

Analisis Gen *Blavim*, *Blandm* dan *Blaimp* Carbapenemase dengan Alat Otomatis Vitek-2 dan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada Isolat Bakteri *Enterobacteriaceae* di RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang

Tia Sabrina¹, Erizka Rivani¹, Venny Patricia²

¹ Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang

² Departemen Mikrobiologi Klinik, RSUP Moh. Hoesin, Palembang
tia.sabrina@yahoo.co.id

Abstrak

Enterobacteriaceae merupakan flora normal pada saluran intestinal manusia yang paling sering menyebabkan penyakit pada manusia. Carbapenem merupakan antibiotik lini terakhir yang digunakan untuk mengobati infeksi berat yang diakibatkan oleh bakteri batang Gram negatif, seperti *Enterobacteriaceae*, namun terjadi peningkatan prevalensi infeksi yang diakibatkan oleh *Enterobacteriaceae* yang resisten terhadap carbapenem (CRE). Adapun gen yang mengkode pada CRE antara lain gen *blaVIM*, *blaNDM*, dan *blaIMP* dan deteksi pada gen-gen ini sangat penting dalam pencegahan dan penyebaran infeksi nosokomial di RS. Sampel yang digunakan adalah spesimen yang telah terdeteksi sebagai isolat bakteri *Enterobacteriaceae* yang *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dan terjadi resistensi terhadap obat golongan carbapenem (meropenem dan ertapenem) oleh alat otomatis yaitu VITEK 2 *compact system*. Sampel tersebut akan dilakukan proses PCR dengan teknik multiplex PCR untuk mengidentifikasi gen *blaVIM*, *blaNDM*, dan *blaIMP*. Sebanyak 43 sampel yang terdiri dari 33 sampel (76,7%) isolat bakteri ESBL dan 10 sampel (23,3%) isolat bakteri Carbapenemase, terdiri dari 29 sampel (67,4%) bakteri *Klebsiella pneumonia* dan 14 sampel (32,6%) bakteri *E. coli*. Sampel berasal dari darah (5 sampel/ 11,6%), sputum (16 sampel/ 37,2%), cairan peritoneum (1 sampel/ 2,3%), pus (4 sampel/ 9,3%), urin (12 sampel/ 28%), Swab (3 sampel/ 7%), jaringan (1 sampel/ 2,3%), dan feces (1 sampel/ 2,3%). Dari hasil PCR, gen yang teridentifikasi dari isolat bakteri *Enterobacteriaceae* sebanyak 28 sampel (65,11%) dari 43 sampel yang diperiksa. Sampel yang teridentifikasi tersebut terdiri dari 9 sampel (32,1%) isolat bakteri Carbapenemase dan 19 sampel (67,9%) isolat bakteri ESBL. Isolat bakteri *Enterobacteriaceae* yang teridentifikasi tersebut terdiri dari 15 sampel gen *blaNDM*, 17 sampel gen *blaVIM*, dan 4 sampel gen *blaIMP*.

Kata kunci: enterobacteriaceae, carbapenemase, gen *blaVIM*, *blaNDM*, *blaIMP*

Abstract

Enterobacteriaceae is a normal flora in human intestinal tract which the most frequently caused the disease in human. Carbapenem is the last lines of antibiotic which used to treat severe infection that caused by gram-negative bacilli bacteria, for example *Enterobacteriaceae*, but there is an increase prevalency of infection which caused by Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE). The gene that encoding CRE is *blaVIM*, *blaNDM*, and *blaIMP* gene. The detection of these genes are very important to prevent spreading the nosocomial infection at hospital. The samples are from the specimen which has detected as isolate of *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) *Enterobacteriaceae* bacteria and has occurred resistant to carbapenem group (meropenem and ertapenem) which detected by automatic equipment, VITEK 2 *compact system*. These samples will be processed by PCR with multiplex PCR technique to identify *blaVIM*, *blaNDM*, and *blaIMP* gene. There are 43 samples consist of 33 samples (76,7%) ESBL bacteria isolate and 10 samples (23,3%) Carbapenemase bacteria isolate, 29 samples (67,4%) are *Klebsiella pneumonia* and 14 samples (32,6%) *E. coli*. These samples were from blood (5 samples/ 11,6%), sputum (16 samples/ 37,2%), peritoneal fluid (1 sample/ 2,3%), pus (4 samples/ 9,3%), urine (12 samples/ 28%), swab (3 samples/ 7%), tissue (1 sample/ 2,3%), and feces (1 sample/ 2,3%). From the PCR result, the gene was identified from *Enterobacteriaceae* bacteria isolate was 28 samples (65,11%) from 43 samples. The identified samples consist of 9 samples (32,1%) Carbapenemase bacteria isolate and 19 samples (67,9%) ESBL bacteria isolate. The identified of *Enterobacteriaceae* bacteria isolate consist of 15 samples *blaNDM* gene, 17 samples *blaVIM* gene, and 4 sample *blaIMP* gene.

Keyword: enterobacteriaceae, carbapenemase, *blaVIM* gene, *blaNDM* gene, *blaIMP* gene

1. Pendahuluan

Enterobacteriaceae merupakan flora normal pada saluran intestinal manusia dan merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan penyakit pada manusia. Bakteri ini mudah menyebar antar manusia seperti melalui tangan, makanan dan minuman yang terkontaminasi. Bakteri tersebut juga mudah membawa material genetik melalui transfer gen secara horizontal yang diperantarai kebanyakan oleh plasmid dan transposon.¹

Pengobatan yang biasa dipakai untuk infeksi *Enterobacteriaceae* adalah golongan sefalosporin. Namun, karena terjadi peningkatan resistensi terhadap obat tersebut yang diakibatkan oleh extended spectrum β -lactamase (ESBL), maka carbapenem digunakan sebagai obat pilihan terapi.²

Carbapenem merupakan antibiotik lini terakhir yang digunakan untuk mengobati infeksi berat yang diakibatkan oleh bakteri batang Gram negatif, seperti *Enterobacteriaceae*. Tetapi pada beberapa dekade terakhir ini dilaporkan terjadi peningkatan prevalensi infeksi yang diakibatkan oleh *Enterobacteriaceae* yang resisten terhadap carbapenem.³ Ada dua faktor yang paling berperan dalam mekanisme terjadinya resistensi terhadap carbapenem yaitu produksi β -lactamase (sefalosporinase atau ESBL) dengan aktivitas carbapenemase yang tidak signifikan berkombinasi dengan penurunan permeabilitas yang diakibatkan oleh kehilangan atau perubahan porin dan yang kedua adalah produksi carbapenem yang menghidrolisis β -lactamase.¹

Sekarang resistensi terhadap carbapenem menjadi fokus utama di dunia, hal ini dikarenakan hubungannya dengan resistensi antibiotik golongan beta laktam dan golongan antibiotik lainnya seperti aminoglikosid, fluorokuinolon dan kotrimoksazol.⁴ Hal ini akan menurunkan kemungkinan untuk mengobati infeksi yang diakibatkan oleh strain yang resisten terhadap banyak obat (*multidrug-resistant*).⁵

Carbapenemase yang diproduksi oleh *Enterobacteriaceae* (NmcA) pertama kali

ditemukan pada tahun 1993.⁶ Kemudian berkembang penelitian tentang jenis carbapenemase dan telah teridentifikasi memiliki tiga kategori molekuler yaitu Kelas A Ambler, Kelas B dan Kelas D β -laktamase. Di dunia, tipe carbapenemase yang paling sering adalah tipe NDM, VIM dan IMP yang termasuk ke dalam molekuler kelas B dan KPC yang berhubungan dengan molekuler kelas A.⁷

Deteksi pada pasien yang terinfeksi dan carrier terhadap bakteri yang menghasilkan carbapenemase sangat penting. Hal ini berguna untuk pencegahan penyebaran bakteri dan pencegahan perkembangan infeksi nosokomial yang diakibatkan oleh *Enterobacteriaceae* penghasil carbapenemase. Studi mengenai ini masih sedikit dilakukan di rumah sakit-rumah sakit yang ada di Sumatera Selatan, khususnya kota Palembang, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan identifikasi gen *blaVIM*, *blaNDM* dan *blaIMP* carbapenemase dengan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* pada Isolat Bakteri *Enterobacteriaceae* di RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang.

2. Metode

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah spesimen yang telah terdeteksi sebagai isolat bakteri *Enterobacteriaceae* yang *Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)* dan terjadi resistensi terhadap obat golongan carbapenem (meropenem dan ertapenem) oleh alat otomatis yaitu VITEK 2 *compact system*. Sampel tersebut akan dilakukan proses PCR dengan teknik multiplex PCR untuk mengidentifikasi gen *blaVIM*, *blaNDM*, dan *blaIMP*.

Tabel 1. Primer yang digunakan dalam penelitian⁸

Nama Primer	Sekuensi Primer	Ann. Temp	Gen Target	Amplicon in bp
VIM – F	GATGGTGTGGTTCGCATA	48°C	<i>blaVIM</i>	390 bp
VIM – R	CGAATGCGCAGCACCAG			
IMP – F	GGAATAGAGTGGCTTAACTCTC		<i>blaIMP</i>	232 bp
IMP – R	GGTTTAAAYAAAACAACCACC			
NDM – F	GGTTTGCGGATCTGGTTTTTC		<i>blaNDM</i>	621 bp
NDM – R	CGGAATGGCTCATCACGATC			

Tabel 2. Tahapan PCR untuk Amplifikasi Gen *blaVIM*, *blaNDM* dan *blaIMP*⁹

Tahap Denaturasi Awal	95°C (2 menit)
Siklus PCR	35 siklus
Tahap Denaturasi	95°C (30 detik)
Tahap Annealing	60°C (30 detik)
Tahap Ekstensi	72°C (30 detik)
Tahap Ekstensi Tambahan	72°C (2 menit)

3. Hasil

Dari hasil pengumpulan sampel yang dilakukan, sampel yang terkumpul sebanyak 43 sampel yang terdiri dari 33 sampel (76,7%) isolat bakteri ESBL dan 10 sampel (23,3%) isolat bakteri Carbapenemase. Adapun isolat bakteri tersebut berasal dari 29 sampel (67,4%) bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan 14 sampel (32,6%) bakteri *E. coli*. Sampel-sampel tersebut berasal dari darah (5 sampel/ 11,6%), sputum (16 sampel/ 37,2%), cairan peritoneum (1 sampel/ 2,3%), pus (4 sampel/ 9,3%), urin (12 sampel/ 28%), Swab (3 sampel/ 7%), jaringan (1 sampel/ 2,3%), dan feces (1 sampel/ 2,3%).

Dari hasil PCR, gen yang teridentifikasi dari isolat bakteri *Enterobacteriaceae* sebanyak 28 sampel (65,11%) dari 43 sampel yang diperiksa. Sampel yang teridentifikasi tersebut terdiri dari 9 sampel (32,1%) isolat bakteri Carbapenemase dan 19 sampel (67,9%) isolat bakteri ESBL. Isolat bakteri *Enterobacteriaceae* yang teridentifikasi tersebut terdiri dari 15 sampel gen *blaNDM*, 17 sampel gen *blaVIM*, dan 4 sampel gen *blaIMP*.

Gen *blaNDM* yang teridentifikasi tersebut berasal dari 13 sampel isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan 2 sampel isolat bakteri *E. coli*. Sedangkan gen *blaVIM* berasal dari 16 sampel

isolat *Klebsiella pneumoniae* dan 1 sampel isolat bakteri *E.coli*. Dan gen *blaIMP* yang teridentifikasi berasal dari 3 sampel isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan 1 sampel isolat bakteri *E.coli*.

Adapun isolat bakteri *Enterobacteriaceae* yang teridentifikasi memiliki lebih dari satu gen ditemukan sebanyak 8 sampel (28,6%) dari 28 sampel yang teridentifikasi, yaitu 6 sampel teridentifikasi mengandung gen *blaNDM* serta *blaVIM*, 2 sampel teridentifikasi mengandung gen *blaVIM* serta *blaIMP*, dan tidak ada isolat yang mengandung gen *blaNDM* serta *blaIMP* secara bersamaan.

Tabel 3. Jenis isolat bakteri

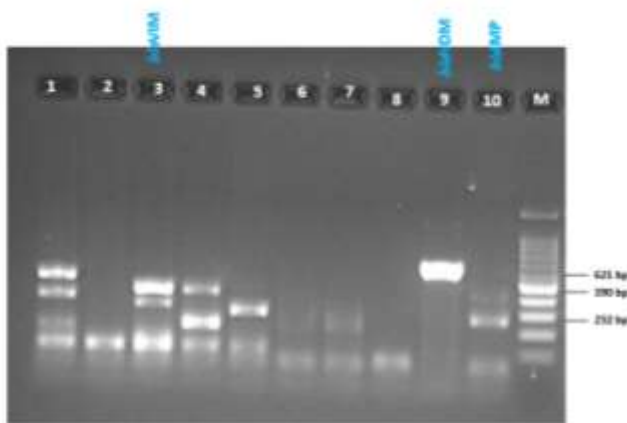
Isolat Bakteri	Jumlah	Persentase (%)
ESBL	33	76,7
Carbapenemase	10	23,3
Total	43	100

Tabel 4. Jenis Bakteri pada Sampel

Bakteri	Jumlah	Persentase (%)
<i>E. coli</i>	14	32,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29	67,4
Total	43	100

Tabel 5. Asal Sampel Spesimen Bakteri

Asal Sampel	Jumlah	Persentase (%)
Darah	5	11,6
Sputum	16	37,2
Cairan Peritoneum	1	2,3
Pus	4	9,3
Urin	12	28
Swab Jaringan	3	7
Feces	1	2,3
Total	43	100



Gambar 1. Hasil Pembacaan Elektroforesis Gen blaNDM, blaVIM dan blaIMP

4. Pembahasan

Isolat bakteri ESBL yang tidak teridentifikasi pada alat otomatis VITEK 2 compact system sebagai bakteri carbapenemase dalam hal ini *enterobacteriaceae* yang resisten terhadap carbapenem (*Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae*/CRE) ditemukan memiliki gen yang mengkode carbapenemase (44,1% dari sampel yang diperiksa). Pemeriksaan gambaran genotip didapatkan lebih tinggi (28 sampel dari 43 sampel/ 65,1%) dari pada pemeriksaan dengan gambaran fenotip (10 sampel dari 43 sampel/ 23,3%), sama dengan hasil penelitian yang dilakukan di Mulago National Referral Hospital Uganda.¹⁰ Sedangkan tingginya angka isolat bakteri

ESBL yang ditemukan ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta pada tahun 2011.¹¹ Peningkatan angka kejadian CRE dapat diakibatkan oleh ekspresi tingkat tinggi dari ESBL yang diikuti oleh perubahan ekspresi porin atau dengan istilah spesifik disebut enzim carbapenemase.⁷

Gen yang mengkode carbapenemase lebih banyak ditemukan pada isolat bakteri *Klebsiella pneumonia* dibandingkan pada isolat bakteri *E.coli*. Hal ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan di RSCM Jakarta pada tahun 2011.¹² Hal ini dapat diakibatkan oleh angka kejadian infeksi CRE di lingkungan rumah sakit sebagian besar disebabkan karena bakteri *Klebsiella pneumonia* dan *E. coli*.¹³

Hasil identifikasi gen *blaVIM* lebih banyak ditemukan pada isolat bakteri dibandingkan dengan gen *blaNDM* dan *blaIMP*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan di Mulago National Referral Hospital Uganda.¹⁰

5. Simpulan

1. Isolat bakteri *Enterobacteriaceae* yang resisten terhadap carbapenemase di RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang mencapai angka yang cukup tinggi.
2. Jenis bakteri *Enterobacteriaceae* yang paling banyak ditemukan sebagai CRE adalah *Klebsiella Pneumonia* (67,4%).
3. Gen *blaVIM* carbapenemase diidentifikasi paling banyak mengkode bakteri *Carbapenemase Resistant Enterobacteriaceae*/CRE (39,5%), diikuti oleh gen *blaNDM* dan gen *blaIMP*.

Daftar Acuan

1. Nordmann P., Naas T., Poirel L. 2011. Global Spread of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*. www.cdc.gov/eid.Vol.17 No.10, October 2011
2. Garbati M.A., Sakkijha H., Abushaheen A., 2016. Infection due to Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* among Saudi Arabian Hospitalized Patients: A Matched Case-Control Study. Hindawi Publishing Corporation. *BioMed Research International*. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3961684>
3. Centers for Disease Control and Prevention. 2013. Vital signs: Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, Vol.62 No.9, PP 165-170.
4. Souli M., Galani I., Giamarellou H. 2008. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe, *EuroSurveillance*, vol.13, no.47.
5. Giamarellou H., Poulakou G. 2009. Multidrug-resistant gram negative infections: what the treatment options?. *Drugs*, vol. 69, no.14, pp.1879–1901.
6. Naas T., Nordmann P. 1994. Analysis of a carbapenem hydrolyzing class A β -lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR – type regulatory protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol.91, no. 16, pp.7693–7697.
7. Bush K, Jacoby GA. 2010 Updated functional classification of betalactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 969-976.
8. Poirel, L., Walsh, T.R., Cuvillier, V., Nordman, P. 2011. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*; 70:119-123
9. Anoar KA, Ali KA, Omer SA. 2014. Detection of Metallo B-Lactamase Enzyme in Some Gram Negative Bacteria Isolated From Burn Patients in Sulaimani City, Iraq. *European Scientific Journal* January 2014 edition vol. 10, No.3.
10. Okoche, D. Asiimwe, B.B., Katabazi, F.A., Kato, L., Najjuka, C.F., 2015. Prevalence and Characterization of Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* Isolated from Mulago National Referral Hospital, Uganda. *PLoS ONE* 10(8): e0135745. doi:10.1371/journal.pone.0135745
11. Saharman, Y.R., Lestari, D.C. 2011. Phenotype Characterization of Beta Lactamase Producing *Enterobacteriaceae* in The Intensive Care Unit (ICU) of Cipto Mangunkusumo Hospital in 2011. *Acta Medika Indonesiana*.
12. Karuniawati, A., Saharman, Y.R., Lestari, D.C. 2011. Detection of Carbapenemase Encoding Genes in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* Isolated from Patients at Intensive Care Unit Cipto Mangunkusumo Hospital in 2011. *Acta Medika Indonesiana*. April. 2013.
13. Ehrhard, L., Karaalp, A.K., Hackel, T., Höll, G., Rodewald, N., Reif, U. 2014. Prevalence of Carbapenemase Producing Bacteria in Hospitals in Saxony, Germany. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 57:406–413. doi: 10.1007/s00103-013-1914-z. PMID:24658670