

Uji Fenotipik Deteksi Enzim *Extended-Spectrum* Beta-Laktamase, Karbapenemase dan AmpC pada Bakteri *Enterobacteriaceae*

Ade Dharmawan¹, Nicolas Layanto¹

¹Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

Alamat korespondensi: ade.dharmawan@ukrida.ac.id

Abstrak

Organisme yang mengekspresikan *extended-spectrum β-lactamases* (ESBLs) seperti *Enterobacteriaceae* dilaporkan semakin meningkat selama empat puluh tahun terakhir. Organisme yang mengekspresikan enzim ini dapat menghidrolisis oksiminosefalosporin dan monobactam, namun dapat dihambat menggunakan β-laktam inhibitor. Terdapat berbagai macam enzim yang berkontribusi dari resistensi sefalosporin dan monobaktam seperti AmpC β-laktamase, dan enzim karbapenemase. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan metode yang akurat dalam mendeteksi ESBL, tetapi metode ini merupakan metode genotipik yang membutuhkan alat khusus, sehingga masih dibutuhkan metode fenotipik untuk mendeteksi enzim ESBL, AmpC dan Karbapenemase yang dapat dilakukan pada berbagai laboratorium.

Kata Kunci: AmpC, *Enterobacteriaceae*, ESBL, karbapenemase

Phenotypic Test to Detect Extended-Spectrum Beta Lactamase, Carbapenemase and AmpC Enzymes in Enterobacteriaceae

Abstract

Organisms that express *extended-spectrum β-lactamase* (ESBLs) such as *Enterobacteriaceae* have been increasing for the past forty years. Organisms that express this enzyme can hydrolyze oxyminocephalosporins and monobactam, but can be inhibited using β-lactam inhibitors. There are various types of enzymes that contribute to cephalosporin and monobactam resistances, such as AmpC β-lactamase, and carbapenemase enzymes. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) is an accurate method for detecting ESBL, but this method is a genotypic method that requires a specialized instrument. Therefore there is a need for a phenotypic method to detect ESBL, AmpC and Carbapenemase that can be conducted in various laboratories.

Keywords : AmpC, Carbapenemase, *Enterobacteriaceae*, ESBL

Pendahuluan

Untuk mencegah peningkatan jumlah patogen resisten antibiotik diperlukan peran laboratorium mikrobiologi yang optimal. Resistensi antibiotik dapat menimbulkan masalah, tidak hanya di rumah sakit, namun juga dalam masyarakat sebagai penyebab meningkatnya jumlah infeksi. Berbagai

mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri Gram negatif disebabkan oleh beberapa enzim seperti *extended spectrum beta-lactamase* (ESBL), *AmpC β-lactamase*, dan karbapenemase. Peningkatan resistensi antibiotik bakteri gram negatif perlu mendapat perhatian khusus mengenai bagaimana bakteri mendapatkan, mempertahankan dan mengekspresikan informasi genetik baru yang

dapat menimbulkan resistensi terhadap satu atau beberapa antibiotik.¹

Organisme yang memproduksi enzim tersebut sangat sulit untuk dideteksi, karena enzim ini tidak selalu diekspresikan secara fenotipik pada uji resistensi antibiotik baik dengan metode difusi cakram konvensional (*conventional disc diffusion*) atau tes kepekaan otomatis (*automated susceptibility testing methods*).¹

Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)

Bakteri penghasil ESBL menjadi salah satu masalah yang menyebabkan infeksi nosokomial terutama di negara berkembang, dan kasus terbanyak ditemukan pada ruang perawatan intensif. Pasien yang berisiko terinfeksi ESBL adalah pasien yang membutuhkan perawatan dalam waktu yang lama di rumah sakit, pasien dengan kateter intravena dan kateter urin, pasien dengan pemasangan intubasi dan penggunaan ventilator serta telah mendapatkan berbagai jenis antibiotik sebelumnya (terutama golongan sefalosporin).²

Resistensi juga berkaitan dengan meningkatnya jumlah bakteri penghasil ESBL akibat penggunaan sefalosporin generasi ketiga secara berlebihan. Di Indonesia, prevalensi bakteri penghasil ESBL sekitar 33.3% untuk *K. pneumoniae* dan 23% untuk *E. coli*.²

ESBL merupakan suatu enzim beta laktamase yang dapat menginduksi resistensi terhadap penicillin, sefalosporin generasi 1, 2, 3 dan *aztreonam* (kecuali cephamin dan karbapenem).^{3,4} Enzim beta laktamase dibagi menjadi empat kelompok, yaitu:^{5,6}

- a. Grup 1 (Ambler Kelas C), yang juga dikenal sebagai enzim AmpC
Grup ini resisten terhadap inhibitor beta laktamase seperti klavulanat. Enzim ini terutama ditemukan di kromosom, dan enzim ini diinduksi oleh paparan antibiotik beta laktam. Enzim ini banyak ditemukan pada golongan *Enterobacteriaceae* dan *P. aeruginosa*. Enzim ini dapat berpindah dari kromosom ke plasmid pada beberapa strain seperti *E. coli* dan *Klebsiella spp.* Grup 1 beta laktamase resisten terhadap kombinasi antibiotik golongan beta laktam dengan penghambat beta laktamase, penisilin, sefamisin, sefalosporin generasi 1, 2

dan 3, namun sensitif terhadap sefepim dan karbapenem.

- b. Grup 2 (Ambler kelas A)
Gen pengkode enzim ini terdapat di plasmid, sehingga mudah ditransmisikan ke bakteri lain. Hal ini menyebabkan penyebaran resistensi menjadi lebih mudah. Enzim grup 2 dapat dihambat oleh penghambat enzim beta laktamase seperti asam klavulanat, sulbaktam dan tazobaktam. Enzim ini ditranskripsikan oleh gen TEM dan SHV. TEM-1 pertama kali diidentifikasi pada tahun 1965 di *Enterobacteriaceae* dan kemudian menyebar ke bakteri lain, seperti *Haemophilus*, *Neisseria* dan *Vibrio spp.* Grup 2 ini dapat menghidrolisis ampisilin, sefalosporin generasi 1, 2 dan 3 serta monobaktam (*Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL)).
- c. Grup 3 (Ambler kelas B)
Enzim grup ini adalah metallo enzim yang resisten terhadap karbapenem. Enzim ini banyak ditemukan pada *P. aeruginosa*, *Bacteroides fragilis* dan *Stenotrophomonas maltophilia*.
- d. Grup 4 Beta Laktamase
Grup ini merupakan enzim penisilinase yang berbeda karena tidak dapat dihambat oleh asam klavulanat. Grup 4 menunjukkan kemampuan yang baik dalam menghidrolisis karbenisilin dan atau cloxacillin.

Tipe ESBL yang penting adalah sebagai berikut⁵:

- a. TEM *beta lactamase*. Saat ini terdapat lebih dari 100 tipe TEM ESBL kecuali TEM-1 dan TEM-2. TEM ESBL tersering dijumpai pada bakteri *E. coli* dan *K. pneumoniae*. Dapat juga dijumpai pada bakteri gram negatif lainnya.
- b. SHV *beta lactamase*. Tipe ini merupakan tipe ESBL yang paling sering ditemukan. Kebanyakan strain mempunyai SHV di plasmid melalui pergantian serin menjadi glisin di urutan 238. Beberapa strain merubah lisin menjadi glutamat di urutan 240. Residu serin di urutan 238 penting untuk menghidrolisis seftazidim, dan residu lisin penting untuk menghidrolisis sefotaksim. SHV yang

telah diketahui terdapat lebih dari 100 jenis dan SHV ditemukan pada *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter baumannii*.

- c. CTX-M *beta lactamase*. Tipe ini pertama kali dijelaskan pada tahun 2000, diberi nama CTX-M karena kemampuannya menghidrolisis sefotaksim. Enzim ini dapat menghidrolisis sefalotin lebih baik dibandingkan benzyl penicillin, dan sefotaksim daripada seftazidim, serta tazobaktam dibandingkan sulbaktam dan klavulanat. Enzim ini juga dapat menghidrolisis sefepim. Sampai saat ini terdapat 128 tipe CTX-M dan diklasifikasikan menjadi 5 kelas (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, dan CTX-M-25). Enzim ini ditemukan pada *Enterobacteriaceae* termasuk *Salmonella spp.*⁵

Identifikasi ESBL

Saat ini tersedia medium kultur ChromIDTM ESBL yang dapat 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 sensitifitas yang tinggi untuk mendeteksi ESBL. Sensitifitas dan spesifisitas ChromIDTM ESBL dalam mendeteksi *E. coli* dan *K. pneumoniae* cukup tinggi sekitar 97,7% dan 89%. 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 kehijau-hijauan atau kebiru-biruan adalah koloni kelompok KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*) dan kelompok Proteae (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*) akan berwarna coklat tua hingga coklat muda.²

Pada umumnya antibiotik yang digunakan untuk uji ESBL pada isolat *E. coli* dan *Klebsiella spp* adalah seftazidim (merupakan indikator yang paling baik untuk ESBLs tipe TEM dan SHV), sefotaksim (merupakan indikator yang paling baik untuk ESBLs tipe CTX-M), serta menggunakan kombinasi antibiotik yang digunakan dengan asam klavulanat. Metode yang digunakan untuk menguji menggunakan antibiotik tersebut adalah metode difusi cakram yang menggunakan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dan metode mikrodilusi yang menggunakan CAMHB (*Cation Adjusted Mueller Hinton Broth*).⁷

Tabel 1. Uji ESBL⁵

Tes	Difusi Cakram	Mikrodilusi
Media	MHA	CAMHB
Konsentrasi antibiotik	seftazidime 30 ug seftazidime/klavulanat 30/10 ug dan sefotaksim 30 ug sefotaksim/klavulanat 30/10 ug (Uji ini memerlukan kedua antibiotik tersebut baik sediaan tunggal maupun kombinasi dengan klavulanat)	seftazidim 0,25 – 128 ug/mL seftazidim/klavulanat 0,25/4 – 128/4 ug/mL dan sefotaksim 0,25 – 64 ug/mL sefotaksim/klavulanat 0,25/4 – 64/4 ug/mL (Uji ini memerlukan kedua antibiotik tersebut baik sediaan tunggal maupun kombinasi dengan klavulanat)
Kondisi inkubasi	35 ± 2°C, 16 – 18 jam	35 ± 2°C, 16 – 20 jam
Hasil	Peningkatan diameter zona ≥ 5 mm antara zona antibiotik saja dengan zona antibiotik kombinasi dengan klavulanat (Misal: zona seftazidim = 16 mm, seftazidim/klavulanat = 21 mm)	Penurunan ≥ 3 kali konsentrasi hambat minimal (MIC) antara antibiotik kombinasi dengan klavulanat dan antibiotik saja (Misal: seftazidim MIC = 8 ug/mL, seftazidim/klavulanat MIC = 1 ug/mL)

Enzim Karbapenemase

Selama beberapa dekade terakhir muncul bakteri gram negatif yang menghasilkan enzim karbapenemase.⁸ Karbapenem merupakan pilihan utama untuk infeksi bakteri gram-negatif yang menghasilkan ESBL dan resisten terhadap sefalosporin generasi ke-3. Selama beberapa tahun terakhir, peningkatan bakteri penghasil ESBL di seluruh dunia menyebabkan peningkatan penggunaan antibiotik golongan karbapenem, terutama di unit perawatan bedah dan ruang perawatan intensif. Semakin seringnya penggunaan karbapenem dapat menginduksi resistensi terhadap karbapenem.⁹ Saat ini di negara Eropa ditemukan resistensi karbapenem pada *Enterobacteriaceae* di pelayanan kesehatan dan penyebabnya dikaitkan dengan produksi beta laktamase yang mampu menghidrolisis karbapenem.¹⁰ Resistensi *Enterobacteriaceae* dan bakteri gram negatif lainnya terhadap karbapenem dapat disebabkan oleh ekspresi ESBL tingkat tinggi disertai dengan perubahan porin, atau oleh enzim spesifik karbapenemase.⁹ Enzim ini menghidrolisis karbapenem, dan juga antibiotik beta-laktam lainnya. Beberapa karbapenemase telah diketahui selama lebih dari 20 tahun (blaIMP, blaIMI) tetapi dibatasi pada spesies dan wilayah geografis tertentu. Misalnya karbapenemase IMP-type yang dimediasi plasmid pertama kali muncul di Jepang pada 1990-an, ditemukan pada spesies *Pseudomonas* dan *Acinetobacter*.⁹ Perbedaan regional mempengaruhi prevalensi resistensi terhadap karbapenem serta jenis karbapenemase yang paling mungkin ditemui.⁹

Bakteri dengan *acquired carbapenem-hydrolyzing B-lactamase* telah menyebar ke seluruh dunia. Bakteri yang dimaksud adalah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii/braakii*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumannii*.^{8,9} Saat ini karbapenemase pada

Enterobacteriaceae adalah yang paling banyak ditemui. Karbapenemase terbagi menjadi empat kelas, yaitu: Ambler kelas A (KPC), kelas B (VIM, IMP, dan NDM), dan kelas D (OXA-48-like).⁸ Pada *Acinetobacter spp.*, *carbapenem-hydrolyzing β -lactamase* termasuk dalam Ambler kelas D, varian yang paling umum adalah enzim OXA-23-, OXA-24-, dan OXA-58-like enzyme, sedangkan kelas B metallo- β -laktamase (MBL), terutama VIM dan IMP berada pada tingkat lebih rendah dan paling sering ditemui pada *Pseudomonas spp.*^{8,11} Kelas karbapenemase tipe OXA-48 sudah semakin umum dijumpai pada *carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae* di wilayah Afrika Utara, Timur Tengah, dan Turki, yang kemudian telah menyebar luas dan menyebabkan wabah di beberapa negara Eropa dan juga menyebar secara sporadis di Amerika Utara dan Selatan, Israel, dan India. Karbapenemase tipe OXA-48 tersebar pada *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* dan spesies *Enterobacteriaceae* lainnya.¹⁰

Identifikasi karbapenemase umumnya tidak dilakukan secara rutin, sehingga biasanya hanya untuk studi epidemiologi dan pencegahan infeksi. Isolat *Enterobacteriaceae* yang menghasilkan karbapenemase biasanya menunjukkan hasil intermediet atau resisten terhadap satu atau lebih karbapenem dengan menggunakan *breakpoints* yang telah ditetapkan, dan biasanya resisten terhadap satu atau lebih golongan sefalosporin generasi 3 (sefoperazon, sefotaksim, seftriakson, seftazidim, seftizoksim).⁷ Laboratorium melakukan uji mCIM (*Modified Carbapenem Inactivation Method*) dengan atau tanpa eCIM, (*EDTA Carbapenem Inactivation Method*) CarbaNP dan atau uji molekuler untuk memperkirakan *Enterobacteriaceae* yang dicurigai menghasilkan enzim karbapenemase dengan menggunakan MIC *breakpoints* imipenem atau meropenem 2 – 4 ug/mL atau ertapenem 2 ug/mL.⁷

Tabel 2. Perbandingan Uji-uji yang Digunakan Untuk Mendeteksi Enzim Karbapenemase⁷

Tes	CarbaNP	mCIM	mCIM dengan eCIM	Molekuler
Organisme	<i>Enterobacteriaceae</i> dan <i>P. aeruginosa</i> yang resisten terhadap 1 atau lebih karbapenem	<i>Enterobacteriaceae</i> dan <i>P. aeruginosa</i> yang resisten terhadap 1 atau lebih karbapenem	<i>Enterobacteriaceae</i> yang positif dengan uji mCIM	<i>Enterobacteriaceae</i> dan <i>P. aeruginosa</i> yang resisten terhadap 1 atau lebih karbapenem, dan untuk menentukan tipe karbapenemase yang positif dari uji yang lain
Kelebihan	Cepat	Tidak membutuhkan reagen atau media khusus	Tidak membutuhkan reagen atau media khusus	dapat mendeteksi keberadaan karbapenemase dan tipenya
Keterbatasan	Membutuhkan reagen khusus Hasil invalid dapat terjadi pada beberapa isolat Beberapa tipe karbapenemase tidak selalu terdeteksi (OXA-48 yang dikode dikromosom)	Memerlukan inkubasi <i>overnight</i>	Memerlukan inkubasi <i>overnight</i>	Memerlukan reagen dan peralatan khusus target gen spesifik sehingga dapat memberikan hasil negatif palsu
Metode	Colorimetric microtube assay	Meropenem disk inactivation	Dikerjakan bila mCIM +, dengan EDTA 0,5 M	Deteksi target gen spesifik yang menghasilkan enzim karbapenemase
Pelaporan	Bila positif, laporkan semua karbapenem resisten	Karbapenemase positif bila zona hambat $\leq 6 - 15$ mm atau ada koloni pinpoint pada zona hambat 16 – 18 mm	Metalobetalaktamase positif Bila terdapat peningkatan zona ≥ 5 mm pada cakram meropenem+EDTA bila dibandingkan cakram meropenem	Hasil positif bila gen target terdeteksi

AmpC

AmpC β -lactamase merupakan enzim sefalosporinase yang menjadi fokus utama karena mempunyai kemampuan untuk resisten terhadap semua antibiotik beta-laktam seperti penisilin, sefalosporin, dan monobaktam kecuali karbapenem, sefepim, sefpirom.^{12,13} Pada *Enterobacteriaceae* enzim AmpC di kode oleh kromosom dan gen yang dimediasi oleh plasmid. Kebanyakan enzim AmpC yang dikode oleh kromosom dapat ditemukan pada *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* dan *Citrobacter spp.*¹⁴ Mayoritas dari gen AmpC yang dimediasi plasmid sering ditemukan pada isolat yang didapatkan dari infeksi nosokomial, seperti; *Escherichia coli*, *Klebsiella*

pneumonia, dan famili *Enterobacteriaceae*. Namun tidak semua famili *Enterobacteriaceae* membawa gen AmpC β -lactamase, contohnya adalah *Enterobacter aerogenes*.^{15,16}

Enzim ini mempunyai massa 34-40 kDa, masukkan kedalam kelas C β -lactamase.¹³ Masalah utama dalam deteksi AmpC pada bakteri gram negatif menggunakan uji fenotipik, sering ditemukan kesalahan interpretasi hasil.¹⁷ Oleh karena itu, masih terdapat kontroversi mengenai metode yang paling baik untuk mendeteksi bakteri penghasil AmpC.¹⁷

Terdapat beberapa uji fenotipik untuk skrining enzim AmpC β -lactamase seperti; cakram sefoksitin, D69C deteksi AmpC set, *cefotixin-cloxacillin double disc synergy test*

(CC-DDS) dan uji induksi AmpC.¹⁴ *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan uji genotipik yang dapat digunakan sebagai metode baku emas untuk mendeteksi keberadaan gen *AmpC*, namun metode ini tidak cocok untuk digunakan sebagai penggunaan rutin pada laboratorium mikrobiologi klinik karena dibutuhkan peralatan khusus untuk melakukan uji tersebut.^{16,18}

Gen *AmpC* dapat dibedakan dari *extended-spectrum* β -lactamase (ESBL) lainnya karena kemampuannya untuk menghidrolisa sefamisin (sefoksitin dan sefotetan) dan sefalosporin, sehingga jika didapatkan hasil uji resisten terhadap sefamisin dapat dijadikan bukti tidak langsung adanya gen *AmpC*, namun hasil ini masih kurang spesifik karena terdapat mekanisme lain yang dapat menghasilkan resistensi dari sefamisin.^{12,19}

Beberapa metode yang digunakan antara lain:¹⁴

1. Cakram sefoksitin. Uji ini dapat digunakan untuk skrining isolat bakteri yang memiliki gen *AmpC*. Isolat bakteri yang menunjukkan zona hambat dengan diameter ≤ 18 mm dikatakan positif untuk gen *AmpC*, oleh karena itu memastikan keberadaan gen tersebut. Karena meskipun sefoksitin bersifat stabil terhadap aktivitas berbagai enzim *beta lactamase* (seperti TEM-1, TEM-2 dan SHV-1), namun resistensi masih mungkin terjadi akibat perubahan dari membran luar bakteri.
2. D69C *AmpC detection set*. Uji ini menggunakan sefpodoksim sebagai skrining untuk mendeteksi baik *AmpC* yang dimediasi plasmid dan kromosom, maupun dengan keberadaan penginduksi *AmpC* atau inhibitor. Set deteksi terdiri dari tiga cakram, yaitu: cakram A (sefpodoksim 10 ug dan *AmpC inducer*), cakram B (sefpodoksim 10 ug, *AmpC inducer* dan ESBL inhibitor) dan cakram C (sefpodoksim 10 ug, *AmpC inducer*, ESBL inhibitor dan *AmpC inhibitor*). Isolat bakteri dinyatakan *AmpC* positif bila didapatkan zona hambat cakram C melebihi zona hambat cakram A dan B dengan selisih minimal 5 mm, dan negatif bila selisih zona hambat ≤ 3 mm. Jika zona hambat pada cakram B dan C melebihi zona hambat A dengan selisih minimal 5 mm, dan selisih ukuran zona hambat B dan C ≤ 4 mm, isolat dapat dikatakan *AmpC*

negatif, namun menunjukkan mekanisme resistensi yang berbeda.

3. *Cefoxitin-cloxacillin double disc synergy test* (CC-DDS). Uji ini dilakukan dengan dasar efek inhibisi cloxacillin pada penghasil *AmpC*. Isolat di inokulasikan pada MHA dan kemudian menggunakan 2 cakram yaitu cakram *cefoxitin-cloxacillin* (230 ug) dan cakram *cefoxitin* (30 ug). Bila setelah inkubasi didapatkan perbedaan zona hambat ≥ 4 mm antara cakram *cefoxitin-cloxacillin* dengan cakram *cefoxitin*, maka hasil uji diindikasikan sebagai penghasil enzim *AmpC*.
4. Uji Induksi *AmpC*. Klavulanat digunakan sebagai penginduksi untuk mendeteksi *AmpC beta lactamase* yang dimediasi oleh plasmid pada *Enterobacteriaceae* dengan metode difusi cakram ganda (*double disk diffusion test*). Cakram mengandung seftazidim (30 ug) dan aztreonam (30 ug) diletakkan dengan jarak 15 mm dari tepi cakram amoksisilin-klavulanat (30 ug) pada MHA. Hasil uji dinyatakan positif ketika zona hambat cakram seftazidim dan aztreonam menjadi mendatar pada daerah yang berdekatan dengan cakram amoksisilin-klavulanat.

Simpulan

Dari seluruh uji yang telah disebutkan, pemilihan untuk uji yang dapat dilakukan secara rutin untuk menunjang pemeriksaan klinis adalah uji cakram untuk deteksi ESBL, uji mCIM untuk deteksi karbapenemase, dan uji sefoksitin untuk uji deteksi *AmpC*. Uji mikrodilusi untuk ESBL lebih sulit untuk dikerjakan secara rutin walaupun dapat mendeteksi MIC. Jika pengujian MIC menggunakan metode pengujian otomatis menggunakan alat, cara interpretasinya akan berbeda akibat dari perbedaan jenis antibiotik yang digunakan.

Daftar Pustaka

1. Gupta G, Tak V, Mathur P. Detection of *Amp C* β lactamases in gram-negative bacteria. *J Lab Physicians*. 2014;6(1). doi:10.4103/0974-2727.129082
2. Savira M. Validitas metode konvensional modifikasi terhadap metode konvensional dan ChromIDTM ESBL untuk deteksi bakteri-bakteri penghasil extended-

- spectrum beta-lactamases. *J Ilmu Kedokt.* 2014;8(1):81-90.
3. Naelasari DN, Koendhori EB, Dewanti L, Sarassari R, Kuntaman K, Airlangga U. The prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing gut bacterial flora among patients in Dr . Soetomo Hospital and primary health centers in Surabaya. *Folia Medica Indones.* 2018;54(4):256-62.
 4. Tille PM. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.* 13th ed. Elsevier; 2014.
 5. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended spectrum beta-lactamases: definition, classification and epidemiology. *Curr Issues Mol Biol.* 2015:11-22.
 6. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical microbiology.* 8th ed. Elsevier Inc.; 2016.
 7. Clinical and Laboratory Standard Institute. M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standard Institute; 2018.
 8. Noël A, Huang T, Berhin C, et al. Comparative evaluation of four phenotypic tests for detection of carbapenemase-producing gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol.* 2017;55(2):510-58.
 9. Ruppelt A, Makarewicz O, Braun SD, et al. Rapid identification of carbapenemase genes in gram-negative bacteria with an oligonucleotide microarray-based assay. *PLoS One.* 2014;9(7). doi:10.1371/journal.pone.0102232
 10. Tsakris A, Poulou A, Bogaerts P, Dimitroulia E, Pournaras S, Glupczynski Y. Evaluation of a new phenotypic OXA-48 disk test for differentiation of OXA-48 carbapenemase-producing enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2015;53(4):1245-51. doi:10.1128/JCM.03318-14
 11. Bennet JO, Dollin R, Blaser MJ. *Infectious Diseases.* 8th ed. Elsevier Inc. 2015(1).
 12. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):161-82. doi:10.1128/CMR.00036-08
 13. Drieux-rouzet L, Golmard J, Jarlier V. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamase production by enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2011;49(3):1048-57. doi:10.1128/JCM.02130-10
 14. Khari M, Izzati F, Karunakaran R; Rosli R; Tee Tay S. Genotypic and phenotypic detection of AmpC β -lactamases in *Enterobacter spp.* isolated from a teaching hospital in Malaysia. *PLoS One.* 2016:1-12.
 15. Rand KH, Turner B, Seifert H, Hansen C, Johnson JA, Zimmer A. Clinical laboratory detection of AmpC beta-lactamase: does it affect patient outcome? *Am J Clin Pathol.* 2011;(Jan):572-6. doi:10.1309/AJCP7VD0NMAMQCWA
 16. Birgy A, Bidet P, Genel N, Doit C, Decre D, Arlet G, Bingen E. Phenotypic screening of carbapenemases and associated β -lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae.pdf. *J Clin Microbiol.* 2012:1295-1302.
 17. Helmy MM, Wasfi R. Phenotypic and molecular characterization of plasmid mediated AmpC β -lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Proteus mirabilis* isolated from urinary tract infections in Egyptian hospitals. *Biomed Res Int.* 2014:1-6. doi:http://dx.doi.org/10.1155/2014/171548
 18. Lutgring JD, Limbago BM. The problem of carbapenemase-producing-carbapenem-resistant- enterobacteriaceae detection. 2016;54(3):529-534. doi:10.1128/JCM.02771-15.Editor
 19. Tan TY, Siew L, Ng Y, He J, Koh TH, Hsu LY. Evaluation of screening methods to detect plasmid-mediated AmpC in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(1):146-9. doi:10.1128/AAC.00862-08