatif penghasil ESBL. Hasil penelitian dengan menggunakan media MacConkey ditambahkan dengan seftazidim diperoleh sensitivitas metode konvensional modifikasi tersebut 84,1%, lebih rendah dari ChromID™ ESBL yang memiliki sensitivitas 97,7%.^{8,10,11}

Selektivitas media MacConkey dalam mendeteksi bakteri batang gram negatif sudah terbukti keakuratannya, sedangkan berkaitan dengan penggunaan sefpodoksim dicampur dengan MacConkey masih belum diketahui, sehingga dengan penambahan sefpodoksim pada media MacConkey kemungkinan dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri penghasil ESBL pada media untuk mendeteksi bakteri batang gram negatif penghasil ESBL dibandingkan dengan seftazidim.^{8,9}

METODE

Penelitian ini bersifat komparatif dengan menggunakan rancangan penelitian potong silang dengan tujuan mencari validitas antara metode konvensional modifikasi terhadap metode konvensional dan ChromID™ ESBL. Baku emas yang digunakan pada penelitian ini adalah metode konvensional dilanjutkan dengan uji konfirmasi dengan *combined disc*.

Populasi

Populasi penelitian ini adalah semua isolat klinik bakteri uji yang masuk Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Borromeus, Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Santosa dan Laboratorium Mikrobiologi Prodia Bandung. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling*. Isolat bakteri uji yang ditanam agar nutrisi miring di konfirmasi dengan pewarnaan gram, pengujian motilitas, indol dan urease (MIU) serta sitrat.

Deteksi secara Konvensional

Uji kepekaan dilakukan berdasarkan metode Kirby-Bauer untuk mencari bakteri yang diduga sebagai penghasil ESBL menggunakan cakram seftazidim 30 µg. Koloni bakteri disuspensikan dalam akuades steril hingga mencapai kekeruhan 0,5 McFarland lalu ditanam di agar Mueller-Hinton. Setelah 30 menit, cakram seftazidim diletakkan pada permukaan agar kemudian diinkubasi pada suhu 35°-37°C selama 24 jam. Bila diameter zona hambat d" 22 mm (kriteria CLSI) maka dilanjutkan dengan konfirmasi fenotip dengan metode *combined disk*.

Deteksi secara Konvensional Modifikasi (MacConkey + cakram sefpodoksim 30 µg)

Inokulasi isolat bakteri uji pada agar MacConkey + cakram sefpodoksim 30 µg. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37°C. Setelah inkubasi 24 jam, koloni yang tumbuh dilakukan konfirmasi fenotip dengan metode *combined disc*.

Konfirmasi fenotip dengan metode *combined disc*

Metode ini menggunakan cakram seftazidim (30 µg) dan kombinasi cakram seftazidim/asam klavulanat (30/10 µg). Bila terdapat peningkatan zona hambat e" 5 mm pada cakram kombinasi seftazidim/asam klavulanat dibandingkan dengan cakram seftazidim saja maka hal itu menunjukkan bahwa bakteri yang diinokulasikan adalah penghasil ESBL.

Deteksi dengan ChromID™ ESBL

Koloni bakteri uji dari biakan agar nutrisi miring lalu ditanam pada ChromID™ ESBL lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Interpretasi setelah 24 jam, terdapat koloni berwarna merah jambu hingga merah keunguan pada ChromID ESBL berarti koloni tersebut *E. coli* dan koloni berwarna hijau, coklat kehijauan atau kebiru-biruan adalah koloni kelompok KESC dan kelompok Protease akan berwarna coklat tua hingga coklat muda.

Strain untuk Kontrol Mutu

Pemeriksaan untuk mendeteksi ESBL harus menggunakan kontrol mutu. Strain yang direkomendasikan oleh CLSI untuk pemeriksaan ini adalah *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Tabel 1 Rentang diameter zona hambat golongan sefalosporin

Jenis Antibiotik	Diameter Zona Hambat
Sefpodoksim 10 µg	9-16 mm
Seftazidim 30 µg	10-18 mm
Aztreonam 30 µg	9-17 mm
Sefotaksim 30 µg	17-25 mm
Sefriakson 30 µg	16-24 mm

Sumber : CLSI¹²

HASIL

Isolat yang terkumpul berjumlah 200 sampel dengan karakteristik:

Tabel 2 Karakteristik isolat

Jenis bakteri	Jumlah (%)
<i>Escherichia coli</i>	70 (35,0)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	64 (32,0)
<i>Salmonella typhi</i>	24 (12,0)
<i>Klebsiella terrigena</i>	10 (5,0)
<i>Proteus mirabilis</i>	12 (6,0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12 (6,0)
<i>Serratia spp</i>	3 (1,5)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (1,0)
<i>Enterobacter spp</i>	3 (1,5)
Total	200 (100)

Tabel 3 Spesimen asal isolat

Bakteri	Asal bahan isolat								
	Sputum	Pus	Urin	Darah	Hapus tenggorok	Sekret vagina	Feses	Cairan peritonium	Cairan pleura
<i>Escherichia coli</i>	2	14	49	3	-	1	1	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	8	15	2	8	2	-	1	1
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	24	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella terrigena</i>	7	-	3	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	10	1	1	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	6	-	-	3	-	-	1	-
<i>Serratia spp</i>	-	-	3	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-

Bakteri penghasil ESBL yang terdeteksi dengan metode metode konvensional, konvensional modifikasi dan ChromID™ ESBL dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Bakteri Penghasil ESBL setelah Konfirmasi

Jenis Bakteri	Jumlah	ESBL (+)	ESBL (-)
<i>Escherichia coli</i>	70	19 (27,14%)	51 (72,86%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	64	21 (32,81%)	43 (67,19%)
<i>Salmonella typhi</i>	24	-	24 (100%)
<i>Klebsiella terrigena</i>	10	2 (20%)	8 (80%)
<i>Proteus mirabilis</i>	12	3 (25%)	9 (75%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	2 (16,67)	10 (83,33%)
<i>Serratia spp</i>	3	1 (33,33%)	2 (66,67%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	-	2 (100%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	1 (33,33%)	2 (66,67%)
Total isolat	200	49 (24,5%)	151 (75,5%)

Hasil deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan skrining metode konvensional,

konvensional modifikasi dan ChromID™ ESBL dapat disajikan pada Tabel 5 berikut ini.

Tabel 5. Deteksi Bakteri Penghasil ESBL

Deteksi bakteri penghasil ESBL	N	%
Skrining (n=200)		
Positif	168	84,0
Negatif	32	16,0
Metode Konvensional Modifikasi (n=200)		
Positif	47	23,5
Negatif	153	76,5
Metode ChromID™ ESBL (n=164)		
Positif	46	28,0
Negatif	118	72,0
Hasil konfirmasi		
Positif	48	24,0
Negatif	152	76,0

Data hasil skrining mendeteksi bakteri penghasil ESBL sebanyak 168 isolat (84,0%), sedangkan berdasarkan metode konvensional modifikasi terdeteksi bakteri penghasil ESBL yaitu 47 isolat (23,5%) dan berdasarkan metode

ChromID™ ESBL terdeteksi bakteri penghasil ESBL yaitu 46 isolat (28,0%) dan berdasarkan hasil konfirmasi terdeteksi bakteri penghasil ESBL yaitu 48 isolat (24,0%).

Tabel 6 Validitas Deteksi Bakteri Penghasil ESBL berdasarkan Metode Konvensional Modifikasi terhadap Deteksi Bakteri Penghasil ESBL berdasarkan Metode Konvensional

Deteksi Bakteri Penghasil ESBL	Metode Konvensional		Total
	Positif	Negatif	
Metode Konvensional Modifikasi			
Positif	35(74,5%)	12 (25,5%)	47(100%)
Negatif	133(86,9%)	20(13,1%)	153(100%)
Total	168(84,0%)	32(16,0%)	200(100%)

$\chi^2 = 4,153$ Nilai p = 0,042 Indeks Kappa : 0,07

Berdasarkan tabel 6 menunjukkan hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi lebih tinggi daripada metode konvensional untuk melihat hasil positif dan hasil uji kai kuadrat menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian secara

signifikan antara hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dengan deteksi berdasarkan metode konvensional dengan nilai p=0,042 (pd>0,05) dengan indeks kappa yang menunjukkan kesesuaian tingkat rendah dengan indeks kappa yaitu 0,07.

Tabel 7 Ukuran Diagnostik Hasil Pemeriksaan Deteksi Bakteri Penghasil ESBL berdasarkan Metode konvensional Modifikasi terhadap Metode Konvensional

Ukuran Diagnostik	Nilai
Sensitivitas	20,8%
Spesifisitas	62,5%
Prediksi nilai positif	74,5%
Prediksi nilai negative	13,1%
Akurasi	27,5%

Tabel 7 menunjukkan perbandingan antara nilai sensitivitas dan spesifisitas tampak bahwa hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL

berdasarkan metode konvensional modifikasi memiliki spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan sensitivitas.

Prediksi nilai positif dari sampel penelitian yang dinyatakan positif menurut hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dan mempunyai hasil positif berdasarkan metode konvensional adalah 74,5%, sedangkan prediksi nilai negatif dari sampel penelitian yang dinyatakan negatif menurut hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dan mempunyai hasil negatif berdasarkan metode konvensional yaitu hanya 13,1% dengan nilai akurasi 27,5%.

Tabel 8 Validitas Deteksi Bakteri Penghasil ESBL Berdasarkan Metode Konvensional Modifikasi Terhadap Deteksi Bakteri Penghasil ESBL Berdasarkan Metode ChromID™ ESBL

Deteksi Bakteri Penghasil ESBL	Metode ChromID™ ESBL		Total
	Positif	Negatif	
Metode Konvensional Modifikasi			
Positif	43(95,6%)	2(4,4%)	45(100%)
Negatif	3(2,5%)	116(97,5%)	119(100%)
Total	46(28,0%)	118(72,0%)	164(100%)

$$\chi^2 = 140,040 \quad \text{Nilai } p < 0,001 \quad \text{Indeks Kappa : 0,92}$$

Berdasarkan Tabel 8 terlihat bahwa dari seluruh bakteri yang positif penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi ternyata positif menurut metode ChromID™ ESBL sebanyak 43 isolat (95,6%) dan dari seluruh bakteri yang negatif penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi ternyata negatif menurut metode ChromID™ ESBL sebanyak 116 isolat (97,5%). Data tersebut menunjukkan bahwa secara persentase hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi sesuai dengan yang berdasarkan metode ChromID™ ESBL. Berdasarkan uji kai kuadrat didapat kesesuaian secara signifikan antara hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dengan metode ChromID™ ESBL dengan nilai $p < 0,001$ ($p < 0,05$) dan indeks kappa yang menunjukkan

kesesuaian tingkat tinggi dengan indeks kappa yaitu 0,92.

Tabel 9 Ukuran Diagnostik Hasil Pemeriksaan Deteksi Bakteri Penghasil ESBL Berdasarkan Metode Konvensional Modifikasi terhadap Metode ChromID™ ESBL

Ukuran Diagnostik	Nilai
Sensitivitas	93,5%
Spesifisitas	98,3%
Prediksi nilai positif	95,6%
Prediksi nilai negative	97,5%
Akurasi	97,0%

Tabel 9 menunjukkan bahwa sensitivitas hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi sebesar 93,5% artinya proporsi sampel penelitian yang dinyatakan positif menurut hasil pemeriksaan berdasarkan metode ChromID™ ESBL dapat diidentifikasi positif secara metode konvensional modifikasi adalah 93,5%. Spesifisitas hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi sebesar 98,3%, artinya proporsi subjek penelitian yang dinyatakan negatif menurut hasil pemeriksaan berdasarkan metode ChromID™ ESBL dapat diidentifikasi negatif melalui hasil pemeriksaan metode konvensional modifikasi sebesar 98,3%. Jika dibandingkan antara nilai sensitivitas dan spesifisitas tampak bahwa hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi memiliki sensitivitas dan

spesifisitas yang maksimal. Terlihat pula bahwa hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi memiliki spesifisitas lebih tinggi dibandingkan dengan sensitivitas. Hal ini sesuai dengan tujuan untuk deteksi dini (skrining) dan juga sebagai kriteria diagnostik.

Prediksi nilai positif dari sampel penelitian yang dinyatakan positif menurut hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dan juga mempunyai hasil positif berdasarkan metode ChromID™ ESBL adalah 95,6%. Prediksi nilai negatif dari sampel penelitian yang dinyatakan negatif menurut hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dan juga mempunyai hasil negatif berdasarkan metode ChromID™ ESBL sebesar 97,5% dengan akurasi 97,0%.

Tabel 10 Validitas Deteksi Bakteri Penghasil ESBL Berdasarkan Metode Konvensional, Konvensional Modifikasi dan Metode ChromID™ ESBL terhadap Hasil Konfirmasi

Metode deteksi bakteri penghasil ESBL	Hasil Konfirmasi		Total	χ^2	Nilai p	Indeks Kappa
	Positif	Negatif				
Konvensional				164,000	0,001	0,11
Positif	33(19,6%)	135(80,4%)	168(100%)			
Negatif	15(46,9%)	17(53,1%)	32(100%)			
Konvensional Modifikasi				10,929	<0,001	0,93
Positif	45(95,7%)	2(4,3%)	47(100%)			
Negatif	3(2,0%)	150(98,0%)	153(100%)			
ChromID™ ESBL				173,377	<0,001	1,00
Positif	46(100%)	0(0%)	46(100%)			
Negatif	0(0%)	118(100%)	118(100%)			

Berdasarkan Tabel 10 terlihat bahwa dari seluruh bakteri yang positif penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional ternyata positif menurut hasil konfirmasi sebanyak 33 isolat (19,6%) dan dari seluruh bakteri yang negatif penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional ternyata negatif menurut hasil konfirmasi yaitu 17 isolat (53,1%). Data tersebut menunjukkan bahwa secara persentase hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional sesuai dengan hasil konfirmasi. Hasil uji kai kuadrat menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian secara signifikan antara hasil pemeriksaan deteksi bakteri

penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional dengan hasil konfirmasi dengan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$) namun kurang sesuai untuk hasil negatif berdasarkan metode konvensional dibandingkan hasil konfirmasi dengan indeks kappa yang menunjukkan kesesuaian tingkat kurang dengan indeks kappa yaitu 0,11.

Tabel 10 menunjukkan bahwa dari seluruh bakteri yang positif penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasinya ternyata positif menurut hasil konfirmasi sebanyak 45 isolat (95,7%) dan dari seluruh bakteri yang negatif penghasil

ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasinya ternyata negatif menurut hasil konfirmasi sebanyak 150 isolat (98,0%). Data tersebut menunjukkan bahwa secara persentase hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi sesuai dengan hasil konfirmasi. Hasil uji *kai kuadrat* menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian secara signifikan antara hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi dengan hasil konfirmasi dengan nilai $p < 0,001$ ($p > 0,05$) dan indeks kappa yang menunjukkan kesesuaian tingkat tinggi yaitu 0,93.

Hasil penelitian menunjukkan pula bahwa dari seluruh bakteri yang positif penghasil ESBL

berdasarkan metode ChromID™ ESBL ternyata positif menurut hasil konfirmasi sebanyak 46 isolat (100%) dan dari seluruh bakteri yang negatif penghasil ESBL berdasarkan metode ChromID™ ESBL ternyata negatif menurut hasil konfirmasi sebanyak 118 isolat (100%). Data tersebut menunjukkan bahwa secara persentase hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode ChromID™ ESBL sesuai dengan hasil konfirmasi. Hasil uji *kai kuadrat* menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian secara signifikan antara hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode ChromID™ ESBL dengan hasil konfirmasi dengan nilai $p < 0,001$ ($p > 0,05$) dan indeks kappa yang menunjukkan kesesuaian tingkat tinggi yaitu 1,00.

Tabel 11 Ukuran Diagnostik Hasil Pemeriksaan Deteksi Bakteri Penghasil ESBL Berdasarkan Metode Konvensional, Konvensional Modifikasi dan ChromID™ ESBL terhadap Hasil Konfirmasi

Ukuran Diagnostik	Se	Sp	PPV	NPV	Akurasi
Metode Konvensional	68,8%	11,2%	19,6%	53,1%	25,0%
Metode Konvensional Modifikasi	93,8%	98,7%	95,7%	98,0%	97,5
Metode ChromID™ ESBL	100%	100%	100%	100%	100%

Tabel 11 menunjukkan bahwa sensitivitas pada hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL berdasarkan metode konvensional modifikasi lebih besar dari metode konvensional namun masih lebih rendah dibandingkan metode ChromID™ ESBL yaitu sebesar 93,8%, begitu pula dengan spesifisitas yaitu 98,7%. Prediksi nilai positif sebesar 95,7% dan prediksi nilai negatif sebesar 98,0% dengan akurasi 97,5%.

PEMBAHASAN

Hasil skrining menggunakan metode konvensional dengan media Mueller-Hinton dan cakram seftazidim 30 µg terhadap 200 isolat didapatkan 168 isolat (84,0%) merupakan suspek bakteri penghasil ESBL dan 32 isolat (16,0%) bakteri bukan penghasil ESBL (Tabel 5). Setelah dikonfirmasi dengan *combined disc* hanya 33 isolat (19,6%) dari 168 isolat suspek yang positif merupakan bakteri penghasil ESBL sementara 135

isolat (80,4%) memberikan hasil positif palsu (*false positive*) (Tabel 10). Tingginya hasil positif palsu tersebut terdeteksi pada bakteri *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp* dan *Serratia* yang termasuk kelompok *AmpC β -lactamase* yang merupakan betalaktamase grup 1 (*Ambler class C*).^{3,13-15} Dalam suatu pustaka dikemukakan bahwa gen *AmpC* menghasilkan enzim betalaktamase yang resisten terhadap sefalosporin dan tidak dapat dihambat oleh asam klavulanat, hal inilah yang membedakannya dengan ESBL, sementara uji konfirmasi pada penelitian ini menggunakan seftazidim ditambah dengan asam klavulanat.^{3,15}

Berdasarkan hasil konfirmasi terhadap 32 isolat yang dianggap bukan sebagai bakteri penghasil ESBL hanya 17 isolat (53,1%) yang negatif sesungguhnya (*true negative*) sedangkan 15 isolat (46,9%) merupakan negatif palsu (*false negative*). Tingginya hasil negatif palsu dapat disebabkan karena banyak strain bakteri yang

menghasilkan ESBL menunjukkan efek inokulum, yaitu terdapatnya peningkatan MIC sefalosporin spektrum luas bila terdapat peningkatan inokulum organisme tersebut. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa MIC dari sebagian besar sefalosporin meningkat secara dramatis bila inokulum pada uji resistensi dinaikkan dari 10^5 menjadi 10^7 colony forming unit (CFU)/ml.¹⁵ Efek inokulum ini dapat terjadi jika bakteri menghasilkan enzim seperti betalaktamase yang akan menurunkan efektivitas antibiotik. Pada saat bakteri dibunuh oleh antibiotik maka secara bersamaan antibiotik tersebut terdegradasi sementara bakteri yang telah mati masih melepaskan enzim secara aktif dalam jumlah yang banyak sehingga dapat menurunkan konsentrasi efektif antibiotik di sekitar media. Hasil negatif palsu juga dapat terjadi jika inokulum yang digunakan pada saat pemeriksaan rendah. Berdasarkan kepustakaan bakteri batang gram negatif terutama golongan *Enterobacteriaceae* yang menghasilkan ESBL pada jumlah inokulum yang rendah seperti pada strain CTX-M-10, TEM-3, TEM-10, TEM-12, TEM-6 dan SHV-18, akan memberikan hasil negatif palsu terhadap lebih dari satu jenis antibiotik termasuk antibiotik yang digunakan untuk skrining seperti seftazidim, sefotaksim dan aztreonam.^{3,15,16}

Pada metode konvensional modifikasi dengan media MacConkey ditambah cakram sefpodoksim 10 µg didapatkan 47 isolat (23,5%) merupakan suspek bakteri penghasil ESBL dan 153 isolat (76,5%) bukan penghasil ESBL (Tabel 4.4) dari 200 isolat yang dideteksi. Setelah dikonfirmasi didapatkan 45 isolat (95,7%) dari 47 isolat suspek yang positif merupakan bakteri penghasil ESBL dan hanya 2 isolat (4,3%) memberikan hasil positif palsu (*false positive*) (Tabel 10). Dari hasil konfirmasi terhadap 153 isolat yang dianggap sebagai bakteri bukan penghasil ESBL didapatkan 150 isolat (98,0%) yang negatif sesungguhnya (*true negative*) sedangkan 3 isolat (2,0%) merupakan negatif palsu (*false negative*) dan menunjukkan kesesuaian tingkat tinggi dengan indeks kappa yaitu 0,93. Metode konvensional modifikasi ini menunjukkan sensitivitas yang tinggi yaitu 93,8% terhadap hasil konfirmasi (Tabel 9) dan akurasi 97,5%. Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan sensitivitas hasil suatu penelitian yang menggunakan media MacConkey dicampur dengan seftazidim 2 mg/liter

yaitu 84,1%.⁹ Sensitivitas pada hasil penelitian lain dengan menggunakan media komersial BLSE yang terdiri dari media Drigalski dan MacConkey dicampur dengan sefotaksim (1,5 µg/ml-1) dan seftazidim (2 µg/ml-1) juga lebih rendah dibandingkan dengan penelitian ini yaitu 85%.⁸ Tingginya sensitivitas metode ini dibandingkan dengan media Mueller-Hinton dan cakram seftazidim 30 µg disebabkan karena penggunaan sefpodoksim pada media MacConkey. Hasil ini sesuai dengan kepustakaan yang menyatakan bahwa sefpodoksim merupakan antibiotik yang digunakan sebagai marker mekanisme resistensi ESBL dan memiliki sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi bakteri penghasil semua jenis ESBL.^{3,613,17} Cakram sefpodoksim 10 µg yang ditambahkan pada media MacConkey terdifusi 100% ke media setelah dianalisa dengan *High Performance Liquid Chromatography* di Laboratorium Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung (lampiran 4). Penggunaan seftazidim saja sebagai pilihan antibiotik pada media seperti yang dilakukan pada penelitian lain sudah tidak direkomendasikan untuk digunakan dalam mendeteksi bakteri penghasil ESBL, hal ini disebabkan karena meningkatnya penyebaran enzim CTX-M ESBL pada spesimen klinis dan telah resisten terhadap seftazidim.^{9,18}

Hasil suatu penelitian yang membandingkan antara metode konvensional modifikasi menggunakan media MacConkey dicampur dengan seftazidim 2 mg/liter dengan metode ChromID™ ESBL menunjukkan bahwa sensitivitas metode ChromID™ ESBL adalah sebesar 97,7%,⁹ berarti hasil sensitivitas metode konvensional modifikasi pada penelitian ini sama baiknya dengan metode ChromID™ ESBL. Sementara spesifisitas yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 98,7%, hasil ini lebih tinggi dari spesifisitas yang didapat pada suatu penelitian yaitu 91%.⁹ Dengan hasil sensitivitas yang sama tinggi dibandingkan dengan spesifisitas, maka media ini dapat digunakan sebagai alat deteksi dini (skrining) dan diagnostik. Sementara sensitivitas dan spesifisitas metode konvensional adalah 68,8% dan 11,2% lebih rendah jika dibandingkan dengan metode konvensional modifikasi.⁹

Hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode ChromID™ ESBL terhadap 200 isolat hanya 164 isolat yang terdeteksi yaitu 46 isolat (28,0%)

merupakan suspek bakteri penghasil ESBL dan 118 isolat (72,56%) bukan penghasil ESBL (Tabel 5). Setelah dikonfirmasi didapatkan bahwa semua isolat suspek penghasil ESBL sebanyak 46 isolat (28,0%) adalah bakteri penghasil ESBL dan 118 isolat (72%) bukan bakteri penghasil ESBL (Tabel 10). Sensitivitas dan spesifisitas metode ini sangat tinggi yaitu 100% sesuai dengan hasil konfirmasi, tetapi terdapat 36 isolat yang tidak teridentifikasi oleh metode ini. Isolat yang tidak teridentifikasi adalah bakteri batang gram negatif yang tidak meragi laktosa yaitu *S. typhi* dan *P. aeruginosa*, semua isolat *S. typhi* (24 isolat) yang diperiksa tidak terdapat satu isolat pun yang merupakan bakteri penghasil ESBL, hasil ini sama dengan hasil konfirmasi, metode konvensional dan konvensional modifikasi (lampiran 3) dan hal ini juga sesuai dengan kepustakaan yang menyatakan bahwa hampir tidak terdapat bakteri penghasil ESBL pada *S. typhi*.¹⁸ Hasil pemeriksaan terhadap 12 isolat *P. aeruginosa* setelah dikonfirmasi didapatkan 2 isolat positif merupakan bakteri penghasil ESBL dan kedua isolat tersebut memberikan hasil positif pada metode konvensional dan konvensional modifikasi. Pada ChromID™ ESBL isolat *P. aeruginosa* tumbuh dengan koloni yang tidak berwarna sehingga sulit untuk dideteksi apakah merupakan bakteri penghasil ESBL atau tidak karena ChromID™ ESBL merupakan media kromogenik yang dirancang untuk mendeteksi bakteri penghasil ESBL melalui warna koloni yang dihasilkan. Walaupun tingginya nilai sensitivitas dan spesifisitas pada metode ini tetapi tidak mampu mendeteksi semua bakteri batang gram negatif yang tidak meragi laktosa dengan sempurna dibandingkan dengan metode konvensional modifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Canadian External Quality Assessment. Guidelines on susceptibility testing of antibiotic-resistant enterobacteriaceae due to extended spectrum beta-lactamases (ESBLs). (diunduh 22 Januari 2009). Tersedia dari <http://www.medscape.com>.
2. Bush, K. Jacoby, GA. Medeiros, AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents Chemotherapy*. 1995; 39:1211-1233.
3. Kim, YK. Pai, H. Lee, HJ. et al. Bloodstream infections by extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome, antimicrobial agents and chemotherapy. *Mai*, 2002:1481-1491.
4. Chaundhary, U. Aggarwal, R. Extended spectrum beta lactamase (ESBL)-an emerging threat to clinical therapeutics. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2004;22:75-80.
5. Patterson, JE. Gram negative infection - a re-emerging crisis: focus on extended-spectrum beta-lactamases, serious hospital infections. 2001;13:4.
6. Setiabudy R. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru; 2007.h.585-598.
7. Glupczynski, Y. Berhin, C. et al. Evaluation of a new selective chromogenic agar medium for detection of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*. Februari. 2007;45;2:501-505.
8. Bush, K. Is it important to identify extended-spectrum beta-lactamase producing isolates? *Europe Journal clinical Microbiology Infection Disease*. 1996;15:361-364.
9. Brooks, GF, Butel, JS, Ornston, LN, Jawetz, E, Melnick, JL, Adelberg, EA. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. edisi ke 24. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc;2007:249-260.
10. Murray, RP, Rosenthal, KS, Kobayashi GS, Pealler MA. *Medical Microbiology*, edisi ke 5, Pennsylvania: Elsevier Mosby; 2005:227-240.
11. Ryan, KJ, Ray, CG, Sherris *Medical Microbiology : An introduction to infectious diseases*. edisi ke 4, USA: McGraw-Hill Companies;2004:343-371.
12. CLSI, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement*. Januari. 2007;26:3 Salmaha, JN. Araj, GF. Recent development in beta-lactamases and extended spectrum beta-

- lactamases. British Medical Journal. 2003;327:1209-1213.
13. Jabeen, K. Comparison of double disc and combined disc method for detection of ESBL. Clinical Microbiology Reviews. 2003;52:534-536.
14. Cormican, MG. Marshall, SA. Jones, RN. Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. Journal of Clinical Microbiology. Agustus. 1996;34:8:1880-1884.
15. Sheldon, A, Antibiotic mechanism of action and resistance. Dalam: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology, edisi ke 3. Missouri: Saunders Elsevier;2006:303-317.
16. Dryden, M. et al. Clinical application of susceptibility testing. Dalam : Standardized disc susceptibility method. England, user day report.
17. Sarosi, GA., Ampel, N., Fungal Infection in HIV-Infected Persons : American Thoracic Society, Journal of Respiratory Critical Medicine, 152, pp 816-822, 1995.