

SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS MEDIA KROMOGENIK SEBAGAI DETEKSI DINI *ESCHERICHIA COLI* DAN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PENGHASIL EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) DARI SPESIMEN URIN PASIEN DI RSUD DR. SOETOMO SURABAYA

Cut Asmaul Husna^{1*}

¹Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Malikussaleh,
Jl. H. Meunasah, Uteunkot, Cunda, Lhokseumawe, Provinsi Aceh, 24351

*Corresponding Author : cutasmaulhusnadr@yahoo.co.id

Abstrak

Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri resisten antibiotik termasuk bakteri penghasil ESBL telah banyak dilaporkan di seluruh dunia. Enzim ESBL paling banyak dihasilkan oleh *Enterobacteriaceae*, terutama *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Medium kromogenik merupakan suatu medium generasi baru sebagai metode kultur secara cepat yang menggabungkan antara deteksi presumtif ESBL dengan identifikasi organisme, yang dapat dijadikan sebagai salah satu skrining. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik sebagai deteksi dini *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL dari spesimen urin. Penelitian merupakan uji validitas diagnostik. Terdapat 343 spesimen urin yang berasal dari ruangan anak, penyakit dalam dan bedah, semua urin diinokulasikan ke medium kromogenik, disamping pemeriksaan rutin dengan *Mac Conkey Agar* (MCA) dan *Blood Agar* (BA). Hasil yang tumbuh pada medium kromogenik diidentifikasi sebanyak 98 sampel berdasarkan warna koloni, 41 sampel menghasilkan koloni berwarna merah dan 28 sampel koloni berwarna hijau, sisanya tumbuh dengan koloni yang tidak berwarna. Terdapat 146 sampel yang tumbuh pada MCA dan BA yang selanjutnya diidentifikasi dengan Phoenix sebagai *gold standard*, 32 sampel *E. coli* dan 18 sampel *K. pneumoniae* dengan ESBL. Hasil ini dibandingkan untuk menilai sensitivitas dan spesifisitas. Analisis data menggunakan Mc Nemar dan uji Kappa, dengan hasil ($P > 0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara medium kromogenik dengan Phoenix dalam identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL. Didapatkan sensitivitas, spesifisitas, PPV masing-masing untuk *E. coli* adalah 96,9%, 80% dan 91,2%; 100% untuk *K. pneumoniae*. Hasil deteksi dan identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL yang dibandingkan dengan Phoenix menunjukkan perbedaan $P > \alpha$ dengan sensitivitas 98%, spesifisitas 85% dan PPV 94,2%. Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa medium kromogenik dapat digunakan sebagai deteksi dini dan identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae* sebagai penghasil ESBL pada spesimen urin. Penggunaan medium kromogenik dalam identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae*

secara langsung pada spesimen urin menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas lebih tinggi pada *K. pneumonia* dibandingkan *E. coli* penghasil ESBL.

Kata Kunci : *E. coli*; *K. pneumonia*; ESBL; Medium kromogenik; Phoenix; sensitivitas dan spesifisitas; spesimen urin

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF A CHROMOGENIC MEDIA AS EARLY DETECTION OF EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) PRODUCING ESCHERICHIA COLI AND KLEBSIELLA PNEUMONIAE FROM URINE SPECIMEN AT DR. SOETOMO HOSPITAL, SURABAYA

Abstract

Nosocomial infection caused by antibiotic resistant bacteria, include ESBL had been reported around the world. *Extended Spectrum β Lactamase* most found in *Enterobacteriaceae*, especially *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Chromogenic medium is a new generation medium as early culture that combine between presumptive detection of ESBL with identification of organism, that can used as screening. The research purpose was to analyze the sensitivity and specificity of chromogenic media as the early detection and identification of ESBL producing *E. coli* and *K. pneumoniae* from urine specimen. The research was the validity of a diagnostic test. There were 343 urine specimen from pediatry, internal medicine and surgery, all urine was inoculated on chromogenic medium, besides routine examination (MCA and BA). The results that grown on chromogenic medium identified 98 samples based on colony color, 41 samples was produced red colony and 28 samples ESBL produces green colony, others produces colorless colony; on MCA and BA 146 samples were subsequently identified with the Phoenix as gold standard, 32 samples *E. coli* and 18 samples ESBL-producing *K.pneumoniae*. The results were compared to count sensitivity and specificity, then the data were analyzed using Mc Nemar and Kappa test, result ($P>0.05$) that there was not found any significant difference between a chromogenic medium with Phoenix on identification ESBL producing *E. coli* and *K. pneumoniae*, there are sensitivity, specificity and PPV respectively for *E. coli* was 96.9%, 80% and 91,2% ;100% for *K. pneumoniae*. The results of the detection and identification of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* were compared with the Phoenix showed a difference in results $P>\alpha$ with sensitivity 98%, specificity 85% and PPV 94,2%. The conclusion of this research was that the chromogenic medium can be used as the early detection and identification of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* in the urine specimen. The use of chromogenic medium in the identification of *E. coli* and *K. pneumoniae* directly on urine specimens showed sensitivity and specificity were higher in *K. pneumoniae* than *E. coli*.

Keyword: *E. coli*; *K. pneumonia*; ESBL; Chromogenic medium; urine specimens; Phoenix; sensitivity and specificity

Pendahuluan

Salah satu penyebab adanya resistensi mikroba terhadap antibiotik adalah enzim *Extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL). Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri penghasil ESBL telah banyak dilaporkan di seluruh dunia. *Extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL) adalah enzim yang dapat menghidrolisis sefalosporin spektrum luas dan monobaktam, termasuk oximino-cephalosporins (contohnya, seftazidim, sefotaksim, dan seftriakson), tetapi tidak terhadap sefamisin dan karbapenem, dan dapat dihambat oleh asam klavulanat (Bradford, 2001). Sejak pertama kali isolat ditemukan hingga sekarang, angka kejadian infeksi oleh bakteri penghasil ESBL semakin meningkat di seluruh dunia. Gen pengkode ESBL pada bakteri paling banyak berada di plasmid yang memudahkan transmisi ESBL ke bakteri lain, sehingga penyebaran resistensi sangat mudah terjadi antar strain bahkan antarspesies (Paterson dan Bonomo, 2005). Enzim ESBL paling banyak dihasilkan oleh *Enterobacteriaceae*, terutama *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Colodner, 2005). Di negara-negara Asia, kejadian ESBL yang diproduksi oleh *E. coli* dan *K. pneumoniae* bervariasi, di Korea 4,8%, Taiwan 8,5% dan Hongkong 12% (Tsang, *et al.*, 2000). Hasil penelitian *Antimicrobial Resistance in Indonesia: prevalence and prevention* (AMRIN) menemukan bahwa kejadian ESBL cukup tinggi yakni 29% pada *E. coli* dan 36% pada *K. pneumoniae* (Kuntaman, *et al.*, 2005). Penelitian *multicenter* dari RSUD Dr. Soetomo (Surabaya), RSUD Dr. Kariadi (Semarang), dan RSUD Dr. Saiful Anwar (Malang) menunjukkan jumlah ESBL positif terbanyak ditemukan pada spesimen urin, dengan jumlah penghasil ESBL terbanyak berasal dari spesies *Klebsiella pneumoniae* (47.3%) dan *E. coli* (42.7%) (Kuntaman, *et al.*, 2011).

Infeksi yang disebabkan oleh ESBL dikaitkan dengan peningkatan jumlah morbiditas, dan biaya pelayanan kesehatan (Roberts *et al.*, 2009; Schwaber, 2007). Infeksi akibat bakteri penghasil ESBL terus menjadi masalah serius karena tingkat mortalitas yang tinggi, dan sulitnya terapi. Kegagalan dalam mendeteksi resistensi yang diperantarai oleh ESBL telah menyebabkan kegagalan terapi dan berkontribusi pada penyebaran organisme penghasil ESBL yang tidak terkontrol. Sebaliknya, deteksi laboratorium pada pasien yang terinfeksi atau terkolonisasi dengan organisme penghasil ESBL melalui surveilans kultur berguna dalam mengontrol dan mengakhiri wabah nosokomial (Glupczynski, *et al.*, 2006). Penggunaan kultur surveilans atau target skrining terhadap penghasil ESBL pada pasien dengan resiko tinggi atau pada unit yang beresiko tinggi seperti *intensive care units* (ICU) telah disarankan untuk mencegah atau mengontrol wabah infeksi nosokomial yang diakibatkan oleh mikroorganisme ini (Lucet, *et al.*, 1999 ; Meyer *et al.*, 2009).

Metode deteksi ESBL secara umum dapat digolongkan ke dalam dua kelompok : metode fenotipik dengan menggunakan teknik non molekular, yang memiliki kemampuan deteksi enzim ESBL dalam menghidrolisis berbagai sefalosporin yang berbeda ; sedangkan metode genotipik menggunakan teknik molekular yang dapat mendeteksi gen yang bertanggungjawab dalam memproduksi ESBL. Pada laboratorium diagnostik klinik yang paling banyak digunakan adalah metode fenotipik karena lebih mudah, biaya lebih murah, serta telah banyak digabungkan dengan sistem uji kepekaan otomatis, sehingga lebih mudah digunakan secara luas (Pitout dan Laupland, 2008).

Medium kromogenik merupakan suatu medium generasi baru sebagai metode kultur secara cepat yang menggabungkan antara deteksi presumtif ESBL dengan

identifikasi organisme. Medium ini menggabungkan substrat kromogenik yang terbentuk sebagai pendeteksi warna pada koloni bakteri dengan cara hidrolisis oleh enzim bakteri yang ditargetkan, sehingga memudahkan dalam membedakan patogen potensial dengan flora lainnya (Gazin., *et al.*, 2012). Selektifitas medium kromogenik dengan adanya campuran antibiotik dan identifikasi presumtif berdasarkan pada warna koloni memungkinkan medium ini untuk digunakan sebagai pemeriksaan skrining yang cepat dan akurat terhadap patogen resisten spesifik pada sampel klinis, terutama untuk skrining karier ESBL yang berperan penting dalam tujuan pengendalian infeksi nosokomial di rumah sakit (Huang, *et al.*, 2010). Penelitian Poupet, *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa media kromogenik merupakan media kultur yang *reliable* dan dapat digunakan sebagai media skrining dan identifikasi presumtif dari *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL secara langsung dari sampel klinis, seperti feses, urin, pus maupun swab tenggorok. Penelitian lain menunjukkan bahwa medium kromogenik memiliki spesifitas yang lebih rendah, sehingga dibutuhkan metode konfirmasi lain dalam penegakan diagnosis (Overdevest, *et al.*, 2010).

Koloni penghasil ESBL memberikan warna yang spesifik berdasarkan spesiesnya (*E. coli* menunjukkan warna pink sampai burgundy; *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, dan *Citrobacter spp.* (KESC) menunjukkan warna hijau sampai kebiruan; sedangkan untuk *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, dan *Morganella spp.* menunjukkan warna orange sampai coklat pada medium kromogenik ESBL. Mikroorganisme Non-ESBL dapat tumbuh tanpa warna atau bahkan tidak dapat tumbuh sama sekali pada medium kromogenik (Farber, *et al.*, 2008).

Medium kromogenik dapat bermanfaat dalam deteksi dini pada kondisi terjadinya wabah, skrining pasien yang akan

dipindahkan ke rumah sakit lain yang secara umum memiliki insiden ESBL yang tinggi, juga untuk memonitor status *carrier* ESBL pada pasien (Farber, *et al.*, 2008). Penggunaan medium kromogenik yang mudah diharapkan dapat menjadi solusi dalam skrining ESBL khususnya pada laboratorium di Rumah Sakit dengan prevalensi kasus yang tinggi.

Metode

Jenis penelitian yang dilakukan adalah uji validitas diagnostik. Sampel penelitian adalah spesimen urin yang terkumpul di laboratorium Mikrobiologi klinis yang diperoleh dari pasien rawat inap pada ruangan dengan resiko tinggi insiden ESBL (ruangan anak, bedah dan penyakit dalam) di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo, Surabaya. Sampel diambil secara tehnik *consecutive sampling*. Sampel yang diambil adalah sampel dengan hasil identifikasi sebagai *E. coli* dan *K. pneumoniae*.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinis Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo, Surabaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei - Juni 2014.

Pengambilan sampel urin dilakukan oleh petugas rumah sakit yang dilakukan rutin setiap hari. Urin dikumpulkan dari setiap ruangan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Urin yang diambil dapat berupa urin *midstream*, urin dari kateter (pada penderita dengan pemasangan kateter), maupun punksi suprapubik (pada kasus-kasus tertentu). Urin yang terkumpul dimasukkan kedalam wadah kemudian dikirim segera ke bagian mikrobiologi klinik untuk dilakukan pemeriksaan. Selanjutnya dipilih urin dari ruangan dengan insiden tinggi ESBL seperti urin dari ruangan anak, penyakit dalam dan bedah.

Sampel urin ditempatkan dalam wadah steril, di vorteks, kemudian diambil dengan menggunakan ose yang dicelupkan ke

wadah urin tersebut. Selanjutnya dilakukan inokulasi pada medium kromogenik, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37 °C. Selanjutnya dilihat hasil koloni yang tumbuh. Perbedaan warna koloni dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL.

Sampel urin yang telah divorteks ditanam pada media *Blood Agar* (BA) dan *Mac Conkey Agar* (MCA), pertumbuhan bakteri pada media tersebut setelah 24 jam kemudian diperiksa dengan mesin otomatis Phoenix yang rutin digunakan di RSUD Dr. Soetomo dalam mendeteksi ESBL. Mesin otomatis Phoenix ini menggunakan sistem yang dikenal sebagai BD Phoenix, untuk mendeteksi bakteri penghasil ESBL. Dilakukan pengujian strain, identifikasi dan uji kepekaan terhadap antimikroba, dengan NMIC/ID-50 dan NMIC/ID-70 BD Phoenix GN Combo panels. Dalam mendeteksi ESBL, terdapat perbedaan profil sefalosporin dan kisaran MICs, karena dengan adanya perbedaan ini, diversitas perangkat dari sistem BDxpert diaplikasikan. Panel diinokulasikan dan diinkubasi berdasarkan petunjuk penggunaan. Hasilnya kemudian dianalisis berintegrasi dengan sistem BDxpert.

Hasil spesies *E. coli* dan *K. pneumoniae* yang diidentifikasi pada Phoenix kemudian dihitung totalnya dan jumlah penghasil ESBL. Hasil tersebut selanjutnya dibandingkan dengan warna koloni yang dihasilkan spesies tersebut pada medium kromogenik (ChromID). Selanjutnya dihitung sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik dalam identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL.

Hasil Penelitian

Dari total 343 spesimen urin, yang tumbuh pada medium MCA dan BA untuk selanjutnya diperiksa dengan Phoenix adalah 146 sampel, sedangkan yang tumbuh

pada medium kromogenik dari total sampel adalah 98 sampel, dengan 69 sampel diantaranya menghasilkan koloni merah dan hijau.

Tabel 5.1. Distribusi data sampel berdasarkan asal ruangan

Asal sampel	Anak	Penyakit Dalam	Bedah	Total
Spesimen urin	118	117	108	343
<i>E. coli</i> Phoenix	11	24	12	47
<i>E. coli</i> ESBL	5	19	8	32
<i>K. pn</i> Phoenix	11	8	4	23
<i>K. pn</i> ESBL	8	6	4	18
Phoenix ESBL	13	25	12	50
ChromIDESBL	20	33	16	69
<i>E. coli</i> (merah)	7	24	10	41
KESC (hijau)	13	9	6	28

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa dari total sampel yang diidentifikasi sebagai *E. coli* dan *K. pneumoniae* dengan Phoenix sebanyak 70 sampel (47 *E. coli* dan 23 *K. pneumoniae*), didapatkan 50 sampel diantaranya adalah penghasil ESBL.

Tabel 5.2. Identifikasi *E. coli* penghasil ESBL pada medium kromogenik dibandingkan dengan Phoenix

		Identifikasi Phoenix	
		<i>E. coli</i>	Positif ESBL
Warna koloni	Merah	34	31
medium kromogenik	<i>Colorless</i>	4	0
	Non ESBL	9	1
Total		47	32

Dari tabel 5.2 dapat diketahui bahwa dari 47 sampel *E. coli*, hanya 34 diantaranya yang berwarna merah dengan medium kromogenik, dan 31 diantaranya terdeteksi sebagai penghasil ESBL. Didapatkan 4

sampel *E. coli* yang tumbuh tidak berwarna pada medium kromogenik, tetapi non ESBL.

Penilaian sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik terhadap Phoenix, dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik pada *E. coli* terhadap Phoenix

		Phoenix		Total
		Positif	Negatif	
Medium kromogenik	Positif	31	3	34
	Negatif	1	12	13
Total		32	15	47

Dari tabel 5.3 dapat dinilai sensitivitas, spesifisitas, *Positive predictive value* (PPV) dan *Negative predictive value* (NPV) medium kromogenik (ChromID) dalam identifikasi *E. coli* yaitu masing-masing adalah 96,9%, 80%, 91,2%, dan 92,3 %. Hasil uji Mc Nemar dan Kappa menunjukkan $P > 0,05$, sehingga terdapat kesesuaian atau tidak ada perbedaan hasil identifikasi antara medium kromogenik dengan Phoenix dalam identifikasi *E. coli* penghasil ESBL.

Tabel 5.4. Identifikasi *K. pneumoniae* penghasil ESBL pada medium kromogenik dibandingkan dengan Phoenix

		Identifikasi Phoenix	
		<i>K. pn</i>	Positif ESBL
Warna koloni ChromID	Hijau	18	18
	Non ESBL	5	0
Total		23	18

Dari tabel 5.4 dapat diketahui bahwa dari 23 sampel yang diidentifikasi sebagai *K. pneumoniae* penghasil ESBL, 18 sampel diantaranya positif ESBL dan menghasilkan koloni berwarna hijau dengan medium kromogenik.

Tabel 5.5. Sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik pada *K. pneumoniae* penghasil ESBL terhadap Phoenix

		Phoenix		Total
		Positif	Negatif	
Medium kromogenik ESBL <i>K. pn</i>	Positif	18	0	18
	Negatif	0	5	5
Total		18	5	23

Dari tabel 5.5 dapat diperoleh nilai sensitivitas, spesifisitas, PPV dan NPV medium kromogenik dalam identifikasi *K. pneumoniae* penghasil ESBL yaitu sebesar 100%.

Hasil uji Mc Nemar dan Kappa menunjukkan $P=1$ atau $P>0,05$ sehingga terdapat kesesuaian atau tidak ada perbedaan hasil identifikasi antara medium kromogenik dengan Phoenix dalam identifikasi *K. pneumoniae* penghasil ESBL.

Tabel 5.6. Hasil Identifikasi *E. coli* Dan *K. pneumoniae* Penghasil ESBL antara Medium Kromogenik dengan Phoenix

		Phoenix		Total
		Pos	Neg	
ChromID	Pos	49	3	52
ESBL	Neg	1	17	18
Total		50	20	70

Berdasarkan tabel 5.6 di atas, dapat dihitung nilai sensitivitas, spesifisitas, PPV dan NPV medium kromogenik dalam identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL masing-masing adalah 98%, 85%, 94,2 % dan 94,4%. Dilakukan perhitungan dengan menggunakan Mc Nemar dan Kappa, didapatkan hasil $P>0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat kesesuaian hasil atau tidak terdapat perbedaan hasil identifikasi *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL antara medium kromogenik dengan Phoenix.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa hasil pengumpulan sampel didapatkan total 344 sampel, 69 sampel terdeteksi sebagai penghasil ESBL pada medium kromogenik, 41 sampel diidentifikasi sebagai *E. coli* dengan koloni berwarna merah (41,8 %) dan 28 sampel diidentifikasi sebagai *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC) dengan koloni berwarna hijau (28,6 %), sedangkan 29 sampel lainnya diidentifikasi sebagai non fermenter dengan koloni tidak berwarna sampai kecoklatan. Hasil tersebut sesuai dengan yang dilakukan Wasito, 2013 yang menunjukkan angka kejadian ESBL pada spesimen urin di RSUD dr. Soetomo periode januari sampai oktober 2013 untuk *E. coli* adalah sebesar 42 % dan *K. pneumoniae* sebesar 33 %. Sedangkan penelitian sebelumnya oleh Kuntaman, *et al.*, tahun 2005 menunjukkan hasil proporsi ESBL pada spesimen klinis RSUD dr. Soetomo adalah sebesar 34.84 % untuk *Escherichia coli*, dan 35.35 % untuk *Klebsiella pneumoniae*. Sedangkan hasil penelitian *Antimicrobial Resistance prevalence and prevention* (AMRIN) menemukan bahwa kejadian ESBL cukup tinggi yakni 36% pada *K. pneumoniae* dan 29% pada *E. coli* (Irawan, *et al.*, 2012). Berdasarkan data tersebut diatas dapat dilihat adanya pergeseran spesies penghasil ESBL, pada penelitian tahun 2005, proporsi bakteri penghasil ESBL utama di RSUD dr. Soetomo adalah *Klebsiella pneumoniae*, sedangkan pada tahun 2013, persentase yang lebih tinggi ditunjukkan oleh *Escherichia coli*. Hasil *E. coli* sebagai penghasil ESBL terbanyak pada isolat klinis juga sesuai dengan penelitian Patterson, 2006 yang menyebutkan bahwa *E. coli* adalah penghasil ESBL yang paling dominan yang ditemukan di banyak negara di seluruh dunia.

Berdasarkan hasil pada Phoenix didapatkan total 47 sampel yang diidentifikasi sebagai *E. coli* dengan 32 sampel diantaranya adalah positif ESBL, sedangkan yang diidentifikasi positif berwarna merah pada medium kromogenik adalah 34 sampel, 4 sampel koloni *E. coli* tidak berwarna, dan terdapat 9 sampel *E. coli* tidak tumbuh pada medium kromogenik atau non ESBL, tetapi 1 sampel positif ESBL dengan Phoenix. Hal tersebut kemungkinan bisa disebabkan oleh adanya kesalahan dalam melakukan inokulasi pada medium kromogenik. Pada penelitian didapatkan 4 sampel *E. coli* yang tumbuh dengan tidak berwarna pada medium kromogenik. Hasil yang sama juga ditemukan pada penelitian Reglier, *et al.*, 2008 adanya koloni *E. coli* yang tidak berwarna setelah inkubasi 24 jam, hal tersebut dapat disebabkan oleh adanya defisiensi dari ekspresi enzim β glukuronidase pada isolat tersebut. Untuk dapat membedakan koloni *E. coli* yang tidak berwarna dengan bakteri nonfermenter lainnya dapat dilakukan tes oksidase untuk meningkatkan sensitivitas terhadap medium kromogenik (Gazin, *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini didapatkan sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik dalam deteksi dini *E. coli* penghasil ESBL masing-masing adalah 96,9 % dan 80%, sedangkan PPV dan NPV masing-masing adalah 91,2% dan 92,3%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sensitivitas lebih tinggi dibandingkan spesifisitas medium kromogenik dalam deteksi *E. coli*, hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian dari Farber, *et al.*, 2008 dengan sensitivitas ChromID pada *E. coli* adalah 94,2% dan spesifisitas 42,9%, sedangkan PPV dan NPV masing-masing adalah 94,2% dan 42,9%.

Kesulitan utama dalam menggunakan medium skrining adalah dalam membedakan penghasil ESBL dengan isolat resisten lainnya yang berhubungan dengan mekanisme resistensi yang lain, terutama

penghasil AmpC yang diperantarai oleh plasmid atau secara kromosomal. *Enterobacter spp.* dinilai yang paling sering menyebabkan *false positives*, termasuk pada ChromID (Reglier, *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil *Phoenix* diidentifikasi 23 sampel sebagai *K. pneumoniae*, 18 diantaranya adalah positif ESBL. Tingginya angka positif ESBL dari spesies *K. pneumoniae* diatas berkaitan dengan tingginya angka infeksi nosokomial akibat *Klebsiella* dihubungkan dengan semakin banyaknya penggunaan antibiotik. Penggunaan terapi antimikroba secara luas bertanggungjawab terhadap berkembangnya strain *Klebsiella* resisten di rumah sakit, salah satunya adalah strain penghasil ESBL yang insidennya terus meningkat. Selain itu, emergensi dari berkembangnya strain *Klebsiella* resisten diikuti dengan adanya stabilitas yang relatif tinggi pada plasmid pengkode ESBLs (Podschn and Ullmann, 1998).

Hasil penelitian didapatkan nilai sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik dalam mendeteksi *K. pneumoniae* penghasil ESBL adalah 100%, dengan PPV dan NPV sebesar 100%. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Farber, *et al.*, tahun 2008 yang membandingkan beberapa metode dalam deteksi ESBL (medium kromogenik, vitek dan phoenix) yaitu didapatkan hasil NPV, PPV, sensitivitas dan spesifisitas 100% untuk medium kromogenik dan sistem otomatis.

Farber, *et al.*, 2008 menyebutkan bahwa skrining isolat *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL selain *E. coli* dan *Klebsiella spp.* tidak direkomendasikan oleh CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Masalah dalam deteksi penghasil ESBL terjadi khususnya pada *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, dan *Citrobacter spp.* spesies ini dapat menghasilkan β -laktamase yang dapat dikode oleh AmpC yang menyebabkan terjadinya tumpang tindih fenotipe dari

resistensi yang berbeda.

Hasil penelitian untuk sensitivitas dan spesifisitas medium kromogenik dalam deteksi dini *E. coli* dan *K. pneumoniae* penghasil ESBL yang dibandingkan dengan *Phoenix*, didapatkan sensitivitas sebesar 98% dan spesifisitas 85%, sedangkan PPV dan NPV masing-masing sebesar 94,2% dan 94,4%. Hasil yang didapatkan pada penelitian Farber, *et al.*, tahun 2008 menyebutkan bahwa hasil sensitivitas terhadap ChromID tinggi yaitu sebesar 95,6% sedangkan spesifisitasnya yaitu 23,4%, PPV dan NPV masing-masing adalah 92,6% dan 30,0%. Hasil penelitian Overdest, *et al.*, tahun 2011 menunjukkan sensitivitas ChromID sebesar 97,3 % dengan spesifisitas 93,9%.

Dilakukan pengulangan *Phoenix* untuk 4 sampel dengan hasil identifikasi phoenix yang berbeda dengan warna koloni ESBL. sebanyak 2 sampel dengan koloni yang tidak berwarna pada medium kromogenik awalnya diidentifikasi *Phoenix* sebagai *E. coli*, hasil konfirmasi dengan DDST positif, sedangkan hasil pada *Phoenix* ulangan untuk kedua sampel tersebut menunjukkan hasil sebagai *Acinetobacter, spp.* Hal tersebut sesuai dengan penjelasan bahwa enzim ESBL selain ditemukan secara luas pada kelompok *Enterobacteriaceae*, juga ditemukan pada bakteri nonfermenter lainnya seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Capnocytophaga ochracea* yang memiliki kemampuan yang sama dalam menghidrolisis golongan sefalosporin spektrum luas dan monobaktam, serta dapat dihambat oleh asam klavulanat (Rupp and Fey, 2003).

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan bahwa penggunaan medium kromogenik dapat digunakan dalam deteksi dini dan identifikasi *E. coli* penghasil ESBL pada spesimen urin yang memiliki sensitivitas yang tinggi yaitu 96,9% dan

spesifisitas 80%, sedangkan PPV dan NPV masing-masing adalah 91,2% dan 92,3%. Penggunaan medium kromogenik dapat digunakan dalam deteksi dini dan identifikasi *K. pneumoniae* penghasil ESBL pada spesimen urin dengan sensitivitas, spesifisitas, PPV dan NPV yang lebih tinggi yaitu sebesar 100 %.

Metode deteksi dini secara cepat dengan menggunakan medium kromogenik untuk mendeteksi *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL khususnya *E. coli* dan *K. pneumoniae* dapat dilakukan pada pelayanan klinis, terutama pada kondisi terjadinya wabah, skrining pasien yang akan dipindahkan ke rumah sakit lain yang secara umum memiliki insiden ESBL yang tinggi, juga untuk memonitor status *carrier* ESBL pada pasien. Penggunaan medium kromogenik sebagai medium skrining yang mudah dan cepat serta biaya yang lebih terjangkau diharapkan dapat menjadi solusi dalam deteksi dini dan identifikasi penghasil ESBL terutama di Rumah Sakit dengan fasilitas laboratorium yang belum memiliki metode otomatis seperti Phoenix.

Daftar Pustaka

1. Bradford PA, 2001. Extended-spectrum-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001;14:933-951.
2. Colodner R, Raz R. 2005. Extended-Spectrum Beta-Lactamases : The End of Cephalosporins? *IMAJ* 2005 :7:336.
3. Coque, TM, Baquero F and Cantoni R. 2008. Increasing prevalence of ESBL producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Eurosurveillance* 2008;13(47):1-7.
4. Farber J, KA Moder, F Layer, I Tammer, W Konig and B. Konig. 2008. Extended-Spectrum Beta-Lactamase Detection with Different Panels for Automated Susceptibility Testing and with a Chromogenic Medium. *Journal Of Clinical Microbiology, American Society for Microbiology* 2008 :46:(11):3721-3727.
5. Gazin Muriel, Fabienne Paasch, Herman Goossens, and Surbhi Malhotra-Kumar. 2012. Current Trends in Culture-Based and Molecular Detection of Extended-Spectrum- β Lactamase-Harboring and Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiology* 2012;50 :(4):1140-1142.
6. Glupczynski Youri, Catherine Berhin, Caroline Bauraing, Pierre Bogaerts. 2006. Evaluation of a New Selective Chromogenic Agar Medium for Detection of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Journal Of Clinical Microbiology* 2006;45:(2):501-504.
7. Huang Te-Din, Pierre Bogaerts, Catherine Berhin, Amelie Guisset,Youri Glupczynski. 2010. Evaluation of Brilliance ESBL Agar, a Novel Chromogenic Medium for Detection of Extended-Spectrum-Beta- Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Journal Of Clinical Microbiology* 2010;48 (6):2091-2096.
8. Irawan Danny, Hamidah, Purwati, Triyono EA, Bramantono, Arfianto V, Hadi U, Nasronudin, Suharto, Soewandojo E. 2012. Profil Penderita Sepsis Akibat Bakteri Penghasil ESBL. *J Peny Dalam* 2012;13(1):63.
9. Kluytmans-Vandenberg, MFQ, JAJW Kluytmans and A Vos. 2005. Dutch guideline for preventing nosocomial transmission of highly resistant microorganisms (HRMO) *Infection* 2005;33:309-313.
10. Kuntaman, Mertaniasih NM, Purwanta M. Dalam: Usman Hadi, Nasronudin. 2005. Bakteri penghasil ESBL dari spesimen klinik di RSUD dr Soetomo Surabaya. Simposium penyakit infeksi dan problema resistensi antimikroba. Surabaya: FK Unair, hlm 1-9.

11. Kuntaman, Sanarto S, Hendro W, Ni Made M. 2011. The Sensitivity Pattern of Extended Spectrum Beta Lactamase-Producing Bacteria Against Six Antibiotics that Routinely Used in Clinical Setting. *Journal of the Indonesian Medical Association (Majalah Kedokteran Indonesia)* 2011:61(12) :482-486.
12. Lucet JC, D Decre, A Fichelle, ML Joly-Guillou, M Pernet, C Deblangy, MJ Kosmann and B Regnier. 1999. Control of a prolonged outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a university hospital. *Clin. Infect. Dis.* 1999; 29 :1411-1418.
13. Mark E. Rupp and Paul D Fey, 2003. Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae Considerations for Diagnosis, Prevention and Drug Treatment. *Drugs*, 63(4):354.
14. Meyer E, A Serr, C Schneider, S Utzolino, WV Kern, R Scholz and M. Dettenkofer, 2009. Should we screen patients for extended-spectrum betalactamase-producing Enterobacteriaceae in intensive care units? *Infect. Control Hosp. Epidemiology* 2009; 30:103-105.
15. Overdest ITMA, Willemsen, S Elberts, C Verhulst and JAJW Kluytmans. 2011. Laboratory Detection of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Evaluation of Two Screening Agar Plates and Two Confirmation Techniques. *Journal Of Clinical Microbiology* 2011; 49(2):519-522.
16. Paterson DL and Bonomo RA, 2005. Extended-spectrum b-Lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Review* 2005;18:658-672.
17. Perry JD and AM Freydie're. 2007. The application of chromogenic media in clinical. *Journal of Applied Microbiology Review* 2007;103:2046-2055.
18. Pitout Johann D and Kevin B Laupland. 2008. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Diseases* 2008; 8:159-161.
19. Pfaller Michael A and John Segreti. 2006. Overview of the Epidemiological Profile and Laboratory Detection of Extended-Spectrum beta-Lactamases. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:154-159.
20. Poupet Helene Reglier, Thierry Naas, Amelie C, Anne C, Jean-Marie A, Nicolas F, Claire P and Patrice N. 2008. Performance of chromID ESBL, a chromogenic medium for detection of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta lactamases. *Journal of Medical Microbiology* 2008;57:310-315.
21. Podschun R and U Ullmann. 1998. *Clinical Microbiology Reviews*, Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *American Society for Microbiology* 1998;11:(4) :589-603.
22. Reddy P, M Malczynski, A Obias, S Reiner, N Jin, J Huang, GA Noskin and T Zembower. 2007. Screening for extended-spectrum betalactamase-producing Enterobacteriaceae among high-risk patients and rates of subsequent bacteremia. *Clin. Infect. Diseases* 2007;45:846-852.
23. Schwaber MJ and Y Carmeli. 2007. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systemic review and meta-analysis. *J. Antimicrob. Chemother* 2007; 60:913-920.
24. Tsang DNC, Que TL, Ho M, Yuen KY. 2000. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum β -Lactamases and their prevalens among

- Escherichia coli and Klebsiella species in Hongkong. APMIS 2000 :108:237-40.
25. Wasito EB. 2013. Laporan Prevalensi ESBL Januari-Oktober 2013 di RSUD dr. Soetomo, Surabaya.
26. Wiegand Irith, Heinrich KG , Dietrich Mack, Enno Stu`renburg and Harald S. 2007. Detection of Extended-Spectrum Beta-Lactamases among Enterobacteriaceae by Use of Semiautomated Microbiology Systems and Manual Detection Procedures. Journal Of Clinical Microbiology 2007 :45(4):1167-1174.
27. Wong A and Beringer. 2001. Theurapetic Challenges Associated with Extended Spectrum Beta Laktamase Producing E. coli and K. pneumoniae. J pharmacotherapy 2001 :21(5):583-59.