



CrossMark



# Prevalensi gen penyandi resisten Colistin *mcr-1* pada isolat *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) di RSUP Sanglah, Bali tahun 2018

Gusti Ayu Dianti Violentina<sup>1</sup>, Ni Nyoman Sri Budayanti<sup>2\*</sup>, Ida Sri Iswari<sup>3</sup>

## ABSTRACT

**Background:** Antimicrobial resistance (AMR) is a serious threat to health, both human and animal health. Antibiotic resistance in the Enterobacteriaceae family, especially the bacteria *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, is a special focus because it is caused by pathogenic Gram-negative bacteria found in humans. This study aims to study the prevalence of Colistin *mcr-1* resistant coding gene in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) isolates in Sanglah Hospital, Bali, in 2018.

**Methods:** This study was conducted in 2 stages, namely examination by PCR and telephone by sequencing. This study's object was the bacteria *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* ESBL in clinical isolates of the Clinical Microbiology Laboratory of Sanglah Hospital Denpasar-Bali. Data were analyzed using SPSS

version 20 for Windows.

**Results:** The results of this study indicate that the results of clinical examination of 300 isolates, most of the *K. pneumoniae* and *E. coli* specimens were found in urine (32.00%), followed by pus (24.00%), sputum (20.00%), blood (12.00%), and others (11.00%). Most of the *K. pneumoniae* infections were found in sputum (70.49%), pus (52.05%), and blood (70.27%) specimens. Of the 300 isolates obtained from the results, no isolates had the gene encoding colistin *mcr-1* resistance in clinical isolates tested molecularly.

**Conclusion:** From the results of this study, it can be concluded that the colistin *mcr-1* resistance coding gene was not found in the tested isolates.

**Keywords:** Antimicrobial resistance, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, Colistin, *mcr-1*.

**Cite This Article:** Violentina, G.A.D., Budayanti, N.N.S., Iswari, I.S. 2020. Prevalensi gen penyandi resisten Colistin *mcr-1* pada isolat *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) di RSUP Sanglah, Bali tahun 2018. *Intisari Sains Medis* 11(3): 1537-1540. DOI: 10.15562/ism.v11i3.820

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Antimicrobial resistance (AMR) merupakan ancaman serius di dunia kesehatan baik kesehatan manusia maupun hewan. Resistensi antibiotika pada family Enterobacteriaceae khususnya bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* menjadi fokus khusus karena keduanya merupakan bakteri Gram negatif patogen yang sering ditemukan pada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi prevalensi gen penyandi resisten Colistin *mcr-1* pada isolat *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) di RSUP Sanglah, Bali tahun 2018.

**Metode:** Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu identifikasi dengan PCR dan identifikasi dengan sekuensing. Objek dari penelitian ini ada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* ESBL pada isolat klinik Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP

Sanglah Denpasar-Bali. Data dianalisis dengan SPSS versi 20 untuk Windows.

**Hasil:** Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan terhadap 300 isolat klinis sebagian besar specimen *K. pneumoniae* dan *E. coli* ditemukan pada urin (32,00%), diikuti dengan pus (24,00%), sputum (20,00%), darah (12,00%), dan lain-lain (11,00%). Sebagian besar infeksi *K. pneumoniae* ditemukan pada spesimen sputum (70,49%), pus (52,05%), dan darah (70,27%). Dari 300 isolat yang diperiksa didapatkan hasil bahwa tidak ada isolat yang memiliki gen penyandi resistensi colistin *mcr-1* pada isolat klinik yang diujikan secara molekuler.

**Kesimpulan:** Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa gen penyandi resisten colistin *mcr-1* tidak ditemukan pada isolat yang diuji.

**Kata kunci:** Antimicrobial resistance, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, Colistin, *mcr-1*.

**Sitasi Artikel ini:** Violentina, G.A.D., Budayanti, N.N.S., Iswari, I.S. 2020. Prevalensi gen penyandi resisten Colistin *mcr-1* pada isolat *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) di RSUP Sanglah, Bali tahun 2018. *Intisari Sains Medis* 11(3): 1537-1540. DOI: 10.15562/ism.v11i3.820

<sup>1</sup>Magister Biomedik Pasca Sarjana, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia;

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, RSUP Sanglah, Bali, Indonesia;

<sup>3</sup>Instalasi Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, RSUP Sanglah, Bali, Indonesia.

\*Korespondensi:

Ni Nyoman Sri Budayanti; Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, RSUP Sanglah, Bali, Indonesia;

nyomansribudayanti@gmail.com

Diterima: 17-07-2020

Disetujui: 03-11-2020

Diterbitkan: 01-12-2020

## PENDAHULUAN

*Antimicrobial resistance* (AMR) merupakan ancaman serius di dunia kesehatan baik kesehatan manusia maupun hewan.<sup>1</sup> Pada tahun 2013, angka kematian karena AMR di dunia mencapai 700.000 orang pertahun, angka ini diperkirakan akan meningkat drastis menjadi 10 juta orang pertahun di tahun 2050.<sup>1</sup>

Bakteri dari *Enterobacteriaceae* digunakan sebagai indikator penyebaran gen resisten pada lingkungan dan inang yang berbeda karena kemampuan fleksibilitas *Enterobacteriaceae* dalam menerima atau mengurangi gen melalui penyebaran secara horisontal menyebabkan kelompok bakteri ini dapat membawa berbagai macam gen resisten terhadap antibiotik.<sup>2</sup>

Meningkatnya jumlah prevalensi *multidrug-resistance Enterobacteriaceae* menyebabkan colistin mulai banyak dipertimbangkan untuk terapi infeksi bakteri Gram negatif pada manusia.<sup>3</sup> Colistin termasuk dalam antibiotik spektrum luas karena dapat digunakan untuk bakteri Gram negatif yang sering sebagai penyebab infeksi pada manusia.<sup>3</sup> Pada bidang kesehatan manusia, saat ini colistin digunakan sebagai pilihan terakhir terapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang *multidrug-resistance* khususnya bakteri penghasil enzim karbapenemase.<sup>3</sup>

Resistensi antibiotika pada *family Enterobacteriaceae* khususnya bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* menjadi fokus yang khusus karena keduanya merupakan bakteri Gram negatif patogen yang sering ditemukan pada manusia.<sup>2,3</sup> Gen *mcr-1* merupakan salah satu gen penyandi resisten colistin.<sup>4</sup> Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa telah ditemukan tentang mekanisme resistensi colistin yang dimediasi oleh plasmid pada *E. coli* dimana membawa gen penyandi resisten colistin *mcr-1*.<sup>5</sup> Temuan gen *mcr-1* yang mulai menyebar secara global merupakan suatu hal yang patut dimonitor secara hati-hati. Risiko terjadinya panresisten bakteri pada dunia kedokteran manusia dan hewan akan

menjadi meningkat karena gen *mcr-1* ditemukan di bakteri yang penting secara medis yaitu kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* terutama *E. coli* dan *K. pneumoniae*. Untuk itu, dibutuhkan data awal keberadaan dan prevalensi *mcr-1* pada manusia. Selain itu, dibutuhkan data untuk memperkirakan cara penyebaran gen penyandi resisten colistin sehingga intervensi yang dapat dilakukan untuk mencegah penyebaran lebih luas. Berkaitan dengan pemaparan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi prevalensi gen penyandi resisten Colistin *mcr-1* pada isolat *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli Extended-Spectrum Beta-Lactamases* (ESBL) di RSUP Sanglah, Bali tahun 2018.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan pendekatan potong lintang (*Cross-sectional*) terhadap 300 isolat klinik *K. pneumoniae* dan *E. coli* ESBL yang digunakan sebagai objek penelitian ini. Isolat didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah dari Bulan Januari – Juni 2018. Ke 300 isolat ini disubkultur terlebih dahulu pada media TSB. Setelah inokulasi tumbuh, dilakukan ekstraksi DNA dengan menggunakan *Chelex*.<sup>6</sup> Primer yang digunakan pada penelitian ini adalah primer *mcr-1*.<sup>7</sup>

Amplifikasi DNA dilakukan dimulai dari *Pre-PCR* selama 3 menit pada suhu 95°C, PCR diulang sebanyak 38 siklus dengan tahapan *denaturasi* selama 1 menit dengan suhu 95°C, *annealing* selama 1 menit dengan suhu 52°C, dan *extention* selama 1 menit dengan suhu 72°C, setelah 38 siklus mesin akan melakukan *Post PCR* selama 5 menit dengan suhu 72°C.

Variabel yang dinilai pada penelitian ini adalah evaluasi prevalensi prevalensi gen penyandi resisten Colistin *mcr-1* pada isolat *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli Extended-Spectrum Beta-Lactamases* (ESBL) di RSUP Sanglah, Bali tahun 2018. Data dianalisis dengan piranti lunak SPSS versi 20 untuk Windows.

**Tabel 1.** Evaluasi spesimen *K. pneumoniae* dan *E.coli* ESBL dan hasil PCR

Spesimen	Infeksi (N=300)		Persentase (%)	Hasil PCR <i>mcr-1</i>
	<i>K. pneumoniae</i> (N=155)	<i>E. coli</i> (N=145)		
Sputum, n (%)	43 (70,49)	18 (29,51)	20,00	-
Urin, n (%)	32 (32,98)	65 (67,02)	32,00	-
Pus, n (%)	38 (52,05)	35 (47,95)	24,00	-
Darah, n (%)	26 (70,27)	11 (29,73)	12,00	-
Lain-Lain, n (%)	16 (50,00)	16 (50,00)	11,00	-

## HASIL

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan terhadap 300 isolat klinis sebagian besar specimen *K. pneumoniae* dan *E. coli* ditemukan pada urin (32,00%), diikuti dengan pus (24,00%), sputum (20,00%), darah (12,00%), dan lain-lain (11,00%). Sebagian besar infeksi *K. pneumoniae* ditemukan pada specimen sputum (70,49%), pus (52,05%), dan darah (70,27%) (Tabel 1).

Berdasarkan hasil pemeriksaan dan analisa basa, 300 isolat klinis *K. pneumoniae* dan *E. coli* ESBL menunjukkan hasil negatif, sehingga dapat dikatakan isolat yang diuji tidak mempunyai gen *mcr-1*. Pada penelitian ini, tidak dilakukan uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik colistin sehingga tidak diketahui apakah isolat yang digunakan merupakan bakteri yang resisten atau tidak dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) standar (Tabel 1)

## PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan oleh Cao L et al., dan Wise MG et al., menunjukkan hasil walaupun sampel yang dijadikan sebagai objek penelitian merupakan bakteri yang resisten terhadap colistin namun tidak semua memiliki gen penyandi resisten colistin *mcr-1*.<sup>8,9</sup> Gen penyandi resisten colistin tidak hanya gen *mcr-1* melainkan ada gen *mcr* yang lain. Terdeteksi 5 jenis *mcr* yang menyandi resisten colistin pada penelitian yang dilakukan oleh Wise MG et al., yaitu *mcr-1*, *mcr-1.2*, *mcr-1.5*, *mcr-3*, *mcr-3.1* dan *mcr-3.2*.<sup>9</sup>

Gen *mcr-1* biasanya dapat ditemukan pada bakteri yang memiliki gen penyandi resisten antibiotik yang lain seperti ESBL.<sup>10</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Lin dan timnya, 6 isolat yang memiliki gen *mcr-1* merupakan bakteri ESBL yang masih rentan terhadap antibiotik golongan karbapenem.<sup>8</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Frederic dan timnya pada tahun 2016, ditemukan 2 isolat positif *mcr-1* pada sampel *E. coli* ESBL, 1 isolat memiliki plasmid replicon *IncII*, *IncX1*, dan *IncI2* sedangkan 1 isolat lainnya memiliki plasmid replicon yg berbeda yaitu *IncFII*, *IncFIA*, *IncFIB* dan *IncI2*.<sup>11</sup>

Gen *mcr-1* dapat ditemukan pada plasmid bakteri. Pada Penelitian yang dilakukan oleh Bilal H et al., bakteri *K. pneumoniae* yang ESBL diekstraksi hingga mendapatkan plasmid DNA.<sup>12</sup> Sudah lebih dari 10 plasmid yang diketahui membawa gen *mcr-1*, seperti *IncX4*, *IncI2*, *IncP*, *IncX3-IncX4*, *IncFII*, *IncI2-IncFIB*, *IncFI*, *IncX1-IncX2*, *IncHII* dan *IncHI2*.<sup>12</sup> Plasmid – plasmid ini membawa tidak hanya gen *mcr-1* saja, tetapi juga membawa

gen resisten antibiotik yang lain, yang dapat menyebabkan terjadinya multiple resisten terhadap antibiotik.<sup>13</sup> Selain plasmid yang disebutkan diatas, *mcr-1* juga dapat bertransmisi ke strain yang berbeda karena adanya *ISApI1* yang merupakan plasmid yang bisa berpindah tempat (*mobilized*).<sup>8</sup>

Penelitian terhadap bakteri yang resisten terhadap colistin sudah dilakukan pada peternakan dan juga pasar, namun belum ada penelitian yang dilakukan untuk mendata resistensi colistin yang terjadi pada manusia di Denpasar ini. Karena penelitian ini adalah penelitian paling dasar, diharapkan pada penelitian berikutnya mempersiapkan lebih matang, seperti jumlah sampel yang lebih banyak dan bervariasi, isolat sudah diuji sensitivitasnya terhadap antibiotika colistin dan tidak hanya pada bakteri yang ESBL.

## SIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa gen penyandi resisten colistin *mcr-1* tidak ditemukan pada isolat yang diuji. Sebagian besar infeksi *K. pneumoniae* ditemukan pada spesimen sputum, pus, dan darah. Sedangkan infeksi *E. coli* ditemukan dominan pada spesimen urin.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penulisan laporan penelitian ini.

## ETIKA PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik sebelum penelitian berjalan dari Komisi Etik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, RSUP Sanglah, Bali, Indonesia sebelum penelitian berjalan.

## PENDANAAN

Tidak ada.

## KONTRIBUSI PENULIS

Seluruh penulis memiliki kontribusi yang sama dalam penulisan laporan penelitian ini baik dari penyusunan kerangka konsep, pengambilan sampel, analisis data, hingga interpretasi hasil penelitian dalam bentuk publikasi ilmiah.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Trecarichi EM, Pagano L, Candoni A, Pastore D, Cattaneo C, Fanci R, et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicentre prospective survey. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(4):337-43.

2. Stewardson AJ, Renzi G, Maury N, Vaudaux C, Brossier C, Fritsch E, et al. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital food: a risk assessment. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35(4):375-83.
3. Yao X, Doi Y, Zeng L, Lv L, Liu JH. Carbapenem-resistant and colistin-resistant *Escherichia coli* co-producing NDM-9 and MCR-1. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(3):288-9.
4. Eiamphungporn W, Yainoy S, Jumderm C, Tan-Arsuwongkul R, Tiengrim S, Thamlikitkul V. Prevalence of the colistin resistance gene *mcr-1* in colistin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from humans in Thailand. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;15:32-35.
5. Lalaoui R, Djukovic A, Bakour S, Sanz J, Gonzalez-Barbera EM, Salavert M, et al. Detection of plasmid-mediated colistin resistance, *mcr-1* gene, in *Escherichia coli* isolated from high-risk patients with acute leukemia in Spain. *J Infect Chemother*. 2019;25(8):605-609.
6. Walsh PS, Metzger DA, Higushi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques*. 2013;54(3):134-139.
7. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161-8.
8. Cao L, Li X, Xu Y, Shen J. Prevalence and molecular characteristics of *mcr-1* colistin resistance in *Escherichia coli*: isolates of clinical infection from a Chinese University Hospital. *Infect Drug Resist*. 2018;11:1597-1603.
9. Wise MG, Estabrook MA, Sahm DF, Stone GG, Kazmierczak KM. Prevalence of *mcr*-type genes among colistin-resistant Enterobacteriaceae collected in 2014-2016 as part of the INFORM global surveillance program. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195281.
10. Schwarz S, Johnson AP. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(8):2066-2070.
11. Robin F, Beyrouthy R, Colot J, Saint-Sardos P, Berger-Carbonne A, Dalmasso G, et al. MCR-1 in ESBL-producing *Escherichia coli* responsible for human infections in New Caledonia. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(3):946-947.
12. Bilal H, Hameed F, Khan MA, Khan S, Yang X, Rehman T. Detection of *mcr-1* Gene in Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* From Human Urine Samples in Pakistan. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2020;13(4):e96646
13. Snesrud E, He S, Chandler M, Dekker JP, Hickman AB, McGann P, et al. A Model for Transposition of the Colistin Resistance Gene *mcr-1* by IS*Apl1*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(11):6973-6976.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution