

ABSTRACT

Every year, 15-20% of diabetes mellitus (DM) patients worldwide experience foot ulcers and most of them are complicated with biofilm infections. Complications led to amputation in 30% of patients, with a 14.8% mortality rate within one-year post-amputation. The Special Region of Yogyakarta is among four Indonesian provinces with the highest DM prevalence, according to the Ministry of Health's Basic Health Research report (RISKESDAS) in 2013 and 2018 (>3% prevalence in 2018).

This investigation explores the association between biofilm formation and the antimicrobial sensitivity patterns of diabetic foot ulcer bacteria with clinical features. Patients were cross-sectionally recruited from two Yogyakarta hospitals between October 2022 and May 2023. Foot ulcer swabs of DM patients ($n = 65$) were cultured, isolated, identified, and subjected to antimicrobial susceptibility tests (VITEK2[®] system). The biofilm formation capacity of each bacterial isolate was measured at 595 nm wavelength (*optical density* (OD₅₉₅); *microtiter plate biofilm assay* method with *crystal violet* staining).

Most of the patients were male (61.54%) with polymicrobial infections (56.92%), Wagner diabetic foot ulcer grade 2–5 (98.47%), and had no history of amputation (86.15%). The bacterial isolates ($n = 115$) were mostly Gram-negative (86.09%); *P. aeruginosa* (22.61%) and *E. coli* (20.87%) were the most prevalent. Gram-positive bacteria constituted 13.91% of the total, with *S. aureus* being the dominant species (10.43%). Almost all isolates ($n = 111$; 97.39%) were biofilm formers, and the majority (61 of 111) were the strong ones. Even though the proportion of non-MDR and MDR bacteria was similar (47.83% vs 46.09%), there was 6.09% of the population of possible XDR bacteria. The *WHO 2024 Priority Pathogen List* in this study includes CRA (100%), MRSA (58.33%), ESBL Enterobacterales (42.18%), CRPA (26.92%), and CRE (4.68%).

Strong biofilm-forming bacterial isolates with carbapenem resistance had a higher biofilm-formation capacity (OD₅₉₅) than strong biofilm-forming bacterial isolates sensitive to carbapenems ($p \leq 0.05$). Nevertheless, no statistical association was found between the biofilm formation capacity and factors such as bacteria types, multidrug resistance, history of amputation, wound length, or Wagner grade.

In conclusion, most of biofilm-forming bacteria from diabetic foot ulcers have low antibiotic sensitivity. Rational antibiotic therapy is important for diabetic foot ulcer patients.

Keywords: Type-2 diabetes mellitus, diabetic foot ulcers, biofilm, antimicrobial resistance, polymicrobial infections

INTISARI

Setiap tahun, 15-20% pasien diabetes mellitus (DM) di seluruh dunia mengalami ulkus kaki dan sebagian besar di antaranya melibatkan infeksi biofilm. Komplikasi berujung amputasi pada 30% pasien dengan mortalitas 14.8% dalam satu tahun pasca amputasi. Daerah Istimewa Yogyakarta merupakan salah satu dari empat provinsi dengan prevalensi DM paling tinggi se-Indonesia menurut laporan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan (KEMENKES) tahun 2013 maupun 2018 (prevalensi >3% pada 2018).

Penelitian deskriptif-analitik ini menggali keterkaitan antara kemampuan pembentukan biofilm dan pola kepekaan antimikroba isolat bakteri ulkus kaki diabetik dengan tampilan klinis. Pasien diambil sampelnya secara *cross-sectional* pada dua rumah sakit di Yogyakarta pada periode Oktober 2022 sampai dengan Mei 2023. Swab ulkus kaki pasien DM ($n = 65$) dikultur, diisolasi, diidentifikasi, dan dites pada panel uji kepekaan antimikroba (sistem VITEK2®). Kemampuan pembentukan biofilm tiap isolat bakteri diukur pada panjang gelombang 595 nm (*optical density* (OD₅₉₅); metode *microtiter plate biofilm assay* dengan pewarnaan *crystal violet*).

Sebagian besar pasien yang terlibat adalah laki-laki (61.54%) dengan infeksi polimikrobal (56.92%), derajat ulkus kaki diabetik Wagner 2–5 (98.47%), dan belum mengalami amputasi (86.15%). Isolat bakteri yang diperoleh ($n = 115$) sebagian besar merupakan bakteri Gram negatif (86.09%) dan didominasi oleh *P. aeruginosa* (22.61%) dan *E. coli* (20.87%). Bakteri Gram positif mencakup 13.91% dan didominasi oleh *S. aureus* (10.43%). Hampir seluruh isolat ($n = 111$; 97.39%) merupakan pembentuk biofilm dan sebagian besar (61 dari 111) merupakan pembentuk biofilm kuat. Meskipun proporsi bakteri non-MDR dan bakteri MDR setara (47.83% vs 46.09%), terdapat 6.09% populasi bakteri *possible* XDR. *Priority Pathogen List* WHO 2024 pada penelitian ini adalah CRA (100%), MRSA (58.33%), ESBL *Enterobacterales* (42.18%), CRPA (26.92%), dan CRE (4.68%).

Isolat bakteri pembentuk biofilm kuat dengan resistensi-karbapenem memiliki kekuatan pembentukan biofilm (OD₅₉₅) lebih tinggi daripada isolat bakteri pembentuk biofilm kuat yang masih sensitif dengan karbapenem ($p \leq 0.05$). Namun, keterkaitan secara statistik tidak teramati antara kekuatan pembentukan biofilm dengan faktor-faktor lainnya (jenis bakteri, resistensi obat, riwayat amputasi, lama luka, maupun derajat Wagner).

Sebagian besar bakteri pembentuk biofilm pada ulkus kaki diabetik memiliki kepekaan antibiotik yang rendah. Terapi antibiotik yang rasional penting bagi pasien ulkus kaki diabetik.

Kata kunci : diabetes melitus tipe 2, ulkus kaki diabetik, biofilm, resistensi antibiotik, infeksi polimikrobal