

Biofilm Pada Otitis Media Supuratif Kronik

Yan Edward¹, Dini Novianti²

^{1,2}Bagian Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher

Universitas Andalas/ RSUP dr. M. Djamil Padang

Email: dr.yanedward@gmail.com

ABSTRACT

A number of study find that clinically and complication of Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM) related with tipe of bacterial and change of bacterial adherence resulting biofilms. CSOM characterized by purulent discharge from perforated tympanic membrane that occur more than 2 months intermittent or persistent. There was new pattern of bacterial adherence with host. Bacterial adherence result a biofilms. Biofilms is slow growth bacterial colonies and enveloped by glycoplysacaride layer that called glycocalyx. Various methods to detect biofilm are Scanning Electron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM), Confocal Scanning Laser Microscopy (CSLM) and Calgary Biofilm Device Assay modification, tissue culture plate, tube method and congo red agar.

Keywords: Chronic suppurative otitis media, biofilm

ABSTRAK

Sejumlah penelitian menyebutkan bahwa gejala klinis dan komplikasi Otitis Media Supuratif Kronik (OMSK) berhubungan dengan tipe bakteri dan perubahan pola perlekatan bakteri dengan pembentukan biofilm. Otitis media supuratif kronik ditandai dengan keluarnya cairan purulen melalui membran timpani yang perforasi selama lebih dari 2 bulan baik intermiten ataupun persisten. Ditemukan suatu pola baru perlekatan kuman dengan permukaan *host*. Ikatan bakteri dengan permukaan *host* membentuk suatu biofilm. Biofilm merupakan koloni bakteri yang tumbuh perlahan dan dibungkus suatu lapisan glikopolisakarida yang disebut *glycocalyx*. Beberapa pemeriksaan untuk mendeteksi biofilm yaitu *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, *Transmission Electron Microscopy (TEM)*, *Confocal Scanning Laser Microscopy (CSLM)* dan modifikasi *Calgary Biofilm Device Assay*, kultur *plate* jaringan, metode *tube* dan agar congo red.

Kata kunci : Otitis Media Supuratif Kronik, biofilm

PENDAHULUAN

Otitis media supuratif kronik (OMSK) ditandai dengan keluarnya cairan melalui membran timpani yang perforasi selama lebih dari 2 bulan baik intermiten ataupun persisten.¹⁻⁴ Prevalensi OMSK secara global masih sedikit dilaporkan, tetapi diperkirakan 65-330 juta individu menderita OMSK.⁵ Prevalensi OMSK di Indonesia secara umum adalah 3,9%.² Sedangkan di Bagian Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher

(THT-KL) RSUP Dr.M.Djamil Padang periode Januari 2010 sampai Desember 2012 didapatkan 704 kasus OMSK tipe aman dan 82 kasus OMSK tipe bahaya.*

Patogenesis OMSK bersifat multifaktorial. Anatomi dan fungsi tuba Eustachius, kolesteatom, faktor lingkungan, genetik berperan dalam patogenesis OMSK. Otitis media akut (OMA) pada anak-anak memiliki resiko untuk berlanjut menjadi OMSK. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa

gejala klinis dan komplikasi OMSK berhubungan dengan tipe bakteri. Bakteri yang sering ditemukan pada OMSK adalah *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Bacteroides* dan *Proteus sp.*^{1,5,7,8}

Sejak lebih dari 20 tahun, ditemukan suatu pola baru perlekatan kuman dengan permukaan *host*. Ikatan bakteri dengan permukaan *host* membentuk suatu biofilm. Biofilm merupakan koloni bakteri yang tumbuh perlahan dan dibungkus suatu lapisan glikopolisakarida yang disebut *glycocalyx*. Peran biofilm pada penyakit infeksi semakin banyak dilaporkan. Akhir-akhir ini berbagai penelitian melaporkan peran biofilm pada infeksi kronis tonsil dan adenoid, rinosinusitis dan otitis media kronis.^{6,8-14}

Peran biofilm pada OMSK telah dilaporkan pada berbagai penelitian. H. Lampikoski et al¹⁵ mendapatkan 14 pasien (82%) biofilm positif dari 17 pasien OMSK dengan kolesteatom. Pada kelompok OMSK tanpa kolesteatom 5 (42%) dari 12 pasien menunjukkan adanya biofilm pada mukosa mastoid. Kaya et al⁶ melaporkan adanya biofilm pada 7 (70%) dari 10 pasien OMSK tanpa kolesteatom, 8 (61,5%) dari 13 pasien kolesteatom dan 6 (54,5%) dari 11 pasien otitis media non supuratif kronik. Biofilm dihubungkan dengan perubahan pola inflamasi pada telinga tengah. Penelitian tentang biofilm diperlukan untuk menentukan modalitas terapi dan prognosis keberhasilan terapi.^{6,7}

OTITIS MEDIA SUPURATIF KRONIK (OMSK)

Definisi

Otitis Supuratif Media Kronis (OMSK) adalah infeksi kronik telinga tengah yang

ditandai dengan keluarnya cairan purulen melalui membran timpani yang perforasi selama lebih dari 2 bulan baik intermiten ataupun persisten. Sekret dapat encer atau kental, bening atau pun nanah.¹⁻⁴

Klasifikasi

OMSK dibagi menjadi 2 tipe yaitu OMSK tipe aman dan OMSK tipe bahaya. OMSK tipe aman disebut tipe tubotimpanik karena sering didahului oleh gangguan fungsi tuba. Pada OMSK tipe aman tidak terdapat kolesteatom sehingga tidak menimbulkan komplikasi yang berbahaya.^{2,3}

OMSK tipe bahaya disebut juga tipe atikoantral atau *chronic suppurative otitis media with cholesteatoma*. Kolesteatom bersifat erosi pada tulang sehingga menimbulkan komplikasi yang berbahaya.^{1,3}

Epidemiologi

OMSK paling banyak dilaporkan di negara-negara berkembang. WHO membagi prevalensi OMSK secara global berdasarkan klasifikasi regional. Negara dengan prevalensi paling tinggi (>4%) yaitu Tanzania, India, Solomon Islands, Australia Aborigin dan Greenland. Negara dengan prevalensi tinggi (2-4%) adalah Nigeria, Angola, Korea, Thailand, Filipina, Malaysia, Vietnam, China dan Eskimo. Negara dengan prevalensi rendah (1-2%) yaitu Brazil dan Kenya. Negara dengan prevalensi paling rendah (<1%) adalah Gambia, Saudi Arabia, Israel, Australia, Inggris, Denmark, Finlandia dan Amerika.¹⁶

Patogenesis

Patogenesis OMSK adalah multifaktorial. Faktor lingkungan, genetik, anatomi dan karakteristik tuba Eustachius serta kolesteatom berhubungan dengan patogenesis OMSK.^{1,4,7,17}

Fliss et al yang dikutip dari M.Verhoeff et al⁴ mendapatkan adanya riwayat OMA, kondisi keluarga dengan banyak anak, anak-anak di tempat penitipan umum memiliki faktor resiko yang signifikan untuk terjadinya OMSK. A.O. Lasisi⁷ melaporkan bahwa faktor yang berperan pada OMSK adalah status sistem imun, faktor anatomi, dan adanya OMA sebelumnya.

Mekanisme pertahanan telinga tengah berhubungan dengan anatomi dan karakteristik tuba Eustachius. Tuba Eustachius memiliki 3 fungsi utama yaitu: (1) proteksi telinga tengah terhadap perubahan tekanan di nasofaring; (2) drainase sekresi telinga tengah ke nasofaring; (3) ventilasi telinga tengah untuk menjaga keseimbangan tekanan udara di telinga tengah dengan tekanan atmosfer. Gangguan pada fungsi tuba Eustachius menyebabkan inflamasi telinga tengah.^{1,4} Anatomi tuba Eustachius pada anak-anak berdiameter lebih kecil dan lebih horizontal dibanding dewasa. Hal ini memungkinkan kejadian infeksi telinga tengah lebih tinggi pada anak-anak.^{1,4}

Infeksi akut telinga tengah atau OMA akibat gangguan fungsi tuba dan karakteristik anatomi tuba dapat terjadi dalam 4 stadium yaitu hiperemis, eksudasi, supurasi dan resolusi. Pada keadaan supurasi dapat terjadi perforasi membran timpani dan terdapat otore. Apabila tidak terjadi resolusi yang sempurna, akan terjadi perforasi membran timpani persisten sehingga OMA berlanjut menjadi OMSK.^{1,4}

Kolesteatom adalah epitel skuamosa dan pengelupasan debris keratin yang terjebak di ruang timpanomastoid. Kolesteatom diklasifikasikan menjadi kolesteatom kongenital dan kolesteatom

didapat. Kolesteatom didapat dibagi menjadi tipe primer dan sekunder.^{1,17}

Teori kolesteatom didapat primer adalah invaginasi pada pars flaksida membran timpani. Retraksi pada membran Shrapnell membran timpani atau daerah posterosuperior pars tensa terjadi akibat adanya tekanan negatif yang persisten di telinga tengah. Retraksi semakin berat sehingga debris keratin terjebak yang menghasilkan kolesteatom. Teori kolesteatom didapat sekunder adalah hiperplasia sel basal, metaplasia, dan implantasi. Metaplasia terjadi akibat transformasi epitel kolumnar menjadi *keratinized stratified squamous epithel*. Teori implantasi berhubungan dengan trauma iatrogenik saat operasi, benda asing atau trauma.^{1,17} Kolesteatom bersifat erosi terhadap tulang sehingga dapat menimbulkan komplikasi berbahaya baik intratemporal maupun intrakranial.^{1,17}

Bakteriologi

Beberapa studi menunjukkan bahwa gejala klinis dan terjadinya komplikasi OMSK berhubungan dengan tipe bakteri. Proliferasi bakteri di telinga tengah menyebabkan proses inflamasi kronis dan kelembaban yang tinggi. Pola infeksi bakteri di telinga tengah adalah proses translokasi bakteri dari liang telinga dan nasofaring. Pada penelitian didapatkan bakteri yang diisolasi dari telinga tengah sama dengan bakteri pada liang telinga.⁵

Bakteri aerob atau anaerob didapatkan pada OMSK. Bakteri yang sering ditemukan pada OMSK adalah *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *K.pneumoniae*, *H.influenzae*, *Bacteroides* dan *Proteus sp.*^{1,4,5,7} Infeksi campuran bakteri aerob dan anaerob sering dilaporkan pada penelitian pada OMSK.⁵

BIOFILM

Definisi

Biofilm merupakan suatu koloni polimikroba yang berbentuk 3 dimensi dan menempel pada permukaan jaringan biologis atau non biologis termasuk jaringan tubuh manusia. Koloni polimikroba ini memiliki daya proteksi terhadap lingkungan dan daya resistensi terhadap organisme *host* akibat adanya matriks ekso polisakarida. Definisi biofilm berkembang terus seiring dengan kemajuan penelitian dan teknologi.^{9,18}

Tidak ada standar definisi biofilm. Beberapa penelitian mendeskripsikan biofilm sebagai suatu struktur 3 dimensi dilapisi *glycocalyx* yang melekat pada permukaan, memiliki resistensi terhadap antibiotik dan memiliki regulasi unik yang tidak dimiliki bakteri planktonik. Biofilm dapat ditemukan pada semua bakteri hidup.^{13,15,18,19}

Karakteristik Biofilm

Biofilm bakteri adalah suatu matriks ekstraseluler 3 dimensi yang dibentuk oleh protein, asam nukleat dan ekso polisakarida yang ditutupi oleh matriks polimer ekstraseluler yang diproduksi oleh bakteri itu sendiri. Biofilm terdiri dari bakteri dan matriks protein. Massa biofilm terdiri dari lebih dari 90% matriks dan 10% sisanya terdiri dari sel bakteri. Matriks biofilm merupakan struktur yang dinamis.^{6,8,20} Struktur biofilm memiliki pori-pori dan saluran air yang berfungsi sebagai nutrisi dan pembuangan melalui pertukaran produk dengan lingkungan luar secara aktif dan pasif.¹¹

Kompleksitas biofilm menyebabkan sel bakteri mampu bertahan pada berbagai lingkungan, memiliki proteksi terhadap aksi

makrofag, antibiotik, perubahan suhu dan pH. Biofilm 10 sampai 1000 kali lebih resisten terhadap antibiotik dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan oleh bakteri planktonik. Biofilm juga mampu menyebar membentuk kolonisasi pada daerah yang baru.^{8,20}

Pembentukan biofilm

Proses pembentukan biofilm bakteri terdiri dari beberapa tahap yang dimulai dengan akumulasi lapisan organik untuk menetralkan permukaan *host* sehingga bakteri dapat melekat. Saat terjadi perlekatan pada permukaan suatu perubahan akan terjadi dan grup gen diaktifkan yang akan menentukan fenotip dari biofilm. Proses komunikasi antar sel yang menginisiasi pembentukan biofilm disebut "*quorum sensing*".^{10,11,18,19}

Pembentukan biofilm terjadi ketika sel bakteri memasuki tubuh dan melekat pada endotel atau jaringan di dalam tubuh. Pada akhirnya biofilm membentuk matriks proteksi 3 dimensi yang berikatan *irreversible* dengan permukaan.²⁰

Pembentukan biofilm atau siklus hidup biofilm terdiri dari 5 langkah (gambar 1) yaitu:^{11,18,21-23}

- Tahap pertama (*Reversible attachment*) dimulai dengan perlekatan sel-sel bakteri secara *reversible* pada permukaan *host*. Pada tahap ini sel bakteri masih bisa lepas kembali dan belum terbentuk biofilm.
- Tahap kedua (*irreversible attachment*) adalah sel bakteri memproduksi berbagai *adhesin* yang melekatkan kompleks bakteri ke permukaan. Matriks ekso polisakarida diproduksi oleh kompleks bakteri. Pada tahap ini

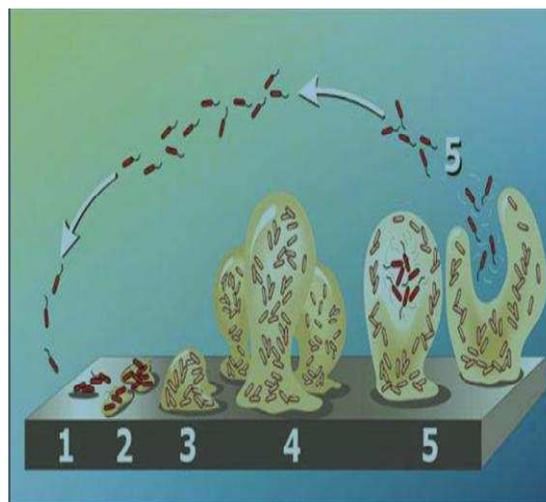
kompleks bakteri tidak dapat lepas kembali.

- Tahap ketiga (*Aggregation*) adalah terbentuknya mikrokoloni. Pada tahap ini terjadi peningkatan densitas dan kompleksitas dari keseluruhan biofilm. Hal ini disebabkan oleh mikroorganisme yang telah melekat pada permukaan mengalami replikasi/agregasi secara aktif.
- Pada langkah keempat (*maturation*) terjadi interaksi antara koloni bakteri dan matriks ekstraseluler yang dihasilkannya. Interaksi ini menghasilkan maturasi bentuk biofilm.
- Tahap kelima (*detachment*) adalah ketika biofilm mencapai massa kritis. Pada tahap ini terjadi pelepasan bakteri dari biofilm akibat proses fisik atau proses yang dihasilkan oleh biofilm sendiri untuk memelihara siklus bakteri.

Metode Pemeriksaan Biofilm

Scanning Electron Microscopy (SEM) dan *Transmission Electron Microscopy (TEM)*

Pemeriksaan biofilm menggunakan SEM dapat melihat gambar dengan magnifikasi tinggi, dengan detail struktur mikroskopik. Sedangkan TEM mampu menampilkan detail ultrastruktur biofilm. Kekurangannya adalah terbentuknya artefak sewaktu memproses sampel termasuk dehidrasi dan distorsi permukaan sel, membutuhkan potongan yang sangat kecil untuk dianalisa sehingga bisa menambah kesalahan bias *sampling*.¹²



Gambar 1. Siklus hidup biofilm²²

Confocal Scanning Laser Microscopy (CSLM)

Metode CSLM dapat memvisualisasi spesimen tanpa harus melalui proses fiksasi atau dehidrasi. Metode ini dapat meminimalisir kemungkinan perubahan bentuk biofilm, kemungkinan bisa mewarnai sel-sel bakteri atau jamur secara selektif dengan *marker* fluoresen, seperti *probe* yang digunakan untuk in situ hibridisasi (*fluorescent in situ hybridization* (FISH) atau *marker* asam nukleat untuk membedakan sel viabel dari non viabel.¹² Tetapi metode ini membutuhkan keahlian untuk spesifikasi bakteri yang dicari dan diperlukan biaya tambahan untuk identifikasi bakteri.⁸

Modifikasi *Calgary Biofilm Assay*

Modifikasi *Calgary Biofilm Assay* pertama kali digunakan untuk mengevaluasi resistensi biofilm terhadap antibiotik. Metode ini menggunakan *plate 96 well* untuk menilai biofilm pada *peg* bundar yang terletak diatas *plate*.²⁷ Kelebihan metode ini adalah banyak biofilm yang bisa dites, mudah digunakan dan relatif murah.²⁷

Metode *Plate Kultur Jaringan*

Metode ini merupakan tes kualitatif untuk menilai biofilm. Prinsip dari metode ini

adalah organisme diletakkan pada *plate* agar lalu diinokulasi, diwarnai dan dibaca dengan *micro ELISA autoreader*. Interpretasi menggunakan kriteria Stepanovic et al.²⁸

Metode Tube

Penilaian biofilm pada metode ini berdasarkan hasil kontrol pewarnaan. Pembentukan biofilm positif bila terlihat garis film pada dinding dan dasar *tube*. Metode ini diulang sebanyak 3 kali.²⁸

Metode Agar Congo Red

Metode *congo red* merupakan metode kualitatif sederhana untuk menilai pembentukan biofilm. Adanya koloni yang berwarna hitam menunjukkan adanya biofilm.²⁸

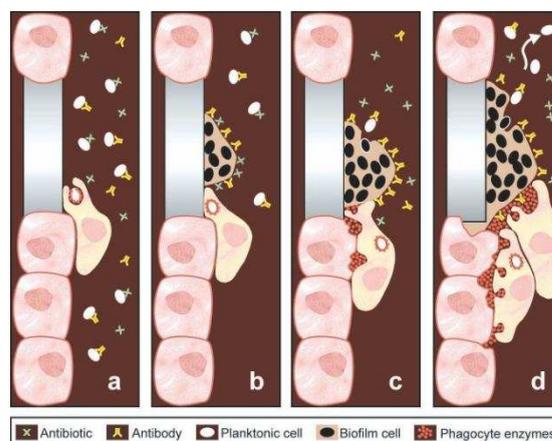
Biofilm dan Resistensi Antibiotik

Infeksi yang disertai adanya biofilm bakteri 10 - 1000 kali lebih resisten terhadap antibiotik dibandingkan infeksi yang tanpa pertumbuhan biofilm. Hal ini disebabkan oleh proses multifaktorial, antara lain: terhambatnya penetrasi antibiotik oleh matriks eksopolisakarida dari biofilm, perubahan lingkungan mikro dan berkurangnya angka pertumbuhan, perubahan ekspresi genetik, dan adanya sel yang bersifat persisten.^{19,20,30}

Bakteri planktonik akan menstimulasi pembentukan antibodi sebagai pertahanan pada suatu proses infeksi. Tetapi pada biofilm antibodi tidak efektif untuk membunuh bakteri (gambar 2). Terdapatnya matriks eksopolisakarida atau *glycocalyx* pada biofilm menghambat penetrasi antimikroba ke dalam biofilm. Matriks ini merupakan suatu morfologi unik yang menghasilkan resistensi intrinsik. Matriks juga berperan sebagai barrier difusi dan secara aktif berikatan dengan antibiotik. Antibiotik mengalami deaktivasi pada lapisan luar biofilm lebih cepat daripada berdifusi.

Antibodi yang inaktif dan deaktivasi antibiotik menyebabkan peningkatan resistensi.^{20,22,24,31}

Pada antibiotik, matriks akan menghambat pengeluaran substansi bakterisid dan mendegradasi antibiotik. Matriks memiliki muatan listrik negatif yang akan melindungi bakteri dari antibiotik yang bermuatan listrik positif. Matriks juga memiliki mekanisme pertahanan yang efektif melawan lisozim dan sistem komplemen.^{20,22,23}



Gambar 2. Sel bakteri planktonik dan biofilm terhadap antibiotik dan antibodi³⁰

Fase lambat pertumbuhan sel juga merupakan faktor protektif bagi biofilm. Pada fase lambat pertumbuhan sel beberapa antibiotik dapat masuk ke dalam sel bakteri tetapi antibiotik hanya bekerja pada fase cepat pertumbuhan sel.^{24,30}

Adanya sel persisten juga berperan dalam resistensi antibiotik. Sel persisten merupakan subpopulasi yang terdapat di dalam biofilm. Sel persisten tetap mampu bertahan pada pemberian antibiotik yang bersifat menghambat pertumbuhannya. Penelitian tentang peran gen spesifik pertama kali dilaporkan oleh Moyed dan Bertrand. Pada penelitian mereka didapatkan 3 lokus *high level persistence (hip)*. Semua mutan *hip* memproduksi sekitar 1000 kali lebih sel persisten. Penelitian lain menyebutkan bahwa

dalam kondisi lingkungan yang *high stress*, biofilm bakteri akan menghasilkan komponen bakterisid yang akan menyebabkan *release* nutrisi dan DNA untuk pertahanan sel.²³

Mekanisme lain yang diduga sebagai penyebab resistensi biofilm terhadap antibiotik adalah induksi fenotip biofilm, regulasi *quorum sensing* dan mutasi biofilm. Dari berbagai penelitian menunjukkan bahwa mekanisme resistensi berbeda-beda tergantung jenis bakteri pada biofilm dan jenis antibiotik yang digunakan.^{29,30,32}

Biofilm Pada OMSK

Berbagai penelitian telah dilaporkan mengenai infeksi telinga dihubungkan dengan keberadaan biofilm. Pada otitis media efusi, menunjukkan pengumpulan bakteri pada membran mukosa dalam suatu penelitian model otitis media dan DNA bakteri pada otitis media efusi dengan *polymerase chain reaction* (PCR) bahkan selama periode remisi infeksi.²³

Adanya biofilm pada OMSK dihubungkan dengan tingginya prevalensi dan kesulitan mengatasi infeksi pada OMSK. Pengetahuan mengenai aktivitas dan karakteristik biofilm dapat menjelaskan kronisitas OMSK.^{33,34}

Sejumlah penelitian telah dilaporkan mengenai peran biofilm pada OMSK. H.Lampikoski et al¹⁵ mendapatkan dengan pemeriksaan CSLM 14 pasien (82%) biofilm positif dari 17 pasien OMSK dengan kolesteatom. Pada kelompok OMSK tanpa kolesteatom 5 (42%) dari 12 pasien menunjukkan adanya biofilm pada mukosa mastoid.

Kaya et al⁶ menggunakan teknik SEM untuk menilai biofilm pada OMSK dengan dan tanpa kolesteatom serta pada otitis media non supuratif kronik. Hasil didapatkan biofilm

ditemukan pada 7 (70%) dari 10 pasien OMSK tanpa kolesteatom, 8 (61,5%) dari 13 pasien kolesteatom dan 6 (54,5%) dari 11 pasien otitis media non supuratif kronik.

Pinar et al²⁵ melaporkan 16 dari 10 pasien (72,7%) dari 22 pasien OMSK memiliki kultur positif. *S. aureus* diidentifikasi pada 5 pasien dan 11 pasien *P.aeruginosa*. Biofilm ditemukan pada 9 pasien (56,2%) diantara kultur positif. Pada kultur *S.aureus* 2 (40%) diantaranya biofilm positif, sedangkan pada *P.aeruginosa* biofilm positif pada 7 pasien (63,6%).

J.Saunders et al²⁶ menggunakan teknik SEM melaporkan biofilm ditemukan pada 3(60%) pasien dengan kolesteatom. Stoodley et al⁹ menggunakan teknik CSLM untuk identifikasi biofilm. Biofilm teridentifikasi pada 46 (92%) dari 50 mukosa telinga tengah anak-anak dengan OMSK.

Lee et al³⁴ pada penelitiannya menggunakan metode CSLM dan SEM mendapatkan adanya biofilm pada 6 dari 10 pasien. Homoe et al³³ melakukan penelitian yang dibagi 2 sesi. Pada sesi pertama didapatkan 4 dari 6 pasien OMSK menunjukkan kultur positif *S. aureus* dan secara mikroskopik biofilm positif. Pada sesi kedua, 8 dari 10 pasien menunjukkan biofilm.

Terapi Pada Biofilm

Kemajuan pengetahuan tentang fisiologi biofilm, pemahaman lebih lanjut tentang sifat bakteri, genetik dan molekul memungkinkan untuk mendapatkan terapi target. Memanipulasi proses *quorum sensing*, inhibisi transkripsi gen, perlekatan inisial, *sweeping* biofilm matur, pada bakteri individual atau kluster dapat menjadi strategi yang efektif untuk mencegah infeksi biofilm bahkan mencegah penyebarannya.²³

Bukti bahwa antibiotik konvensional tidak efektif untuk eradikasi biofilm telah dilaporkan pada penelitian terapi topikal. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa efek bioelektrik mampu meningkatkan aktivitas beberapa antimikroba terhadap bakteri tertentu pada biofilm. Hipotesis mekanisme kerja dari efek bioelektrik adalah penurunan kemampuan untuk mengikat agen antimikroba, peningkatan permeabilitas membran, augmentasi elektroforetik pada transport antimikroba, peningkatan hantaran oksigen ke biofilm, pembentukan oksidan, meningkatkan transport melalui elektroosmosis, dan peningkatan temperatur di dalam biofilm. Masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan terapi spesifik yang maksimal terhadap biofilm.^{35,36}

Berbagai penelitian menyimpulkan beberapa pendekatan untuk mencegah dan terapi pada *S. aureus* dan *S. epidermidis* yaitu :³⁷⁻³⁹

- **Anti-Biofilm Agents**

Perkembangan *anti biofilm agent* sangat cepat. *Anti biofilm agents* diantaranya adalah molekul-molekul kecil dan *matrix targeting enzymes*. Sejumlah molekul-molekul kecil dapat mengintervensi dan menghambat pembentukan biofilm.

Matrix targeting enzyme bekerja dengan merusak dan mendegradasi matriks polimer biofilm. Sejumlah penelitian menunjukkan adanya degradasi komponen matriks seperti polisakarida, eDNA dan protein. Enzim-enzim ini adalah *deoxyribonuclease I*, *lysostaphin*, α -*amylase*, *lyase* dan *lactonase*. Adanya enzim ini dapat berguna pada pemecahan antibiotik dan sebagai *anti biofilm agents*.

- **Pendekatan Bioteknologi**

Kemajuan di bidang bioteknologi dalam terapi biofilm menggunakan suatu *coating agent* meliputi *bactericidal/bacteriostatic coating* dan *anti adhesin coating*. Mengubah permukaan dari alat-alat medis merupakan fokus utama untuk mengurangi infeksi biofilm. *Anti adhesin coating* mencegah pembentukan biofilm pada stadium awal. Akan tetapi kompleksitas interaksi antara permukaan *coating* dengan bakteri dan protein *host* menyebabkan mekanisme pasti anti adhesin agents sulit diketahui.^{37,39-41}

Teori lain mengenai terapi biofilm ini adalah bakteriofag. Bakteriofag adalah virus yang menginfeksi bakteri. Bakteriofag dapat menginfeksi bakteri-bakteri tertentu dimana terdapat reseptor yang membuat ikatan bakteriofag-bakteri. Bakteriofag memiliki kemampuan untuk menyerang dan menginvasi ke dalam sel bakteri.⁴¹

Cielho et al⁴² melaporkan strategi menghambat biofilm dengan antibiotik golongan fluorokuinolon dikombinasikan dengan komponen *tea tree* yaitu T4ol. Kombinasi siprofloksasin dengan T4ol (T4ol - CIP) memberikan efek sinergis dan dapat berguna sebagai pilihan terapi untuk infeksi biofilm *P. Aeruginosa*.

KESIMPULAN

1. Gejala klinis dan komplikasi OMSK berhubungan dengan perubahan pola perlekatan bakteri membentuk biofilm.
2. Biofilm pada OMSK dihubungkan dengan kronisitas dan sebagai prognostik keberhasilan terapi.
3. Metode untuk mendeteksi biofilm yaitu *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, *Transmission Electron Microscopy (TEM)*,

Confocal Scanning Laser Microscopy (CSLM) dan modifikasi Calgary Biofilm Device Assay, metode plate kultur

jaringan, metode tube dan metode agar congo red.

Daftar Pustaka

1. William H, Slattery I. Pathology and Diseases of the Middle Ear. In: Glasscock M, Gulya A. Glasscock-Shambough Surgery of the Ear. Fifth edition. Spain: BC Denker Inc; 2003. p.422-33
2. Helmi. Otitis Media Supuratif Kronis. Dalam: Otitis Media Supuratif Kronis Pengetahuan Dasar Terapi Medik Mastoidektomi Timpanoplasti. Balai Penerbit FKUI. Jakarta;2005;55-72
3. Radang Telinga Tengah. Modul Telinga Tengah. Edisi I. Kolegium Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala Leher 2008
4. Verhoeff M, Sanders E, Erwin L, V.D Veen, M.M Rovers, A.G.M Schilder. Chronic suppurative otitis media: a review. International journal of pediatric otorhinolaryngology 2005;70:1-12
5. Aduda D.S.O, I.M. Macharia, P Mugwe, H.Oburra, B.Faragher et al. Bacteriology of chronic suppurative otitis media (CSOM) in children in Garissa district, Kenya: A point prevalence study. International journal of pediatric otorhinolaryngology 2013;77:1108-1
6. Kaya E, Dag I, Incesulu A, Gurbuz M, Acar M et al. Research article. Investigation of the presence of biofilm in chronic suppurative otitis media, nonsuppurative otitis media, and chronic otitis media with cholesteatoma by scanning electron microscopy. The scientific world journal 2013:1-6
7. Lasisi A.O., O.Olayemi, A.E. Irabor. Early onset otitis media: risk factors and effects on the outcome of chronic otitis media. Eur arch otorhinolaryngol 2008;265:765-8
8. Prince AA, Steiger JD, Khalid AN, Dogrhamji L, Reger C, Claire SE, et al. Prevalence of biofilm-forming bacteria in chronic rhinosinusitis. Am J Rhinol 2008;22:239-45
9. Palmer J. Bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology 2006;115(9)Suppl 196:35-9.
10. Sanclement JA, Webster P, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis. Laryngoscope 2005;115:578-82.
11. Galli J, Ardito F, Calo L, Mancinelli L, Imperiali M, Parrilla C, et al. Recurrent upper airway infections and bacterial biofilms. The Journal of Laryngology & Otolaryngology 2007;121:341-4.
12. Tamashiro E, Antunes MB, Palmer JN, Cohen NA, Anselmo-Lima WT. Implication of bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. BJID 2009;13(3):232-5
13. Stodley LH, Hu FZ, Gieseke A, Nistico L, Nguyen D, Hayes J, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle ear mucosa of children with chronic otitis media. JAMA 2006;296:202-11.
14. Calo L, Ardito F, Imperiali M, Basotti E, Fadda G, et al. Biofilm formation by Haemophilus influenzae isolated from adenotonsil tissue samples and its role in recurrent adenotonsillitis. Acta otorhinolaryngologica italica 2007;27:134-8.
15. Lampikoski H., A.Aarnisalo, J.Jero, T.J.Kinnari. Mastoid biofilm in chronic otitis media. Otolaryngology & neurotology 2012;33:785-8
16. Chronic Suppurative Otitis Media. Burden of Illness and Management Options. World Health Organization. Geneva, Switzerland.2004
17. Meyer T.A, Strunk C.L, Lambert P.R. Cholesteatoma. In: Bailey BJ, Johnson JT. Head and Neck Surgery-Otolaryngology, 5th edition. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins Publishers; 2014.p 2433-46
18. B.A. Annous, P.M. Fratamico, J.L. Smith. Quorum sensing in biofilm. Journal of Food Science. 2009;74:25-37

19. Antony A. Study of biofilm forming capacity of pathogen involved in chronic rhinosinusitis. Disertasi. Auckland: Auckland university of technology;2011.
20. P.Anastasiadis, K.Mojica, J.S.Allen, M.L.Matter. Detection and quantification of bacterial biofilms combining high frequency acoustic microscopy and targeted lipid microparticles. *Journal of nanobiotechnology*. 2014;12;1-11
21. Fux CA, Stoodley P, Stoodley LH, Costerton JW. Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev. Anti-infect Ther*. 2003;1(4):667-83.
22. Psaltis AJ. The role of bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. Disertasi. Department of surgery, Faculty of Health Sciences, The Queen Elizabeth Hospital/University of Adelaide, South Australia, 2008.
23. Mena Viveros N. Biofilms in otolaryngology. *Acta otorinolaringol*. 2014;65(1);47-52
24. Tiba M, Youssef T, Al-Ajlan A. Does bacterial biofilms have a role in the development of human chronic rhinosinusitis? *EJENTAS* 2009;10:1-4
25. Pinar E, Oncel S, Karagoz U, Sener G, Calli C, Tatar B. Demonstration of bacterial biofilms in chronic otitis media. *The mediteranian journal of otology*.2008;4;68-8
26. Saunders J, M. Murray, A.Alleman. Biofilms in chronic suppurative otitis media and cholesteatoma: scanning electron microscopy findings. *American journal of otolaryngology*. 2011;32;32-7
27. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read R, Morck D, Buret A. The Calgary biofilm device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J.Clin.Microbiol*. 1999;37(6):1771-6.
28. Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A et al. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis* 2011;15(4);305-11
29. Lawrence J.R., Swerhone D.W, Leppard G.G, Araki T, Zhang X et al. Scanning transmission x ray, laser scanning, and transmission electron microscopy mapping of the exopolymeric matrix of microbial biofilms. *Applied and environmental microbiology*. 2003;69:5543-53
30. Mah T.C, O'Toole G.A. Mechanism of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in microbiology*.2001;9(1):34-9
31. Costerton J.W, Stewart P.S, Greenberg E.P. Bacterial biofilm: a common cause of persistent infections. *Science*.1999;284:1318-22
32. Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International journals of antimicrobial agents*.2010;35:322-32
33. Homoe P, Bjarnsholt T,Wessman M, Sorensen H, Johansen H.K. Morphological evidence of biofilm formation in Greenlanders with chronic suppurative otitis media. *Eur arch otorhinolaryngol*.2009;266:1533-38
34. Lee M.R, Pawlowski K.S, Luong A, Furze A, Roland P.S. Biofilm presence in human with chronic suppurative otitis media. *Otolaryngology-head and neck surgery*.2009;141:567-71
35. Del Pozo JL, Rouse MS, Patel R. Bioelectric effect and bacterial biofilm. A systematic review. *Int J Artif Organs*. 2008;31(9):786-95.
36. Cortes ME, Bonilla JC, Sinisterra RD. Biofilm formation, control and novel strategies for eradication. In: Vilas AM,ed. *Science against microbial pathogens communicating current research and technological advances*. Brazil:Formatex;2011.p.896-905.
37. Chen M, Yu Q, Sun H. Review. Novel strategies for the prevention and treatment of biofilm related infections. *Int.J.Mol.Sci*.2013;14:18488-501
38. Aziz S, Aeron A. Bacterial biofilm: dispersal and inhibition strategies. *SAJ Biotechnology*;1(1):1-10
39. Taraszkiewics A, Fila G, Nakonieczna J. Review article. Innovative strategies to overcome biofilm strategies. *Biomed Research International*.2013;1-13

40. A.J.McBain, David A, Peter G. Emerging strategies for the chemical treatment of microbial biofilms. *Biotechnology and Genetic Engineering Review*.2000; 17:267-79
41. Cortez M, Bonilla J, Sinisterra. Biofilm formation, control and novel strategies for eradication. *Science against microbial pathogens:communicating current research and technological advances*.2011;896-905
42. Coelo F.L, Pereira M.O. Exploring new treatment strategies for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections based on plant essential oil. *Microbial pathogens and strategies for combining them: science, technology and education*.. 2013;83-9