

## Nilai Diagnostik Tes Kepekaan Kuman Metode Langsung untuk Mendapatkan Hasil Kepekaan Kuman yang Lebih Cepat pada Bakteremia

### *Diagnostic Value of Direct Antibiotic Susceptibility Test for Faster Bacterial Susceptibility Reporting in Bacteremia*

Rebriarina Hapsari<sup>1\*</sup>, Vincentia Rizke Ciptaningtyas<sup>1</sup>, Masfiah<sup>1,2</sup>

#### ABSTRACT

**Background:** Rapid and accurate information on susceptibility of bacteria causing bacteraemia is very helpful in sepsis management. Blood culture is the gold standard for bacteraemia diagnosis. Standard antibiotic susceptibility testing needs at least three days for completion while direct method can give the result a day earlier. The aim of this study was to investigate the diagnostic value of direct antibiotic susceptibility testing in blood culture.

**Methods:** Bloods from positive BACTEC bottles which met inclusion and exclusion criteria were put into sterile tubes and centrifuged. The pellets were then used to make 0.5 McFarland bacterial suspensions and directly used for antibiotic susceptibility testing. Interpretations of direct method were compared to standard method to count sensitivity, specificity, sensitive predictive value, resistant predictive value, accuracy, and kappa value.

**Results:** From 58 samples (containing 22 gram negative, 36 gram positive bacteria), there were 309 total antibiotic susceptibility tests. Direct method showed sensitivity, specificity, sensitive predictive value, resistant predictive value, accuracy, and kappa value of 89.3%, 92.9%, 93.8%, 87.8%, 86.4%, and 0.82, respectively.

**Conclusion:** Direct antibiotic susceptibility testing has a good agreement with the standard method so it can aid faster antibiotic susceptibility reporting in bacteraemia (*Sains Medika*, 4(2):174-181).

**Key words:** bacteraemia, blood culture, antibiotic susceptibility testing

#### ABSTRAK

**Latar belakang:** Informasi hasil kepekaan kuman penyebab bakteremia yang cepat dan akurat sangat membantu dalam penanganan pasien sepsis. Kultur darah merupakan baku emas pemeriksaan untuk bakteremia. Kultur darah metode standar paling cepat memerlukan waktu tiga hari sedangkan metode langsung dapat memberikan hasil satu hari lebih cepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik tes kepekaan kuman metode langsung pada kultur darah.

**Metode penelitian:** Material darah dari Botol BACTEC yang menunjukkan hasil positif dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi ditempatkan dalam tabung steril dan dipusingkan. Pellet yang dihasilkan digunakan untuk membuat suspensi kuman 0,5 McFarland untuk langsung dilakukan tes kepekaan kuman. Interpretasi metode langsung dibandingkan dengan metode standar kemudian dihitung sensitivitas, spesifitas, nilai ramal positif, nilai ramal negatif, akurasi, dan nilai kappa.

**Hasil:** Dari 58 sampel yang diinklusi (22 bakteri gram negatif, 36 gram positif), terdapat total 309 pemeriksaan kepekaan terhadap antibiotika. Metode langsung menunjukkan sensitivitas sebesar 89,3%, spesifitas 92,9%, nilai ramal sensitif 93,8%, nilai ramal resisten 87,8%, akurasi 86,4%, dan nilai kappa 0,82.

**Simpulan:** Tes kepekaan kuman metode langsung memiliki kesesuaian yang baik dengan metode standar sehingga dapat membantu pelaporan hasil kepekaan kuman yang lebih cepat (*Sains Medika*, 4(2):174-181).

**Kata kunci:** bakteremia, kultur darah, tes kepekaan kuman

## PENDAHULUAN

Bakteremia adalah adanya bakteri dalam peredaran darah. Kondisi ini menyebabkan implikasi klinis yang signifikan ketika berlanjut menjadi infeksi peredaran

1 Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang/ RSUP Dr Kariadi Semarang

2 Fakultas Kedokteran Unissula Semarang/ RS Islam Sultan Agung Semarang

\* email : happy\_indonesia@yahoo.com

darah (*blood stream infection*), sepsis dan syok septik. Implikasi untuk pasien yaitu lama rawat inap yang lebih lama, peningkatan pembiayaan rumah sakit, morbiditas dan mortalitas (Diekema *et al.*, 2003, Salomao *et al.*, 1999, Rodriguez-Creixems *et al.*, 2008).

Baku emas diagnosis bakteremia dan sepsis adalah kultur darah (Magadia and Weinstein, 2001). Diagnosis yang cepat dan tepat tentang etiologi beserta profil kepekaan kuman terhadap antibiotika sangat penting untuk keberhasilan penanganan bakteremia dan sepsis. Keterlambatan dalam memberikan antibiotika yang tepat dan adekuat terbukti merupakan faktor risiko independen untuk mortalitas serta dapat menyebabkan resistensi kuman penyebab (Schwaber and Carmeli, 2007, Erbay *et al.*, 2009, Boucher *et al.*, 2009).

Kultur darah dan pemeriksaan kepekaan kuman dengan metode standar di RSUP Dr. Kariadi Semarang memerlukan waktu paling cepat tiga hari. Satu hari atau lebih untuk pertumbuhan di botol BACTEC dengan mesin BACTEC 9050 (Becton Deckinson Microbiology Systems, Sparks, Md) (Gopi *et al.*, 2011). Satu hari untuk mengisolasi kuman pada media agar darah dan MacConkey, dan satu hari untuk melakukan tes biokimiawi dan tes kepekaan di media Mueller Hinton (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007). Hal itu menyebabkan hasil pemeriksaan kultur darah paling cepat bisa didapatkan dalam 3 hari.

Terdapat berbagai upaya untuk mempercepat diagnosis kuman beserta kepekaannya, antara lain dengan metode berbasis PCR (Paolucci *et al.*, 2010), tetapi metode ini memerlukan peralatan canggih dan biaya mahal yang belum terjangkau untuk dilakukan di sebagian besar laboratorium mikrobiologi walaupun hasilnya dapat diketahui dalam hitungan jam. Metode alternatif lainnya yaitu dengan pemeriksaan langsung dari botol BACTEC yang positif untuk dilakukan diagnosis kuman dan kepekaan tanpa menunggu isolasi kuman (Barman *et al.*, 2010). Metode langsung ini bisa dilakukan dengan cara manual ataupun dengan mesin (Barman *et al.*, 2010, Lupetti *et al.*, 2010). Upaya ini dapat memberikan hasil satu hari lebih cepat. Kelemahan metode ini adalah hanya bisa digunakan untuk kultur darah yang memperlihatkan hasil morfologi tunggal pada pengecatan Gram. Pada pasien dengan bakteremia oleh polimikroba, metode ini tidak dapat digunakan karena bakteremia polimikroba memerlukan isolasi tiap-tiap kuman pada media agar darah dan MacConkey (Barman *et al.*, 2010).

Langkah untuk mempercepat pelaporan hasil pemeriksaan kepekaan terhadap

antibiotika akan membimbing pemberian antibiotika yang tepat dan hal ini dapat menghindarkan pemakaian antibiotika yang tidak perlu, mencegah resistensi, menurunkan lama rawat di rumah sakit, serta menurunkan kematian akibat infeksi (Schwaber and Carmeli, 2007, Erbay *et al.*, 2009, Kerremans *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis nilai diagnostik pemeriksaan kepekaan kuman metode langsung untuk pada kultur darah yang dibandingkan dengan metode standar.

## METODE

Penelitian ini menggunakan desain uji diagnostik yang dilakukan selama bulan Oktober 2011 di Bagian Mikrobiologi FK Undip/ RSUP Dr. Kariadi Semarang. Kriteria inklusi adalah sampel darah pasien rawat inap yang diperiksa kultur darah dan menunjukkan sinyal positif pada mesin BACTEC 9050 (Becton Deckinsson Microbiology Systems, Sparks, Md) dan menunjukkan morfologi tunggal pada pemeriksaan Gram. Kriteria eksklusi adalah apabila morfologi mikroorganisme menunjukkan komponen jamur, terdapat lebih dari satu macam koloni kuman pada isolasi sampel di media Blood Agar/MacConkey, atau terdapat kontaminan pada saat pembacaan AST.

Besar sampel minimal dihitung berdasarkan rumus penghitungan besar sampel untuk penelitian diagnostik dengan berdasarkan sensitivitas alat yang diinginkan adalah 90%, dengan penyimpangan yang dapat diterima adalah 10%, dan prevalensi kultur yang menunjukkan morfologi tunggal pada pengecatan Gram sebesar 70%. Dari penghitungan besar sampel didapatkan bahwa besar sampel minimal adalah 49 sampel.

Sampel diambil secara *consecutive sampling* dari botol BACTEC yang berisikan material darah pasien yang menunjukkan adanya pertumbuhan kuman. Cairan botol BACTEC yang positif kemudian dicat menggunakan pengecatan Gram. Sampel diteruskan untuk diperiksa apabila menunjukkan morfologi tunggal setelah dilihat minimal pada 20 lapangan pandang. Pemeriksaan kepekaan kuman metode standar dilakukan berdasarkan metode Kirby-Bauer dengan penentuan spesies kuman berdasarkan pengecatan, bentuk koloni kuman dan tes biokimiawi (oksidase, indol, motilitas, urea, TSI untuk Gram negatif; katalase dan koagulase untuk kuman Gram positif). Untuk metode langsung, cairan dari botol BACTEC diambil secara aseptis dan dimasukkan kedalam tabung reaksi bertutup

ulir steril dan kemudian di *sentrifuge* selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dibuang dan *pellet* yang dihasilkan digunakan untuk membuat suspensi kuman sesuai standard McFarland 0,5. Dari suspensi kuman tersebut dilakukan penanaman kuman pada media agar Mueller Hinton sesuai metode Kirby Bauer. Cakram antibiotika yang dipasang pada media adalah cefotaxime (30 µg), amoxicillin-clavulanic acid (30 µg), meropenem (10 µg), amikacin (30 µg), dan sulphamethoxazole-trimethoprim (25 µg) untuk kuman Gram negatif; dan amikacin (30 µg), dan sulphamethoxazole-trimethoprim (25 µg), vancomycin (30 µg), cefoxitin (30 µg), dan erythromycin (15 µg) untuk kuman Gram positif. Interpretasi hasil kepekaan kuman menganut pada standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Pada penelitian ini, pemeriksaan kepekaan kuman metode standar dan metode langsung masing-masing dilakukan oleh orang yang berbeda, yang sebelumnya telah diukur memiliki nilai kappa 0,75; untuk menghindari bias akses diagnostik.

Hasil analisis disampaikan dalam akurasi (jumlah total hasil yang benar dibagi jumlah total sampel), proporsi kesalahan minor (intermedia pada metode standar dilaporkan sebagai sensitif atau resisten pada metode langsung atau sebaliknya), mayor (sensitif dilaporkan sebagai resisten), dan sangat mayor (resisten dilaporkan sebagai sensitif). Dilakukan juga penghitungan sensitivitas, spesifitas, dan nilai kappa metode langsung menggunakan tabel 2x2 dimana hasil intermediate dianggap sebagai sensitif.

## HASIL

Dari 69 permintaan kultur darah yang memberikan sinyal positif pada botol BACTEC tanggal 13-27 Oktober 2011, didapatkan 58 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sembilan sampel dieksklusikan karena terdapat kontaminasi atau lebih dari satu spesies bakteri dan dua sampel dieksklusikan karena mengandung sel ragi jamur. Dari sampel yang diikutsertakan, 22 merupakan bakteri gram negatif dan 36 bakteri gram positif.

Isolat yang diidentifikasi selama penelitian adalah *Staphylococcus aureus* (44,8%), *Staphylococcus epidermidis* (15,5%), *Acinetobacter* spp. (15,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (10,3%), *Enterobacter aerogenes* (6,9%), *Klebsiella pneumoniae* (3,4%), *Escherichia coli* (1,7%), dan *Streptococcus* spp. (1,7%).

Berdasarkan tabel 2x2 dimana hasil intermediate dianggap sebagai sensitif (Tabel

1), dari total 309 pemeriksaan kepekaan terhadap antibiotik, keseluruhan sensitivitas metode langsung adalah 89,3% dengan spesifitas sebesar 92,85%; nilai ramal sensitif 93,8%; nilai ramal resisten 87,8%; akurasi 86,4%; dan nilai kappa 0,82 ketika dibandingkan dengan metode standar. Terdapat 5,5% kesalahan minor (17/309); 5,8% kesalahan mayor (18/309) dan 2,2% kesalahan sangat mayor (7/309). Kesalahan sangat mayor terjadi paling banyak pada pemeriksaan kepekaan terhadap pada pemeriksaan kepekaan terhadap sulphamethoxazole-trimethoprim (4 dari 7 kesalahan sangat mayor), diikuti oleh amikacin (2/7), dan meropenem (1/7). Ini terjadi pada masing-masing satu isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Acinetobacter* spp. terhadap sulphamethoxazole-trimethoprim, satu isolat *Pseudomonas aeruginosa* terhadap meropenem dan amikacin, serta satu isolat *Streptococcus* spp. terhadap amikacin. Untuk masing-masing antibiotik, pemeriksaan kepekaan kuman gram negatif terhadap cefotaxime memiliki akurasi 90,9%; amoxicillin-clavulanic acid 92,3%; meropenem 77,3%; sulphamethoxazole-trimethoprim 50%; dan amikacin 86,4%. Untuk pemeriksaan kepekaan kuman gram positif terhadap sulphamethoxazole-trimethoprim memiliki akurasi 77,1%; amikacin 94,1%; vancomycin 91,1%; ceftazidime 79,4%; dan erythromycin 100%.

Tabel 1. Tabel kontingensi untuk penghitungan sensitivitas, spesifitas, nilai ramal sensitif, nilai ramal resisten

Metode direct AST	Metode standard AST		Total
	Sensitif	Resisten	
Sensitif	151	10	161
Resisten	18	130	148
Total	169	140	309

$$\text{Sensitivitas} = \frac{151}{169} = 89,3\%$$

$$\text{Spesifitas} = \frac{130}{169} = 92,9\%$$

$$\text{Nilai ramal sensitif} = \frac{151}{161} = 93,8\%$$

$$\text{Nilai ramal resisten} = \frac{130}{148} = 87,8\%$$

## PEMBAHASAN

Diagnosis yang cepat dan tepat tentang etiologi kuman penyebab bakteremia beserta profil kepekaan kuman terhadap antibiotika sangat penting untuk keberhasilan penanganan bakteremia dan sepsis. Ini dapat digunakan untuk membimbing pemberian yang tepat oleh klinisi. Pelaporan yang cepat telah terbukti dapat menurunkan penggunaan antibiotika dan mempercepat pemberian antibiotik yang sesuai dengan patogen yang ditemukan (Kerremans *et al.*, 2008). Pemeriksaan kepekaan kuman metode langsung memiliki kemampuan untuk memberikan hasil 1 hari lebih cepat walaupun hanya bisa digunakan untuk monoinfeksi. Cara pengerjaan metode ini juga sederhana dan mudah dilakukan tanpa atau minimal untuk risiko kontaminasi.

Metode langsung mendeteksi kepekaan dengan benar pada 86,4% pemeriksaan kepekaan. Hasil ini sedikit lebih rendah dibandingkan perkiraan yaitu minimal 90% akurasi. Kesalahan ini paling banyak disumbang oleh pemeriksaan kepekaan terhadap sulphamethoxazole-trimethoprim pada bakteri gram negatif dan positif, serta kepekaan terhadap cefoxitin pada bakteri gram positif. Perbedaan dalam hasil kepekaan mungkin sebagai akibat konsentrasi bakteri yang lebih sedikit pada metode langsung dibandingkan metode standar. Faktor lain yang mungkin menyumbang untuk perbedaan ini adalah eritrosit, leukosit, debris seluler, dan isi dari botol BACTEC itu sendiri yang bisa mempengaruhi kepekaan dan proses difusi antibiotika pada media Mueller Hinton.

Nilai sensitivitas 89,3%, spesifitas sebesar 92,85%, dan kappa yang cukup tinggi yaitu 0,82 menunjukkan bahwa metode ini bisa menjadi tambahan untuk membantu pelaporan cepat sembari menunggu hasil kepekaan metode standard.

Penelitian kami memiliki keunggulan dibandingkan penelitian lain yaitu kami menghindari bias akses diagnostik dengan menggunakan dua pemeriksa, satu untuk metode *direct*-AST dan satu untuk standard-AST, dimana sebelumnya kedua pemeriksa ini memiliki nilai kappa yang baik.

## KESIMPULAN

Metode *direct*-AST ini bisa digunakan untuk membantu pelaporan hasil kultur yang lebih cepat satu hari. Kekurangan metode ini adalah hanya bisa digunakan pada infeksi monomikrobial. Akibat dari pelaporan yang lebih cepat terhadap keluaran klinis pasien

perlu diteliti lebih lanjut pada penelitian mendatang.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dana dari UP3 Fakultas Kedokteran UNDIP untuk pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Prof. Dr. dr. Hendro Wahjono, DMM, Msc.Trop.Med, Sp.MK (K) dan Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp.MK, Sp.MK (K) yang telah mengizinkan dan memfasilitasi penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Barman, P., Sengupta, S. & Singh, S. 2010. Study of a novel method to assist in early reporting of sepsis from the microbiology laboratory. *J Infect Dev Ctries*, 4, 822-7.
- Boucher, H. W., Talbot, G. H., Bradley, J. S., Edwards, J. E., Gilbert, D., Rice, L. B., Scheld, M., Spellberg, B. & Bartlett, J. 2009. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 48, 1-12.
- Clinical and Laboratory Standards Institute 2007. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA.
- Clinical And Laboratory Standards Institute 2010. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20th informational supplement. CLSI document M100-S20. Wayne, PA.
- Diekema, D. J., Beekmann, S. E., Chapin, K. C., Morel, K. A., Munson, E. & DOERN, G. V. 2003. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *J Clin Microbiol*, 41, 3655-60.
- Erbay, A., Idil, A., Gozel, M. G., Mumcuoglu, I. & Balaban, N. 2009. Impact of early appropriate antimicrobial therapy on survival in Acinetobacter baumannii bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents*, 34, 575-9.
- Gopi, A., Ambarish, K., Shwethalatha, N., Shree, S., Ashwini, K. & Arpita, S. 2011. Time to Positivity of Microorganisms with BACTEC 9050: An 18-month Study Among Children of 28 Days to 60 Months in an South Indian Tertiary Hospital. *Int J Microbiol Res*, 2, 12-17.
- Kerremans, J. J., Verboom, P., Stijnen, T., Hakkaart-Van Roijen, L., Goessens, W., Verbrugh, H. A. & Vos, M. C. 2008. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing reduce antibiotic use and accelerate pathogen-directed antibiotic use. *J Antimicrob Chemother*, 61, 428-35.
- Lupetti, A., Barnini, S., Castagna, B., Nibbering, P. H. & CAMPA, M. 2010. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-positive cocci in blood cultures by direct inoculation into the BD Phoenix system. *Clin Microbiol Infect*, 16, 986-91.
- Magadia, R. R. & Weinstein, M. P. 2001. Laboratory diagnosis of bacteremia and fungemia. *Infect Dis Clin North Am*, 15, 1009-24.

- Paolucci, M., Landini, M. P. & Sambri, V. 2010. Conventional and molecular techniques for the early diagnosis of bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents*, 36 Suppl 2, S6-16.
- Rodriguez-Creixems, M., Alcalá, L., Muñoz, P., Cercenado, E., Vicente, T. & Bouza, E. 2008. Bloodstream infections: evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985-2006. *Medicine (Baltimore)*, 87, 234-49.
- Salomao, R., Rigato, O., Pignatari, A. C., Freudenberg, M. A. & Galanos, C. 1999. Bloodstream infections: epidemiology, pathophysiology and therapeutic perspectives. *Infection*, 27, 1-11.
- Schwaber, M. J. & Carmeli, Y. 2007. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, 60, 913-20.