

PERBANDINGAN TINGKAT DETEKSI BAKTERI GRAM NEGATIF PENGHASIL KARBAPENEMASE PADA UJI CARBA NORDMANN POIREL (CARBA NP) DAN MODIFIED HODGE TEST (MHT)

Mulat Muliasih^{1*}, Andaru Dahesihdewi², Umi Solekhah Intansari³

1Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Malahayati
2Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada

*)Email Korespondensi: mulatmuliasih@gmail.com

Abstract: A Comparative Study of Carbapenemase Nordmann Poirel (Carba NP) and Modified Hodge Test (MHT) for Detecting Carbapenemase Production in Gram-Negative Bacteria. Carbapenems are considered one of the most reliable drugs for treating bacterial infections. Increase of using of the antibiotics leading to carbapenems resistance. The odds of dying were greater for carbapenemase-producers compared with non-carbapenemase-producer infection. Phenotypic test to identify carbapenemase producers in clinical laboratories is of major importance to define appropriate empirical antimicrobial therapy and to implement infection control measures. This study aimed to compare Modified Hodge Test (MHT) and Carba Nordmann Poirel (Carba NP) test in detecting carbapenemase production on Gram negative bacteria. This research is an analytic observational study with cross-sectional design. The subjects were clinical isolates from ward patients with susceptibility test result reported as carbapenem resistance Gram-negative bacteria. The isolates will be compared between Carba NP and MHT, kappa coefficient was calculated. The results showed a total of 75 Gram negative bacteria were isolated from 64 subjects, 74,66% (56/75) were positive for Carba NP and 70,66% (53/75) showed the presence of carbapenemase by MHT, p 0,549. Comparing MHT with Carba NP, the kappa coefficient was 0.6.

Keywords: Carbapenemase, Carba NP Test, Carbapenem Resistance, Gram Negative Infection, Modified Hodge Test

Abstrak: Perbandingan Tingkat Deteksi Bakteri Gram Negatif Penghasil Karbapenemase pada Uji Carba Nordmann Poirel (Carba NP) dan Modified Hodge Test (MHT). Penggunaan karbapenem yang tinggi pada infeksi bakteri Gram negatif menimbulkan resistansi dengan mekanisme terbanyak berupa produksi enzim karbapenemase yang menyebabkan kematian lebih tinggi daripada mekanisme lain. Diperlukan suatu uji fenotip pendeteksi penghasil karbapenemase yang bisa menentukan terapi dengan cepat dan mengontrol penyebaran infeksi. Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan potong lintang. Sampel berupa isolat klinis pasien bangsal dengan hasil tes kultur berupa patogen Gram negatif resistan karbapenem. Kriteria eksklusi yaitu sampel klinis berasal dari alat, hasil kultur polimikrobia, dan data rekam medis tidak lengkap. Isolat klinis diperiksa uji Carba NP dan MHT untuk dideteksi sebagai penghasil karbapenemase. Kemampuan kedua uji dibandingkan dan dihitung nilai *Kappa*. Hasil penelitian Carba NP mendeteksi karbapenemase 56 isolat (74,66%), tidak berbeda bermakna dengan uji MHT yang mendeteksi 53 isolat (70,66%), p 0,549. Nilai *Kappa* kedua metode 0,6.

Kata kunci: Bakteri Gram Negatif, Carba NP, MHT, Penghasil Karbapenemase, Resistan Karbapenem

PENDAHULUAN

Data infeksi secara global yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir dengan jumlah yang lebih banyak daripada infeksi Gram positif (Salam, 2023). Antibiotik yang sering menjadi pilihan terapi utama untuk infeksi bakteri Gram negatif adalah β -laktam, di mana karbapenem, salah satu subkelas β -laktam, dianggap sebagai antibiotik pilihan terakhir untuk infeksi ini (Lutgring dan Limbago, 2016). Karbapenem menjadi pilihan pengobatan utama untuk bakteri seperti *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, dan *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL (Ivanova, 2018). Meluasnya penggunaan karbapenem dalam praktik klinis mendorong berkembangnya resistansi terhadap antibiotik ini melalui beberapa mekanisme, yaitu produksi enzim β -laktamase, penurunan permeabilitas membran luar bakteri dengan peningkatan ekspresi dari AmpC/ESBL, dan peningkatan pompa efluks (Shinde *et al.*, 2017). Mekanisme yang paling banyak ditemukan adalah produksi enzim karbapenemase yang mampu menonaktifkan antibiotik β -laktam dengan menghidrolisis ikatan amida dari cincin β -laktam (Ivanova, 2018).

Enzim karbapenemase merupakan enzim β -laktamase spektrum luas yang mampu menghidrolisis karbapenem, penisilin, dan juga sefalosporin generasi pertama sampai ke empat. (Vasoo *et al.*, 2015). Sistem klasifikasi Ambler mengategorikan enzim β -laktamase menjadi 4 kelompok, yaitu A, B, C, D, berdasarkan domain katalisis pusat dan preferensi substrat. Enzim kelas A, B, dan D termasuk karbapenemase, sedangkan enzim kelas C menghidrolisis terutama sefalosporin (Nordmann dan Poirel, 2019). Karbapenemase Kelas A, C, dan D membutuhkan serin di lokasi aktifnya, sedangkan kelas B membutuhkan *zinc* untuk hidrolisis β -laktam. (Bush dan Fisher, 2011)

Bakteri Gram negatif penghasil karbapenemase harus mendapat perhatian lebih dibandingkan bakteri

dengan mekanisme resistansi lain. Hal ini disebabkan oleh virulensi yang lebih tinggi. Tingkat mortalitas pada bakteremia dalam 14 hari oleh *Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae* (CP-CRE) empat kali lebih tinggi dibandingkan nonCP-CRE (OR, 3.20; 95% CI, 1.06–9.61) (Tamma *et al.*, 2017).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23 tahun 2014 merekomendasikan *Modified Hodge Test* (MHT) sebagai uji skrining dan konfirmasi adanya produksi karbapenemase pada *Enterobacteriaceae* dengan sensitivitas dan spesifisitas lebih dari 90%. Uji Carba NP (*Carbapenemase Nordmann-Poirel*) merupakan uji fenotip lain yang direkomendasikan CLSI untuk mengetahui produksi karbapenemase pada bakteri Gram negatif. Ketersediaan uji deteksi awal bakteri Gram negatif penghasil karbapenemase merupakan suatu kebutuhan yang harus ada dalam pengendalian infeksi (Bialvaei *et al.*, 2016). Uji fenotip, baik MHT dan Carba NP, menggunakan alat dan bahan yang terjangkau di hampir semua laboratorium. Kedua uji tersebut dapat menjadi metode pilihan yang dapat diaplikasikan di laboratorium negara berpenghasilan rendah sebagai alternatif belum tersedianya peralatan laboratorium yang modern.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analisis dengan pendekatan *cross sectional* untuk membandingkan tingkat deteksi karbapenemase antara uji Carba NP dan uji MHT pada bakteri Gram negatif resistan karbapenem. Tingkat deteksi karbapenemase uji Carba NP dibandingkan dengan uji MHT dilakukan secara bebas dan tersamar. Komparasi tingkat deteksi Carba NP dan MHT dievaluasi menggunakan uji beda proporsi dan kesesuaiannya diuji dengan statistik *Kappa*. Penelitian ini telah lolos kaji etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan FKMK Universitas

Gajah Mada dengan nomor KE/FK/0147/EC/2020.

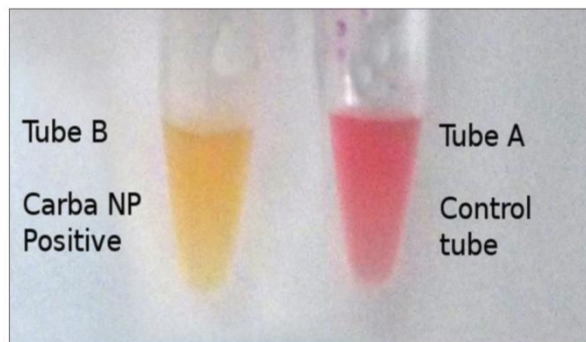
Penelitian dilaksanakan di Instalasi Laboratorium Terpadu Pelayanan Mikrobiologi Parasitologi RSUP Dr Sardjito Yogyakarta pada bulan Januari sampai Juli 2020. Subjek penelitian adalah pasien infeksi dengan hasil pemeriksaan tes kepekaan antibiotik berupa bakteri Gram negatif resistan karbapenem. Kriteria inklusi yaitu pasien rawat inap yang mengirim sampel klinis dengan hasil kultur dan tes kepekaan antibiotik menggunakan alat *microdilution broth* otomatis berupa patogen Gram negatif yang resistan karbapenem. Kriteria eksklusi yaitu pasien yang mengirim sampel klinis berupa swab alat medis, hasil kultur polimikrobia, dan data rekam medis tidak lengkap.

Uji Carba NP

Dua *microtube* (A dan B) berisi 100 µl *buffer* Tris-HCl (reagen ekstraksi protein bakteri) masing-masing ditambahkan isolat koloni yang akan diuji menggunakan ose 1 µl. Homogenisasi kedua *microtube* selama 5 detik dengan vortex, kemudian diinkubasi 30 menit. Larutan A (2 ml indikator fenol merah, 16,6 ml *distilled* H₂O, 2-3 tetes NaOH 0,1 N) sebanyak 100 µl ditambahkan ke *microtube* A dan larutan B (larutan A ditambah antibiotik imipenem cilastatin 6 mg/ml) sebanyak 100 µl ke *microtube* B. Kedua *microtube* dihomogenisasi dengan vortex, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Amati perubahan warna yang terjadi maksimal selama dua jam

Tabel 1. Interpretasi hasil uji Carba NP

Hasil	Tabung A + Larutan A	Tabung B + Larutan B
Karbapenemase negatif	Merah	Merah
Karbapenemase positif	Merah	Kuning



Gambar 1. Hasil positif uji Carba NP. Tabung A yang ditambah larutan A tidak ada perubahan warna, tabung B yang ditambah larutan B berubah menjadi kuning menandakan karbapenemase positif (Shinde et al., 2017).

Uji MHT

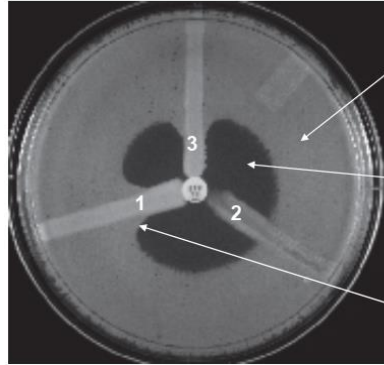
Suspensi *E. coli* ATCC 25922 0,5 Mc Farland (pengenceran 1:10) digoreskan ke agar *Mueller Hinton* dan biarkan kering selama 3-5 menit. Disk antibiotik ertapenem 10 µg diletakkan di tengah area agar. Kuman kontrol dan koloni yang diuji masing-masing sebanyak 3-5 koloni menggunakan ose 10 µl digoreskan pada agar mulai dari

tepi *disc* ertapenem secara lurus sampai ke tepi piringan. Bakteri yang diuji bisa sampai 4 jenis, tapi dalam 1 piringan hanya digunakan 1 *disc* antibiotik. Inkubasi semalam pada suhu 35° C ± 2° C. Amati peningkatan pertumbuhan pada goresan kuman kontrol dan bakteri yang diuji di persimpangan goresan dan zona hambatan.

Interpretasi hasil :

- Adanya peningkatan pertumbuhan menandakan ada produksi karbapenemase yang ditandai terbentuknya *clover shape*.

- Tidak adanya peningkatan pertumbuhan menandakan tidak ada produksi karbapenemase dan tidak terbentuk *clover shape*.



Gambar 2. Interpretasi hasil uji MHT (1) dan (3) Goresan koloni yang menghasilkan karbapenemase membentuk *clover shape* (2) Goresan koloni yang tidak menghasilkan karbapenemase tidak membentuk *clover shape* (Datta et al., 2017).

HASIL

Pada penelitian ini terkumpul 78 isolat klinis dengan hasil identifikasi kultur dan tes kepekaan antibiotik berupa bakteri Gram negatif resistan meropenem atau imipenem. Sampel yang dikeluarkan dari penelitian sebanyak 3 sampel yang terdiri dari 2

Data penelitian ini awalnya akan dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA*. Namun, karena sebaran data tidak normal (hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* $>0,05$) maka analisis data dilakukan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis*

sampel berasal dari alat medis (kateter vena umbilical dan kateter hemodialisis) dan 1 sampel sputum tumbuh polimikrobia (*K. pneumonia* dan *S. viridans*), sehingga didapatkan 75 isolat yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

didapatkan nilai *p* sebesar 0,010. Selanjutnya, dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan. Hasil uji *Kruskal-Wallis* tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Angka kepositifan deteksi karbapenemase

	n	Angka kepositifan karbapenemase n (%)	95% CI*	<i>p</i> **
Carba NP	75	56 (74,7%)	63,3-84	0,584
MHT	75	53 (70,7%)	59-80,6	

**Binomial exact calculation* ** Uji *Wilcoxon*

Tabel 3. Angka kepositifan deteksi karbapenemase berdasarkan spesies

Isolat (75)	Carba NP positif (%)	95% CI	MHT positif (%)	95% CI*	<i>p</i> **
<i>A. baumannii</i> (46)	34 (73,91%)	58,87-85,73	38 (82,60%)	68,85-92,18	0,472
<i>P. aeruginosa</i> (12)	10 (83,33%)	51,59-97,91	3 (25%)	5,49-57,19	0,004
<i>E. coli</i> (4)	4 (100%)	39,76-100	3 (75%)	19,41-99,37	0,285
<i>E. cloacae</i> (3)	2 (66,7%)	9,43-99,16	2 (66,7%)	9,43-99,16	1,0
<i>K. pneumoniae</i> (3)	2 (66,7%)	9,43-99,16	2 (100%)	29,04-96,33	1,0
Spesies lain (7)	4 (57,14%)	63,3-84,01	5 (71,42%)	59,02-80,62	0,591
Total	56 (74,7%)		53 (70,7%)		0,584

*Binomial exact calculation ** Uji Wilcoxon

Tabel 4. Kontingensi 2x2 kesesuaian metode Carba NP dan MHT

		Deteksi karbapenemase		Total
		MHT (+)	MHT (-)	
Deteksi karbapenemase	Carba NP (+)	48	8	56
	Carba NP (-)	5	14	19
Total		53	22	75

Persen *agreement* yang didapatkan sebesar 82,67%. Nilai *Kappa* sebesar 0,6 yang berarti kesesuaiannya dianggap sedang.

PEMBAHASAN

Isolat yang terdeteksi positif pada uji Carba NP sebanyak 56 isolat (74,66%) lebih banyak dibandingkan uji MHT yang mendeteksi 53 isolat (70,66%). Secara keseluruhan perbedaan hasil deteksi pada kedua uji dianggap tidak bermakna secara statistik. Selanjutnya, dilakukan analisis lebih rinci berdasarkan jenis bakteri ditampilkan Tabel 3 pada paragraf berikutnya.

Acinetobacter baumannii lebih banyak dideteksi oleh uji MHT daripada Carba NP, tapi tidak bermakna secara statistik (*p* 0,472). Ada beberapa alasan Carba NP tidak bekerja optimal pada *A. baumannii*. Pertama, *A. baumannii* memiliki permeabilitas membran luar yang rendah, sehingga uji Carba NP yang bergantung pada lisisnya sel dan keluarnya enzim karbapenemase tidak bisa mendeteksi dengan baik dan membutuhkan reagen ekstraksi yang berbeda. Kedua, karbapenemase yang

paling banyak diproduksi *A. baumannii* adalah OXA-type CHDLs merupakan karbapenemase dengan aktivitas yang lemah, berlawanan dengan enzim kelas A dan kelas B yang menghasilkan resistansi tingkat tinggi terhadap sebagian besar β -laktam. Tingginya resistansi pada strain *A. baumannii* yang memproduksi OXA-type CHDL juga disebabkan oleh keberadaan mekanisme resistansi lain, seperti mutasi porin atau efluks (Tamma dan Simner, 2018).

Berbeda pada isolat *P. aeruginosa*, uji Carba NP memiliki perbedaan kemampuan deteksi karbapenemase yang bermakna dari uji MHT. Uji Carba NP mampu mendeteksi 10 dari 12 isolat, sementara uji MHT hanya mendeteksi 3 dari 12 (*p* 0,004). Hal ini disebabkan uji Carba NP memiliki performa yang baik dalam mendeteksi karbapenemase kelas B yang banyak dihasilkan *P. Aeruginosa*, terutama VIM dan IMP (Pasteran, *et al.*, 2015; Simner *et al.*, 2017). Mekanisme hidrolisis karbapenemase oleh karbapenemase kelas B bergantung pada interaksi antara cincin β -laktam dengan ion *zinc* di situs aktif enzim. Penambahan ZnSO₄ pada larutan Carba NP memperkuat aktivitas

karbapenemase kelas B, sehingga meningkatkan sensitivitas Carba NP mendeteksi karbapenemase kelas B (Queenan and Bush, 2007; Shinde *et al.*, 2017).

Satu isolat *E. coli* terdeteksi oleh uji Carba NP, tapi negatif pada uji MHT. Uji MHT dilaporkan memiliki sensitivitas sangat rendah pada *Enterobacteriaceae* yang mengandung karbapenemase NDM-1, salah satu karbapenemase Ambler kelas B, yaitu sebesar 11% (Kuntaman *et al.*, 2018). Penelitian oleh (Girlich *et al.*, 2012) melaporkan 7 hasil negatif palsu dari 14 *Enterobacteriaceae* yang membawa gen karbapenemase NDM-1 pada uji MHT. Sensitivitas uji MHT untuk karbapenemase NDM-1 yang didapat pada penelitian tersebut hanya 50%. Penelitian lain di Surabaya membandingkan performa uji MHT dan PCR pada isolat *E. coli* penghasil VIM, yang juga termasuk karbapenemase Ambler kelas B, melaporkan uji MHT hanya mampu mendeteksi 6 isolat dari 12 isolat. Penelitian tersebut menyatakan uji MHT memiliki sensitivitas 50% dan spesifisitas 50% pada *E. coli* penghasil karbapenemase tipe VIM (Sutandhio *et al.*, 2018).

Isolat *K. pneumoniae* penghasil karbapenemase dapat dideteksi oleh kedua uji sebanyak 2 isolat. Temuan ini berbeda dari beberapa studi sebelumnya, di mana *K. pneumoniae* penghasil karbapenemase lebih banyak dideteksi oleh uji Carba NP dari pada MHT. Datta (2017) melaporkan uji Carba NP mendeteksi *K. pneumoniae* penghasil karbapenemase sebanyak 82,93% (68/82), sedangkan uji MHT mendeteksi 76,83% (63/82). Uji Carba NP memiliki performa deteksi yang baik pada *Enterobacteriaceae*, tapi pernah dilaporkan gagal mendeteksi *K. pneumoniae* yang membawa karbapenemase OXA 181, sedangkan uji MHT dilaporkan mampu mendeteksi OXA 181 pada *K. pneumoniae* (Shanthi *et al.*, 2013; Gauthier *et al.*, 2017).

Sebanyak 3 isolat *E. cloacae* yang ditemukan, hanya 2 isolat yang dapat dideteksi oleh kedua uji. Tujuh spesies bakteri lainnya ditemukan masing-masing sebanyak 1 isolat, yaitu *S.*

paucimobilis, *S. maltophilia*, *P. mirabilis*, *P. stuartii*, *P. penneri*, *Ps. putida*, dan *B.pseudomalei*. Baik pada uji MHT maupun Carba NP, keduanya tidak ada yang memberi hasil positif pada *S. paucimobilis* dan *Ps. Putida*. Hasil ini berbeda dari studi oleh (Dortet *et al.*, 2012) yang melaporkan uji Carba NP mampu mendeteksi *Ps. Putida* penghasil karbapenemase. *Pseudomonas putida* penghasil KPC-2 pernah ditemukan pada kasus infeksi pasien transplantasi hepar dan dilaporkan positif pada uji MHT (Bennett *et al.*, 2009). Hasil positif *S. maltophilia* hanya ditemukan pada uji MHT. Isolat *P. mirabilis*, *P. stuartii*, dan *P. penneri* ketiganya positif pada uji MHT dan Carba NP.

Persen *agreement* penelitian ini sebesar 82,67% dengan nilai *Kappa* 0,6 yang berarti kesesuaiannya sedang. Hasil dengan kategori yang sama dilaporkan oleh (Shinde *et al.*, 2017) yaitu 0,534. Penelitian tersebut mendapatkan *agreement* sebesar 83,5% (334/400). Hasil ini berbeda dengan studi Datta *et al.*, (2017) yang memperoleh nilai *Kappa* 0,45 yang menunjukkan kesesuaian cukup, dilaporkan 71.97% (95/132) hasil positif dan 10.6% (14/132) hasil negatif pada kedua tes. Ketidaksesuaian dapat disebabkan kelas enzim karbapenemase dan subjektivitas dalam menginterpretasikan hasil. Kelas enzim sangat mempengaruhi akurasi tes fenotipik. Uji Carba NP diketahui memiliki performa yang tinggi pada karbapenemase kelas A dan B, sementara uji MHT sangat baik mendeteksi karbapenemase kelas A, terutama KPC. Subjektivitas dalam interpretasi hasil ditemukan pada uji MHT. Penentuan *clover shape* terkadang perlu dibantu dengan kaca pembesar.

Pemilihan penggunaan uji fenotip karbapenemase harus mempertimbangkan epidemiologi kelas karbapenemase yang ada di wilayah tersebut. Terlepas dari keterbatasan penelitian ini yang tidak menyertakan diagnosis molekuler dari bakteri penghasil dan jenis karbapenemase, hasil penelitian ini dapat mengarahkan pemilihan uji fenotip menggunakan uji

Carba NP karena kemampuannya yang baik dalam mendeteksi karbapenemase kelas A dan B serta hasil dapat diperoleh lebih cepat, sehingga manajemen klinis dapat segera ditentukan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa Uji Carba NP mampu mendeteksi 56 isolat (76,6%) lebih banyak dari uji MHT 53 isolat (70,7%), tapi tidak signifikan. Berdasarkan jenis spesies, uji Carba NP mampu mendeteksi *P. aeruginosa* penghasil karbapenemase lebih banyak dari uji MHT secara signifikan. Uji Carba NP dan uji MHT memiliki tingkat kesesuaian yang sedang dalam mendeteksi bakteri Gram negatif penghasil karbapenemase.

DAFTAR PUSTAKA

- Bennett, J. W., Herrera, M. L., Lewis II, J. S., Wickes, B. W., Jorgensen, J. H. (2009). KPC-2-producing *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas putida* coinfection in a liver transplant recipient. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53(1):292–294.
- Bialvaei, A. Z. (2016). Current Methods for The Identification Of Carbapenemases Current Methods for The Identification Of Carbapenemases. *J Chemoter.* 28: 1-19.
- Bush, K & Fisher, J. F. (2011). Epidemiological Expansion, Structural Studies, and Clinical Challenges of New β -Lactamases from Gram-Negative Bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 65(1): 455–478.
- CLSI. (2019). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100. 29th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
- Datta, S, Dey, R, Dey, J.B & Gosh, S. (2017). A Comparative Study of Modified Hodge Test and Carba NP Test for Detecting Carbapenemase Production in Gram Negative Bacteria. *Med. J. DY Patil Vidyapeeth.* 10(4): 365.
- Dortet, L., Poirel, L., Nordmann, P. (2012). Rapid Detection of Carbapenemase Producing *Pseudomonas spp.* *J. Clin. Microbiol.* 50(11): 3773–3776.
- Gauthier, L., Bonnin, R.A., Dortet, L., Naas, T. (2017). Retrospective and prospective evaluation of the Carbapenem inactivation method for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *PLoS ONE:* 1–12.
- Girlich, D, Poirel, L & Nordmann, P. (2012). Value of The Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in *Enterobacteriaceae.* *J. Clin. Microb.* 50(2): 477–479.
- Ivanova, K. (2018). Carbapenemase Types and Detection. *Probl. Inf. Parasit. Dis,* 42(2).
- Kuntaman, K, Shigemura, K, Osawa, K, Kitagawa, K, Sato, K, Yamada, N, Nishimoto, K, Yamamichi, F, Rahardjo, D, Hadi, U, Mertaniasih, N. M, Kinoshita, S, Fujisawa, M & Shirakawa, T. (2018). Occurrence and Characterization of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacilli : A Collaborative Study of Antibiotic-Resistant Bacteria between Indonesia and Japan. *Int. J. Urol.* 25: 966-972.
- Lutgring, J. D & Limbago, B. M. (2016). The Problem of Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant-*Enterobacteriaceae* Detection. *J. Clin. Microb.* 54(3): 529–534.
- Nordmann, P & Poirel, L. (2019). Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin. Infect. Dis.* 69: Suppl 7: S521–S528.
- Pasteran, F, Tijet, N, Melano, R. G, Corso, A. (2015). Simplified Protocol for Carba NP Test for Enhanced Detection of Carbapenemase Producers

- Directly from Bacterial Cultures. *J. Clin. Microb.* 53(12): 3908–3911.
- Queenan, A. M & Bush, K. (2007). Carbapenemases : the Versatile β -Lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* 20(3): 440–458.
- Salam MA, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA & Alqumber MAA. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare.* 11(13):1946.
- Shanthi, M. Sekar, U., Arunagiri, K., Hemant, G. B. (2013). OXA-181 beta lactamase is not a major mediator of carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Diagn. Res.* 7(9) : 1986–1988.
- Shinde, S, Gupta, R, Raut, S. S, Nataraj, G & Mehta, P. R. (2017). Carba NP as a Simpler, Rapid, Cost-Effective, and a More Sensitive Alternative to Other Phenotypic Tests for Detection of Carbapenem Resistance in Routine Diagnostic Laboratories. *J Lab Physicians.* 9(2): 100.
- Simner, P. J, Johnson, K, Brasso, W. B, Anderson, K, Lonsway, D.R, Pierce, V.M, Bobenchik, A.M, Lockett, Z.C, Charnot-Katsikas, A, Westblade, L.F, Yoo, B.B, Jenkins, S.G, Limbago, B.M, Das, S & Roe-Carpenter, D.E. (2018). Multicenter Evaluation of The Modified Carbapenem Inactivation Method and The Carba NP for Detection of Carbapenemase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microb.* 56(1): 1–10.
- Sutandhio, S, Budiono, Hardiono, Kuntaman, Wasito, E. B & Lusida, M. I. (2018). Comparison of Phenotypic and Genotypic Profile of Carbapenemase Producing *Escherichia coli*. *Folia Med.* 54(1): 10.
- Tamma, P. D & Simner, P. J. (2017). Comparing The Outcomes of Patients with Carbapenemase-producing and Non-carbapenemase-producing Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* Bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* 64(3): 257–264.
- Tamma, P. D & Simner, J. (2018). Phenotypic Detection of Carbapenemase-producing Organisms from Clinical Isolates. *J. Clin. Microb.* 56(11): 1–13.
- Vasoo, S, Barreto, J. N & Tosh, P. K. (2015). Emerging Issues in Gram-Negative Bacterial Resistance: An Update for the Practicing Clinician. *Mayo Clinic Proceedings. Elsevier Inc,* 90(3): 395–403.