

FORUM DIAGNOSTICUM

PRODIA DIAGNOSTICS EDUCATIONAL SERVICES

ISSN 0854-7173 | No. 4/2022



POTENSI PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI SEBAGAI PENCEGAHAN ANCAMAN RESISTENSI CARBAPENEM

Amadea Risanggita Kinanthi



PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik terjadi ketika suatu patogen penyebab penyakit mampu bertahan setelah terpapar obat tertentu yang pada keadaan normal, obat tersebut seharusnya mampu membunuh ataupun menghambat aktivitas patogen yang ditarget. Hal ini merupakan fenomena yang menjadi permasalahan besar bagi dunia kesehatan, sebab terjadinya resistensi antibiotik berpotensi membuat patogen-patogen yang telah resisten tersebut menjadi berlipat ganda jumlahnya dan semakin sulit untuk ditangani. Bahkan, World Health Organisation (WHO) memprediksi apabila resistensi antibiotik terus meningkat, maka infeksi akibat patogen-patogen yang mengalami resistensi tersebut akan menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia,

mengalahkan penyakit kanker, diabetes, serta penyakit-penyakit kardiovaskular. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) memperkirakan bahwa setiap tahun terdapat sekitar 25.000 kematian yang terkait dengan resistensi antibiotik. Di samping itu, resistensi antibiotik juga memberikan dampak ekonomi secara global dengan perkiraan biaya yang dikeluarkan secara global berkisar lebih dari 105 milyar dolar per tahun (1,2).

Pandemi COVID-19 ikut andil dalam memperburuk “pandemi” resistensi antibiotik yang sudah terjadi lebih dahulu. Kondisi pandemi COVID-19 menjadi salah satu penyebab meningkatnya terapi antibiotik yang kurang tepat untuk menangani infeksi saluran pernapasan. Pada umumnya, terapi antibiotik digunakan sebagai profilaksis yang berfungsi

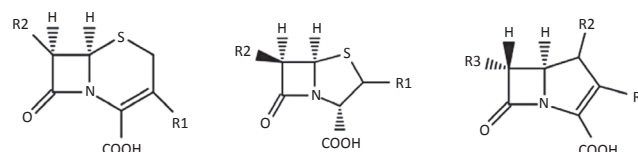
untuk mencegah terjadinya koinfeksi pada pasien yang harus melalui perawatan di rumah sakit. Dalam konteks pandemi COVID-19, keputusan tersebut didasarkan pada berbagai laporan mengenai koinfeksi bakteri pada pasien-pasien COVID-19, serta berdasarkan pengalaman kejadian koinfeksi bakteri pada pandemi yang pernah terjadi sebelumnya, yakni influenza. Di sisi lain, penggunaan antibiotik yang kurang tepat di masa pandemi COVID-19 juga diakibatkan oleh fenomena pengobatan mandiri (*self-medication*) yang dipicu pemberitaan di media serta permintaan akan pengobatan potensial seperti hydroxychloroquine (3).

Seperti halnya pada jenis infeksi lain, antibiotik pertama yang paling sering digunakan pada pasien COVID-19 dipilih secara empiris, yaitu menggunakan antibiotik spektrum luas. Carbapenem merupakan salah satu jenis antibiotik dengan aktivitas antibakteri berspektrum luas yang banyak dimanfaatkan pada kasus-kasus infeksi nosokomial. Antibiotik ini memiliki struktur unik yang membuatnya mampu memberi perlindungan terhadap sebagian besar enzim β -lactamase, seperti *metallo- β -lactamase* (MBL) hingga *Extended Spectrum- β -Lactamase* (ESBL). Maka dari itu, carbapenem dianggap sebagai salah satu obat yang paling dapat diandalkan untuk mengatasi infeksi bakteri. Namun, seiring dengan meningkatnya penggunaan carbapenem, mulai muncul kasus-kasus resistensi terhadap antibiotik golongan ini yang tentu kemudian menjadi permasalahan besar. Di Indonesia sendiri, terjadi peningkatan presentase resistensi antibiotik pada beberapa jenis bakteri seperti *E. coli* dan *K. pneumonia*, dengan carbapenem sebagai salah satu jenis antibiotik yang presentase resistensinya turut meningkat (2,4).

ANTIBIOTIK GOLONGAN CARBAPENEM

Antibiotik menjadi suatu obat yang memiliki peran penting dalam dunia kesehatan. Sejak pertama kali ditemukan, laju morbiditas dan mortalitas infeksi-infeksi yang mengancam

nyawa mulai menurun, dan antibiotik kemudian menjadi landasan bagi terapi penyakit infeksius. Pada awalnya, penicillin sebagai antibiotik β -lactam pertama yang ditemukan sangat diunggulkan untuk mengatasi infeksi bakteri karena aktivitas antibakterinya yang luas. Namun, pada akhir tahun 1960-an, mulai muncul suatu enzim yang dihasilkan oleh bakteri bernama enzim β -lactamase yang membuat antibiotik β -lactam, khususnya penicillin, menjadi tidak lagi efektif. Hal ini lah yang kemudian mendorong pencarian dan penemuan antibiotik lain untuk mempertahankan pemanfaatan antibiotik β -lactam. Untuk mengatasi ancaman terhadap antibiotik β -lactam, maka dilakukanlah penelitian dan pengembangan mengenai β -lactamase inhibitor dan antibiotik lain yang tetap stabil terhadap aktivitas enzim β -lactamase. Dari ditemukan carbapenem, yang didefinisikan sebagai suatu kelas semi sintetis dari antibiotik β -lactam yang strukturnya mirip dengan penicillin. Carbapenem memiliki konfigurasi trans hidroksietil pada C-6 yang menjadi kunci antibiotik ini memiliki stabilitas lebih tinggi dalam menahan hidrolisis enzim β -lactamase dibandingkan dengan konfigurasi cis yang dimiliki oleh penicillin dan cephalosporin (gambar 1), sehingga aktivitas antibiotik tetap bekerja (5).



Gambar 1. Struktur kimia inti cephalosporin, penicillin, dan carbapenem secara berurutan dari kiri ke kanan (5).

Antibiotik carbapenem menunjukkan aktivitas bakterisidal melalui penetrasi ke dalam dinding sel bakteri dan berikatan dengan *penicillin-binding protein* (PBP), antibiotik dengan berat molekul tinggi yang meliputi PBP 1a, 1b, 2, dan 3. Efek mematikan yang dihasilkan dari mekanisme tersebut adalah inaktivasi penghambat enzim autolitik di dalam dinding sel yang mengarah pada pembunuhan bakteri. Ketika suatu molekul β -lactam berikatan dengan PBP, maka bakteri menjadi tidak dapat menyelesaikan reaksi transpeptidasi



ataupun peptidasi lainnya pada lapisan peptidoglikan, sehingga pembentukan dinding sel menjadi terhambat (2,5). Carbapenem memiliki aktivitas antibiotik yang lebih luas dibandingkan dengan Penicillin, Cephalosporin, ataupun kombinasi β -lactam/ β -lactamase inhibitor lainnya. Terdapat beberapa jenis antibiotik carbapenem yang masing-masing memiliki potensi berbeda untuk melawan variasi bakteri-bakteri gram negatif maupun gram positif. Sebagai contoh, antibiotik imipenem dan doripenem memiliki efek yang ampuh terhadap bakteri gram positif, sementara ertapenem, meropenem, dan doripenem ampuh untuk digunakan melawan bakteri gram negatif. Afinitas tiap antibiotik carbapenem terhadap PBP bakteri gram negatif adalah salah satu pembeda tiap jenis antibiotik yang berkaitan dengan aktivitas antibakterinya. Imipenem memiliki afinitas pengikatan terkuat pada PBP-2, diikuti oleh PBP-1a, PBP-1b, dan PBP-3. Di sisi lain ertapenem dan meropenem menunjukkan afinitas pengikatan terkuat pada PBP-2, PBP-3, diikuti PBP-1a, dan PBP-1b. Doripenem berikatan dengan PBP-1, PBP-2, dan PBP-4 pada *Streptococcus aureus*, PBP-3 pada *Pseudomonas aeruginosa*, dan PBP-2 pada *Eschericia coli* (5).

BERKEMBANGNYA RESISTENSI TERHADAP CARBAPENEM

Terdapat beberapa jenis bakteri Enterobacteriaceae yang telah mengembangkan kekebalan terhadap carbapenem, atau dapat disebut dengan *Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae* (CRE). Dalam dunia kesehatan, infeksi bakteri Enterobacteriaceae telah menjadi ancaman akibat kemampuan mereka dalam memproduksi enzim *extended-spectrum- β -lactamase* (ESBL) yang membuatnya menjadi resisten terhadap antibiotik. Pada awalnya, bakteri gram negatif memproduksi enzim penghidrolisis β -lactam untuk melawan aktivitas dari penicillin, namun seiring dengan diperkenalkannya berbagai jenis antibiotik, maka spektrum enzim tersebut menjadi semakin luas. Hal itulah yang

memicu munculnya enzim ESBL, cephalosporinase, dan carbapenemase. CRE yang memproduksi carbapenemase kemudian disebut sebagai *Carbapenemase-producing CRE* (CP-CRE) (1).

Resistensi terhadap antibiotik golongan carbapenem dapat bersifat intrinsik ataupun didapat. Resistensi intrinsik yaitu pada dasarnya semua bakteri, baik komensal maupun patogen, secara alami akan kebal terhadap agen antibiotik tertentu. Kejadian inilah yang kemudian membatasi dan mempersulit pemilihan antibiotik untuk terapi. Bahkan, resistensi intrinsik dapat meningkatkan risiko berkembangnya resistensi didapat. Sementara itu, resistensi didapat terjadi akibat faktor eksternal, misalnya terpapar suatu agen antibiotik dalam jangka panjang yang membuat organisme mengembangkan mekanisme resistensi tertentu seperti inaktivasi enzimatis, mutasi, dan *efflux pump*. Pada bakteri gram negatif, terdapat 3 mekanisme utama yang terkait dengan munculnya kejadian resistensi antibiotik carbapenem.

- Mekanisme pertama adalah produksi enzim β -lactamase, dalam hal ini carbapenemase, yang dapat menghentikan aktivitas obat sebelum obat tersebut memberikan efek terapeutik. Bakteri gram negatif dapat menampung lebih dari satu gen penyandi enzim carbapenemase dan memiliki kemampuan untuk mengekspresikan beberapa jenis enzim carbapenemase sekaligus. Hal ini tentu akan merepotkan, sebab satu jenis antibiotik carbapenem saja tidak akan cukup untuk memberikan perlindungan bagi pasien yang terinfeksi oleh bakteri gram negatif tersebut.
- Mekanisme yang kedua yakni ekspresi berlebihan *efflux pump* yang sangat efektif dalam menghilangkan antibiotik dari lingkungan seluler.
- Mekanisme yang ketiga adalah mekanisme resistensi yang dimediasi oleh porin dan menyebabkan reduksi permeabilitas membran luar bakteri sehingga mencegah antibiotik mencapai targetnya. Mekanisme ini menjadi salah satu mekanisme utama penyebab resistensi pada *P. aeruginosa* (2,6).

CP-CRE dapat memproduksi berbagai variasi enzim carbapenemase yang dapat dikelompokkan menjadi kelas A, kelas B, dan kelas D-B-lactamase. Pada kelas A, terdapat *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) yang memiliki prevalensi dan penyebaran terbesar secara global. Mulanya KPC ditemukan pada isolat *Klebsiella pneumoniae*, namun saat ini telah diidentifikasi juga bakteri lain yang memproduksi KPC, antara lain *Eschericia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabillis* dan *Serratia marcescens*. Carbapenemase lain yang memiliki relevansi klinis dan masih termasuk pada golongan A adalah Metallo-B-lactamase (MBL). Biasanya, resistensi akibat MBL berasosiasi dengan kejadian *multi-drug resistant*, sebab sering terjadi ko-ekspresi ESBL juga pada isolat yang memproduksi MBL. Enzim ini pada mulanya dihasilkan oleh *P. aeruginosa* dan kemudian ditularkan pada bakteri-bakteri Enterobacteriaceae. Saat ini, penghasil MBL didominasi oleh *K. pneumoniae* dan *E. coli*. Dari carbapenemase kelompok D, terdapat juga jenis carbapenemase yang memiliki relevansi klinis, yakni OXA-48. Enzim yang dimediasi oleh plasmid tersebut utamanya ditemukan pada isolat *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. freundii*, dan *E. cloaca*. Terdapat suatu hal yang membuat carbapenemase jenis ini memerlukan perhatian khusus, yakni saat ini belum ada inhibitor yang bisa menghambat aktivitas enzim tersebut. Di sisi lain, carbapenemase ini memiliki kemampuan luar biasa untuk bermutasi dan memperluas spektrum aktivitasnya (1).

Sejak pertama kali terdeteksi, bakteri-bakteri CRE telah menyebar ke seluruh dunia. Studi epidemiologi memperlihatkan bahwa tiap area memiliki dominansi jenis carbapenemase yang berbeda. Sebagai contoh, New Delhi *Metallo-B-lactamase* (NDM-1) mendominasi wilayah India, Pakistan, dan Sri Lanka, sementara Enterobacteriaceae yang memproduksi KPC endemik di wilayah Amerika, Kolombia, Argentina. Penyebaran bakteri-bakteri CRE tersebut di seluruh dunia turut menyebabkan angka resistensi terhadap carbapenem kian meningkat juga. Pasien yang mengalami

kolonisasi ataupun infeksi CRE merupakan reservoir bagi CRE, dan bakteri-bakteri CRE pada pasien tersebut dapat ditransmisikan pada pasien lain, keluarga, maupun orang-orang di sekitarnya (1). Beban penyakit akibat terjadinya resistensi carbapenem yang disebabkan oleh patogen secara umum dapat dikatakan sama di hampir seluruh region (Asia pacific, India, Eropa, Amerika Utara, dan Amerika latin). Sebuah studi di Amerika berdasarkan database Premiere Healthcare menunjukkan bahwa 44.8% isolat *Acinetobacter baumannii* dan 14.2% isolat *P. aeruginosa* resisten terhadap carbapenem. 83.2% dari resistensi carbapenem yang terjadi disebabkan oleh bakteri *A. baumannii*, dan hanya sekitar 17.7% yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* dan *E. coli*. (7) Angka resistensi berdasarkan jenis patogen berbedabeda tergantung dari lokasi terjadinya infeksi. Sebagai contoh, angka resistensi carbapenem akibat *P. aeruginosa* dan *A. baumannii* lebih rendah pada kejadian infeksi aliran darah dibandingkan dengan infeksi paru-paru. Penemuan ini menimbulkan implikasi, yakni studi epidemiologi yang selama ini hanya melacak isolat dari infeksi aliran darah kemungkinan dapat mengalami pelaporan resistensi carbapenem yang kurang tepat (7).

Di Indonesia, data nasional mengenai resistensi antimikroba mengacu pada *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System* (GLASS). Saat ini data dari Indonesia masih terbatas pada 20 rumah sakit terpilih dan data yang dilaporkan dimulai dari tahun 2019. Berdasarkan data tersebut, diperoleh informasi bahwa di Indonesia terjadi kenaikan presentase terkait resistensi antibiotik pada beberapa bakteri seperti *E. coli* dan *K. pneumoniae* terhadap beberapa antibiotik, yaitu Carbapenem, Fluoroquinolone, dan generasi ketiga Cephalosporin. Sebelumnya berdasarkan studi oleh Kuntaman et al. (2018), pada tahun 2015-2018, dari 1082 isolat bakteri yang didapat di rumah sakit, 10.7% di antaranya resisten terhadap Carbapenem. Angka tersebut menggambarkan tingginya prevalensi resistensi Carbapenem di Indonesia dan karenanya dibutuhkan perhatian khusus terhadap kasus resistensi antibiotik Carbapenem (8).

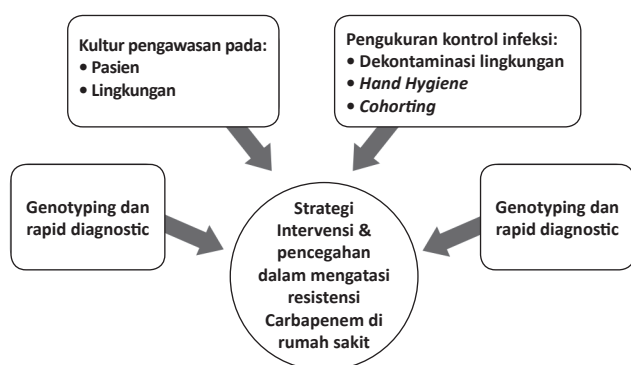
ANCAMAN RESISTENSI CARBAPENEM

Infeksi bakteri-bakteri *multidrug resistance* (MDR) seperti *K. pneumoniae* telah diketahui memiliki korelasi dengan tingginya angka mortalitas yaitu hingga 40-50%, terutama pada pasien yang mengalami sakit kritis. Namun penanganan infeksi bakteri MDR memiliki tantangan yang sulit karena memerlukan terapi dengan kombinasi antibiotik, dan di antara terapi kombinasi yang ada, masih terbatas perihal informasi keefektifannya. Di sisi lain, bakteri-bakteri *Extensively drug resistant* (XDR) telah masuk kedalam daftar patogen prioritas WHO karena merupakan patogen-patogen berbahaya dengan tingkat kematian (*fatality rate*) yang tinggi. Bakteri-bakteri tersebut berkontribusi pada kasus-kasus *Ventilator-associated Pneumonia* (VAP), infeksi yang terkait dengan penggunaan kateter, serta Infeksi aliran darah pada pasien-pasien di ICU. Salah satu patogen MDR yang resisten terhadap Carbapenem, yakni *P. aeruginosa*, seringkali ditemukan pada pasien-pasien imunokompromais yang terkena pneumonia. Apabila dibandingkan dengan kasus pneumonia yang bukan diakibatkan oleh *P. aeruginosa* resisten carbapenem, pasien pneumonia tersebut mengalami waktu yang lebih lama dalam penggunaan ventilasi. Selain itu, tingkat fatalitas kasus pasien pneumonia akibat *P. aeruginosa* resisten carbapenem dilaporkan berkisar antara 44.7%-64%. Sebelumnya terdapat juga berbagai studi yang melaporkan bahwa tingkat kegagalan terapi yang tinggi pada kasus infeksi berkaitan dengan patogen *Enterobacteriaceae* yang memproduksi KPC, terutama pada pasien-pasien imunokompromais. Seperti halnya infeksi invasif akibat bakteri MDR yang memiliki hasil luaran (*outcome*) lebih buruk pada pasien dibandingkan infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang masih sensitif terhadap antibiotik, begitu pula dengan infeksi akibat CRE yang memiliki angka mortalitas keseluruhan pada rentang 22%-72%. Bahkan, 32% pasien yang mengalami infeksi aliran darah akibat CP-CRE mengalami kematian

pada hari ke-14 setelah masuk ke rumah sakit dengan *Odds Ratio* (OR) sebesar 4.92 dibandingkan dengan infeksi aliran darah akibat non-CP-CRE (9).

Selain ancaman terkait mortalitas, infeksi CRE juga memiliki ancaman berupa beban ekonomi yang tinggi. Perkiraan biaya yang diakibatkan infeksi CRE dengan insidensi 2.93 per 100.000 orang di Amerika Serikat adalah sekitar \$275 juta dolar untuk biaya rumah sakit serta \$147 juta dolar untuk pembiayaan pihak ketiga. Beban biaya ini turut meningkat bersamaan dengan peningkatan infeksi CRE sebesar 2; 4.3; dan 5.1 kali untuk angka insidensi 6, 10, dan 15 per 100.000 orang secara berurutan. Sementara itu di sebuah rumah sakit di Cina pada tahun 2011-2016, tahun yang hilang akibat sakit serta beban ekonomi langsung yang dirasakan akibat infeksi CRE-*P. Aeruginosa* ≥ 3 kali lipat lebih besar dibandingkan dengan infeksi *P. aeruginosa* yang rentan terhadap antibiotik Carbapenem (9).

Besarnya angka mortalitas dan beban biaya yang tinggi akibat infeksi bakteri-bakteri CRE membuat kontrol ketat terhadap penggunaan antibiotik, khususnya Carbapenem, perlu dilakukan. Terlebih, beberapa patogen yang resisten Carbapenem memiliki mekanisme transfer gen yang membuat gen-gen penyebab resistensi Carbapenem menjadi sangat mudah menyebar dan berisiko meningkatkan angka resistensi. Beberapa upaya dapat dilakukan untuk memperlambat peningkatan angka resistensi dan mempertahankan kemampuan antibiotik yang ada hingga selanjutnya ditemukan antibiotik-antibiotik baru untuk mengatasi infeksi CRE, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2 (5).



Gambar 2. Upaya kontrol infeksi yang dapat diadopsi untuk mencegah peningkatan resistensi Carbapenem (5).

POTENSI DALAM PENCEGAHAN DAN PERLAMBATAN LAJU RESISTENSI CARBAPENEM

Wabah resistensi antibiotik memiliki potensi untuk dapat dicegah melalui program kontrol infeksi, mengimplementasikan *Antimicrobial Stewardship Program* (ASP), serta melaksanakan kultur untuk pengawasan. ASP dideskripsikan sebagai kumpulan aksi koheren dengan tujuan mendorong penggunaan antimikroba secara bertanggung jawab untuk mencegah munculnya resistensi antimikroba. Penerapan ASP berasosiasi dengan menurunnya angka kejadian infeksi bakteri yang resisten terhadap antibiotik serta melambatnya perkembangan resistensi dari bakteri-bakteri tersebut. Cakupan dari ASP meliputi penerapan metode-metode ketat untuk meregulasi penggunaan antibiotik yang tidak tepat ataupun tidak diperlukan, misalnya dengan cara membatasi penerapan pengobatan tertentu (5).

Salah satu elemen penting dari ASP adalah praktek *Streamlining*, yakni pengerucutan pilihan antibiotik dari antibiotik spektrum luas menjadi antibiotik yang lebih spesifik segera setelah hasil kultur dan uji kepekaan antibiotik keluar. Setelah hasil pemeriksaan mikrobiologi tersedia, maka klinisi dapat melakukan de-eskalasi antibiotik dengan pertimbangan memilih agen antibiotik yang paling aktif dengan toksisitas terendah, spektrum

yang lebih sempit, dan biaya yang lebih rendah. Upaya de-eskalasi antibiotik ini aman dilakukan untuk pasien sepsis dan *septic shock* dengan memperhatikan waktu pengambilan sampel kultur darah sebelum memberikan terapi antibiotik spektrum luas pada pasien, sehingga hasil kultur darah yang didapatkan menjadi lebih akurat. Saat ini, sebagian besar pasien menerima terapi antibiotik tanpa menggunakan pemeriksaan mikrobiologi, melainkan hanya berdasarkan karakteristik klinis pasien dan mikroorganisme apa yang paling banyak menginfeksi pada berbagai kasus infeksi. Namun, strategi ini dapat bekerja dengan baik jika angka resistensinya rendah, atau jika data pengawasan resistensi antimikroba cukup untuk digunakan menentukan pemilihan antibiotik empiris. Sementara itu, benefit yang bisa didapatkan dari penerapan de-eskalasi antibiotik berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi memiliki potensi mengurangi laju resistensi antibiotik serta mengurangi beban biaya terkait penggunaan antibiotik spektrum luas maupun biaya fasilitas kesehatan lainnya (5,10).

Pengawasan aktif melalui kultur pada pasien untuk melihat kolonisasi bakteri juga dapat mengurangi angka infeksi, terutama infeksi nosokomial. Apabila pasien diduga menjadi bagian dari suatu wabah ataupun memiliki risiko tinggi untuk menyebarkan strain terkait wabah tersebut, maka harus dilakukan pemeriksaan kultur yang diambil dari berbagai tempat. Hal ini dilakukan karena pengambilan sampel kultur dari satu tempat saja memiliki sensitivitas yang rendah, sementara apabila dilakukan hingga pada 6 area berbeda, sensitivitasnya akan meningkat. Hasil kultur tersebut kemudian segera dikomunikasikan untuk diimplementasikan pada program kontrol infeksi di rumah sakit. Kontrol terhadap tren resistensi antibiotik di rumah sakit tersebut dilakukan dengan menggunakan antibiogram, yaitu suatu laporan berisi angka kerentanan antibiotik dari bakteri patogen yang sering diisolasi pada *setting* rumah sakit. Antibiogram tersebut dapat digunakan untuk memandu pemilihan antibiotik empiris awal sebagai

manajemen infeksi sebelum data pemeriksaan mikrobiologi tersedia (5,11).

Selain melalui antibiogram dan deeskalasi antibiotik berdasarkan hasil identifikasi patogen dan uji kerentanan antibiotik, potensi penurunan dan perlambatan angka resistensi antibiotik juga bisa diperbesar melalui tes cepat, terutama yang berkaitan dengan penentuan terapi antibiotik. *Rapid diagnostic* memungkinkan klinisi untuk mendapatkan hasil yang lebih cepat dibandingkan metode kultur konvensional. Dalam kaitannya dengan antibiotik Carbapenem, setiap tahun *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (ECAST) mengeluarkan data terkait *breakpoint* kerentanan antibiotik Carbapenem (doripenem, ertapenem, imipenem, dan meropenem). Namun, ketika suatu organisme dinyatakan tidak rentan terhadap carbapenem, mekanisme resistensinya belum dapat diketahui melalui pemeriksaan kultur. Oleh karenanya, diperlukan pemeriksaan lanjutan, baik itu pemeriksaan biokimia ataupun pemeriksaan gen untuk mengetahuinya. Identifikasi terhadap mekanisme resistensi Carbapenem akan bermanfaat bagi klinisi untuk menentukan jenis antibiotik yang bisa digunakan untuk terapi. Berbagai pemeriksaan biokimia maupun molekular yang dapat mendeteksi resistensi Carbapenem saat ini telah tersedia secara luas dengan persetujuan dari CLSI, EUCAST, maupun FDA (7).

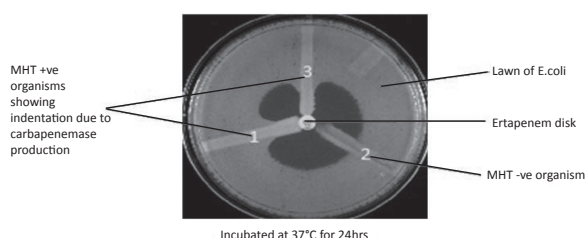
DETEKSI BAKTERI RESISTEN CARBAPENEM DI LABORATORIUM KLINIK

Metode pemeriksaan untuk mendeteksi bakteri resisten Carbapenem yang telah tersedia meliputi pemeriksaan fenotipik yang dapat mendeteksi aktivitas enzim carbapenemase, seperti pemeriksaan berdasarkan pertumbuhan bakteri, kolorimetri cepat (*rapid*), dan *Immunochromatographic* (IC) assay, juga pemeriksaan berbasis molekular seperti *Polymerase Chain*

Reaction (PCR), dan *Whole Genome Sequencing* (WGS). Untuk melihat resistensi antibiotik Carbapenem, pola kerentanan antibiotik melalui metode *disc diffusion* merupakan suatu metode yang digunakan pada lini pertama. Pola kerentanan tersebut dapat dibandingkan dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Carbapenem dari bakteri yang diperiksa melalui uji kerentanan antibiotik dengan alat otomatis seperti Vitek 2 compact. Namun, meskipun breakpoint MIC pada uji kerentanan antibiotik yang disarankan oleh EUCAST terkadang mampu digunakan untuk memprediksi spesies bakteri yang memproduksi enzim Carbapenemase, ada beberapa isolat produsen Carbapenemase yang masih rentan, atau setidaknya memiliki kerentanan sedang (*intermediate*) terhadap Carbapenem. Sebagai contoh, terdapat beberapa bakteri *Enterobacteriaceae* yang rentan terhadap Ertapenem, namun bakteri tersebut memiliki gen blaKPC, yakni penyandi enzim KPC. Maka dari itu pada tahun 2009 CLSI mengeluarkan rekomendasi untuk melakukan identifikasi pada organisme yang memproduksi Carbapenemase berdasarkan hasil uji kerentanan antibiotik yang menunjukkan MIC 2 mg/L ataupun diameter zona <22mm untuk semua jenis Carbapenem. Pada tahun berikutnya, CLSI juga merekomendasikan untuk melakukan Modified Hodge Test (MHT) untuk mengonfirmasi isolat *Enterobacteriaceae* yang resisten terhadap semua cephalosporin generasi ketiga dan memiliki MIC Carbapenem 2 atau 4 µg/L (12).

MHT merupakan pemeriksaan fenotipik yang disarankan untuk mendeteksi bakteri produsen Carbapenemase berdasarkan produksi *in vivo* Carbapenemase-nya. Pemeriksaan ini sensitif untuk mendeteksi produsen enzim KPC dan OXA-48, namun kurang sensitif untuk produsen MBL. Untuk melakukan pemeriksaan ini, diperlukan periode inkubasi selama 24 jam. Hal tersebut menjadi kekurangan metode ini disamping interpretasinya yang juga sulit. Medium yang digunakan adalah Mueller Hinton Agar (MHA) *Plate* dan meropenem atau ertapenem disk, dengan *E. coli* sebagai organisme indikator, serta MHT Negatif dan MHT positif *K. pneumoniae* sebagai kontrol kualitas hasil MHT. Hasil MHT dinyatakan positif produsen

Carbapenemase apabila didapatkan peningkatan pertumbuhan di zona inhibisi, sementara hasil MHT dinyatakan negatif jika di zona inhibisi tidak terjadi peningkatan pertumbuhan organisme seperti yang dapat dilihat pada gambar 3. Namun, pada tahun 2018, CLSI tidak lagi mengkategorikan MHT sebagai metode yang dapat diandalkan untuk deteksi produksi Carbapenemase (13, 14).



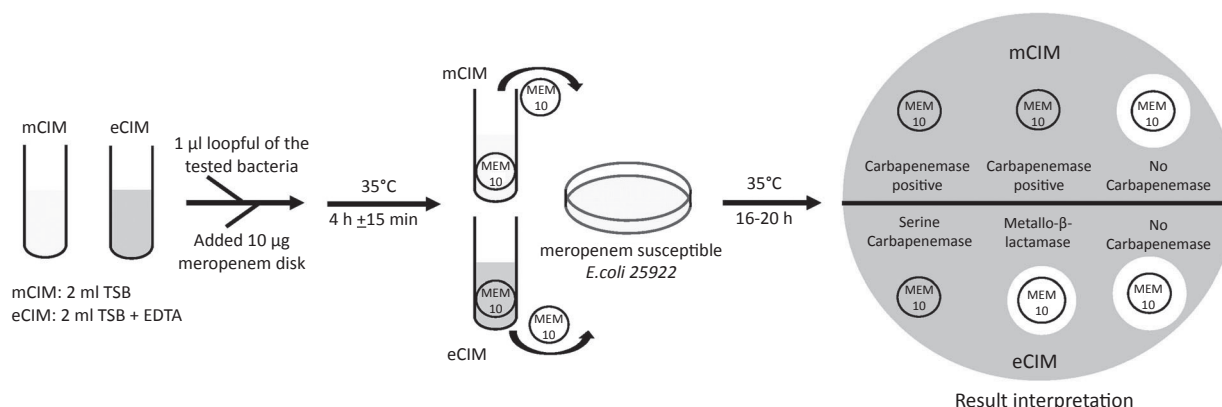
Gambar 3. Modified Hodge Test menggunakan Muller Hinton Agar Plate. Keterangan: (1) hasil MHT positif, (2) hasil MHT negatif, dan (3) isolat klinis dengan MHT positif (13).

Pemeriksaan yang juga memerlukan inkubasi 24 jam namun masih masuk dalam rekomendasi CLSI adalah *modified Carbapenem Inactivation Method* (mCIM). Pemeriksaan ini menggunakan metode inaktivasi Meropenem disk dengan hasil pemeriksaan positif, negatif, atau indeterminate. mCIM dapat juga dilanjutkan dengan EDTA (eCIM) untuk membedakan metallo- β -lactamase pada Enterobacteriales. Namun, eCIM hanya dapat berlaku jika hasil mCIM positif (16, 18).

Prosedur dan interpretasi pemeriksaan mCIM dan eCIM seperti diilustrasikan pada gambar 4. Jika isolat positif

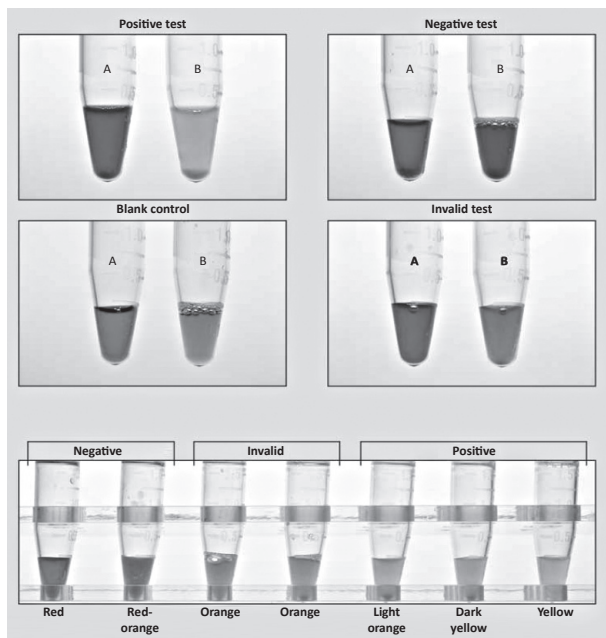
memproduksi carbapenemase, maka tidak akan terbentuk zona inhibisi atau penghambatan pertumbuhan pada isolat *E.coli* rentan carbapenem yang digunakan. Hal ini terjadi karena Carbapenemase yang dihasilkan oleh isolat klinis akan menghidrolisis antibiotik Carbapenem dari disk Meropenem. Sementara itu, jika isolat klinis tidak memproduksi Carbapenemase, maka akan terbentuk zona inhibisi di sekitar disk. Namun, hasil pengujian juga memiliki kemungkinan indeterminate apabila tidak dapat ditentukan ada tidaknya penghambatan pertumbuhan. Pada hasil mCIM positif, dapat dilakukan pengujian tambahan dengan eCIM. Hasil eCIM dinyatakan positif metallo- β -lactamase jika diameter zona inhibisi meningkat $>5\text{mm}$, dan negatif bila peningkatan diameternya $<2\text{mm}$. Studi Tsai *et al* menunjukkan bahwa sensitivitas mCIM untuk mendeteksi MBL mencapai 100% dan lebih akurat jika dibandingkan dengan MHT (16, 18).

Pemeriksaan fenotipik lain yang dapat digunakan untuk mendeteksi produksi enzim Carbapenemase adalah CarbaNP. Pemeriksaan ini mengandalkan hidrolisis Carbapenemase pada organisme yang diinkubasi bersama antibiotik Carbapenem. Carba NP merupakan pemeriksaan dengan metode colorimetric tube assay, yakni deteksi suatu senyawa yang ditandai dengan perubahan warna. Carba NP dapat mendeteksi semua jenis Carbapenemase dalam waktu kurang dari dua jam, namun tidak dapat membedakan tiap jenisnya. Pemeriksaan ini dapat diaplikasikan pada isolat Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, dan *A. baumannii*.



Gambar 4. Prosedur dan interpretasi pemeriksaan mCIM dan eCIM (18).

Carba NP adalah salah satu pemeriksaan yang masuk dalam rekomendasi CLSI dan direkomendasikan untuk digunakan apabila suatu isolat Enterobacteriales dicurigai memproduksi Carbapenemase berdasarkan MIC meropenem dan imipenem yang didapatkan sebesar 2-4 ug/mL atau MIC ertapenem sebesar 2 ug/mL. Interpretasi hasil Carba NP dilakukan berdasarkan perubahan warna yang terjadi. Warna kuning, kuning gelap, atau oranye terang pada tube B menandakan hasil positif, sementara warna merah atau merah-oranye menandakan hasil negatif. Strategi interpretasi hasil tersaji dengan lengkap pada gambar 5. Seluruh isolat yang mendapatkan hasil positif pada pemeriksaan Carba NP harus dilaporkan resisten terhadap semua jenis Carbapenem tanpa memperhatikan nilai MIC nya. Meta analisis menunjukkan bahwa pemeriksaan ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas sebesar 97,9% dan 100% secara berurutan. Meski demikian, pemeriksaan Carba NP memiliki kekurangan, yakni mengalami penurunan sensitivitas pada OXA-48-like Carbapenemase akibat aktivitas hidrolisisnya yang rendah (15,16).



Gambar 5. Interpretasi reaksi perubahan warna pemeriksaan Carba NP untuk deteksi Carbapenemase (16).

Pemeriksaan fenotipik yang selanjutnya dilakukan menggunakan metode immunochromatographic assay.

Metode ini mengandalkan interaksi antara antigen-antibodi untuk menangkap antigen carbapenemase yang spesifik. Terdapat beberapa jenis pemeriksaan immunochromatographic assay yang tersedia secara komersial dengan kemampuan deteksi yang berbeda-beda. Metode ini membutuhkan waktu yang lebih singkat dari Carba NP, yaitu sekitar 15 menit. Pengujian dilakukan dengan menggunakan strip, dimana dibutuhkan kurang lebih tiga tetes suspensi ke dalam strip untuk mendapatkan hasil. Melalui metode ini, Carbapenemase yang kurang sensitif dideteksi menggunakan Carba NP, yakni OXA-48 dapat terdeteksi dengan sensitivitas mencapai 100%. Terdapat perbedaan Carbapenemase yang dapat dideteksi di setiap manufaktur, antara lain kaset dengan Carbapenemase tunggal (OXA-48 atau KPC saja), ataupun dengan beberapa jenis Carbapenemase sekaligus (misal: OXA-48, KPC, dan NDM). Contoh hasil pemeriksaan menggunakan kaset immunochromatographic assay dapat dilihat pada Gambar 5 (17).



Gambar 6. Immunochromatographic assay untuk deteksi enzim Carbapenemase OXA-48, KPC, dan NDM, (1) produksi KPC, (2) produksi OXA-48, (3) produksi NDM, (4) produksi OXA-48 dan NDM. (17).

Di samping pemeriksaan-pemeriksaan fenotipik yang bersifat rapid, terdapat pula pemeriksaan molekular untuk mendeteksi gen yang memproduksi Carbapenemase pada isolat klinis. Saat ini, pemeriksaan molekular berbasis PCR masih menjadi baku emas untuk mendeteksi gen

Carbapenemase, serta untuk mengonfirmasi hasil dari pemeriksaan-pemeriksaan fenotipik yang ada. Meski saat ini pemeriksaan berbasis molekuler telah dapat mendeteksi hampir semua gen Carbapenemase, namun pemeriksaan ini memiliki beberapa keterbatasan, yakni membutuhkan reagen dan alat khusus, biaya relatif mahal, dan hanya spesifik pada gen yang ditarget. Hal ini menyebabkan adanya kemungkinan negatif palsu jika spesifik gen yang ada tidak ditargetkan (16,19). Manfaat dari deteksi gen Carbapenemase adalah untuk mengontrol penyebaran organisme yang memproduksi enzim Carbapenemase. Selain itu, terkadang aktivitas antibiotik terhadap organisme yang memproduksi carbapenemase sangat tergantung pada jenis carbapenemase yang diproduksi. Oleh sebab itu, meski belum direkomendasikan untuk dilakukan secara rutin, namun pemeriksaan untuk mendeteksi resistensi Carbapenem memiliki potensi dalam membantu penentuan jenis antibiotik yang digunakan, serta menurunkan transmisi dari bakteri-bakteri yang memproduksi Carbapenemase. Deteksi cepat juga dapat bermanfaat untuk identifikasi ketika terjadi wabah. CLSI menghimbau laboratorium klinis untuk dapat mengadaptasi ataupun memiliki akses terhadap beberapa jenis pemeriksaan untuk deteksi resistensi Carbapenem yang memungkinkan mendeteksi secara akurat jenis organisme yang memproduksi Carbapenemase di institusi masing-masing. Bersamaan dengan hal tersebut, seluruh laboratorium juga dihimbau untuk mengikuti rekomendasi CLSI terbaru mengenai breakpoint dari antibiotik Carbapenem (20).

PENUTUP

Resistensi terhadap antibiotik Carbapenem merupakan permasalahan yang mengancam dunia kesehatan. Upaya pencegahan dan perlambatan laju resistensi dapat dilakukan rumah sakit maupun fasilitas layanan kesehatan lain melalui berbagai cara, seperti menerapkan *Antimicrobial Stewardship Program* (ASP), melakukan kultur untuk

pengawasan (*Surveillance*), pembuatan antibiogram, serta dapat dilengkapi dengan deteksi gen penyandi enzim Carbapenemase. Berbagai pemeriksaan untuk mendeteksi Carbapenemase telah tersedia dan direkomendasikan oleh CLSI, meski belum disarankan untuk dilakukan secara rutin, antara lain MHT, *Modified Carbapenemase Inactivation Method*, *Carba NP*, *immunochromatographic assay*, serta pemeriksaan molekuler seperti PCR. Penerapan rapid detection memiliki potensi untuk mencegah transmisi organisme yang memproduksi Carbapenemase, membantu identifikasi organisme ketika terjadi wabah, serta membantu penentuan antibiotik yang sesuai. Selain mengikuti pembaharuan breakpoint antibiotik Carbapenem terkini, laboratorium klinik juga dihimbau untuk dapat mengadaptasi ataupun memiliki akses terhadap beberapa pemeriksaan untuk deteksi resistensi Carbapenem yang disesuaikan dengan jenis organisme di institusi masing-masing.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suay-García B, Pérez-Gracia MT. Present and Future of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections. *Antibiotics (Basel)*. 2019;8(3):122.
2. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem Resistance: A Review. *Med Sci (Basel)*. 2017;6(1):1.
3. Rusic D, Vilovic M, Bukic J, Leskur D, Seselja Perisin A, Kumric M, Martinovic D, Petric A, Modun D, Bozic J. Implications of COVID-19 Pandemic on the Emergence of Antimicrobial Resistance: Adjusting the Response to Future Outbreaks. *Life*. 2021;11(3):220.
4. Siahaan S, Herman MJ, Fitri N. Antimicrobial Resistance Situation in Indonesia: A Challenge of Multisector and Global Coordination. *J Trop Med*. 2022;2022:2783300.
5. Nguyen M, Joshii SG. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. *J. Appl. Microbiol*. 2021;131(6):2715-38.



6. Armstrong T, Fenn SJ, Hardie KR. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *J Med Microbiol.* 2021;70(12):001462.
7. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis.* 2019;69 (Suppl 7):S521-28.
8. Kuntaman K, Shigemura K, Osawa K, Kitagawa K, Sato K, Yamada N, Shirakawa T. Occurrence and characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli: A collaborative study of antibiotic-resistant bacteria between Indonesia and Japan. *Int J Urol.* 2018; 25 (11):966-72.
9. Jean SS, Harnod D, Hsueh PR. Global Threat of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:823684.
10. Antimicrobial stewardship programmes in health-care facilities in low- and middle-income countries. A practical toolkit. Geneva: World Health Organization; 2019.
11. Rai R, Bhat P. Hospital Antibigram - A Tool for Safe Antimicrobial Therapy. *J. Evolution Med. Dent. Sci.* 2020;9(3):124-28.
12. Al-Zahrani IA. Routine detection of carbapenem-resistant gram-negative bacilli in clinical laboratories. A review of current challenge. *Saudi Med J.* 2018;39(9):861-72.
13. Amjad A, Mirza IA, Abbasi SA, Farwa U, Malik N, Zia F. Modified Hodge Test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production. *Iran. J. Microiol.* 2011;3(4): 189-93.
14. CLSI Archived Methods. Modified Hodge Test. 2018.
15. Zefenkey Z, Saleem SM, Mohammed NJ. Diagnostic Accuracy of Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Systematic Review and Meta Analysis. *Med. Legal Update.* 2021;21(3):559-69.
16. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testting 30th ed. CLSI supplement M100. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2020.
17. Sagioglu P, Hasdemir U, Gelmez GA, Aksu B, Karatuna O, Soyletir G. Performance of "Resist 3 O.K.N. K-set" immunochromatographic assay for the detection of OXA-48-llike, KPC, and NDM Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae in Turkey. *Braz.J.Microbiol.* 2018;49(4):885-90.
18. Tsai, YM., Wang, S., Chiu, HC. et al. Combination of modified carbapenem inactivation method (mCIM) and EDTA-CIM (eCIM) for phenotypic detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *BMC Microbiol.* 2020;20:315.
19. Cui X, Zhang H and Du H. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Detection and Antimicrobial Therapy. *Front. Microbiol.* 2019;10:1823.
20. Westblade, Lars. Burning Question - When Should Clinical Microbiology Laboratories Perform Carbapenemase Detection Test?. CLSI AST News Update. 2018;3(1).

FORUM DIAGNOSTICUM

ISSN 0854-7173 | No. 4/2022

Redaksi Kehormatan

Drs. Andi Wijaya, Ph.D.
Prof. Dr. dr. FX Budhianto Suhadi

Penanggung Jawab

Dr. Trilis Yulianti, M.Kes.

Ketua Dewan Redaksi

Siska Darmayanti, S.Si., M.Farm.

Anggota Dewan Redaksi

Gianni Yosephine, S.Si., M.Farm
Matthew Justyn, S.Si.
Bena Zaira, S.Si.
Amadea Risanggita Kinanthi, S.Si.

Alamat Redaksi

PT. Prodia Widyahusada
Jl. Kramat Raya 150, Jakarta 10430
Telepon: (021) 3144182 (Hunting)
Fax: (021) 3926675
e-mail: produk@prodia.co.id
website: www.prodia.co.id



Certificate Number : JKT 0403247
Certified to QMS

Januari 2023 - PR0005977