
IDENTIFIKASI METALLO- β -LACTAMASE (MBL) PADA ISOLAT BAKTERI GRAM NEGATIF DI RSUP MOH. HOESIN PALEMBANG

IDENTIFICATION OF METALLO- β -LACTAMASE (MBL) IN GRAM NEGATIVE BACTERIA ISOLATES IN HOSPITAL OF MOH. HOESIN PALEMBANG

Info artikel Diterima: 05 Mei 2023 Direvisi: 15 Mei 2022 Disetujui: 10 Juni 2023

Venny Patricia¹, Ahmad Yani²

^{1,2} Poltekkes Kemenkes Banten, Banten, Indonesia

(E-mail penulis korespondensi: venny.tlmpolkesten2@gmail.com)

ABSTRAK

Latar Belakang: Resistensi antibiotik merupakan ancaman bagi efektifitas pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit infeksi. Setelah penemuan pertama antibiotik beta laktam, jumlah infeksi oleh bakteri penghasil ESBL terus meningkat di seluruh dunia. Klasifikasi Ambler membagi enzim metallo-beta-lactamase (MBL) menjadi tiga kelas, dengan kelas B yang paling umum dan didominasi oleh bakteri Enterobacteriaceae, yang merupakan bagian dari bakteri gram negatif. Dengan menggunakan metode fenotif dan genotif untuk mengetahui prevalensi enzim MBL pada isolat bakteri gram negatif, kita dapat mendapatkan data tentang resistensi antibiotik ESBL terutama MBL.

Metode: Penelitian ini berupa studi laboratorik dengan survei klinis secara *cross sectional*. Konfirmasi fenotif membandingkan *Double-disk synergy test* (DDST) dengan *Combined disk synergy test* (CDST). Konfirmasi secara genotif dengan cara mendeteksi gen IMP, VIM dan NDM.

Hasil: Total 87 isolat didapatkan hasil uji DDST positif sebanyak 44(50,6%) isolat dan CDST sebanyak 87(100%) isolat. Konfirmasi MBL secara genotif didapatkan positif hanya pada gen IMP 7(7,9%) isolat, sedangkan pada gen VIM dan NDM semuanya negatif. Data secara fenotif pada sampel yang positif gen IMP, didapatkan sebagai berikut yaitu DDST positif sebanyak 4(4,5%) dan CDST positif sebanyak 7(7,9%). Sensitifitas dari perbandingan dua metode tersebut diperoleh hasil sebanyak 51.1% dan Spesifisitas sebanyak 100%. bakteri terbanyak yaitu *K.pneumonia* 45(51,1%) dan *E.coli* 31(35,2%). Sampel terbanyak sputum 34(38,6%); pus 18(20,5%) serta urine 13(14,8%).

Kesimpulan: Metode konfirmasi secara fenotif yang lebih mudah dipakai yaitu menggunakan metode CDST dan masih terdapat gen positif MBL pada isolat gram negatif.

Kata kunci : CDST, DDST, IMP, VIM, NDM

ABSTRACT

Background: Antibiotic resistance threatens the effectiveness of preventing and treating infectious diseases. After the first discovery of beta-lactam antibiotics, the number of infections by ESBL-producing bacteria has continued to increase worldwide. The Ambler classification divides metallo-beta-lactamase (MBL) enzymes into three classes, with class B being the most common and dominated by Enterobacteriaceae bacteria, a subset of gram-negative bacteria. By using phenotypic and genotypic **Methods:** to determine the prevalence of MBL enzymes in gram-negative bacterial isolates, we can obtain data on ESBL antibiotic resistance, especially MBL. **Methods:** This study was a laboratory study with a cross-sectional clinical survey. This research looks forward to phenotype confirmation comparing the *Double-disk synergy test* (DDST) with the *Combined disk synergy test* (CDST). Confirm genotype by detecting IMP, VIM and NDM genes.

Results: The research have 87 isolates obtained positive DDST test results for 44 (50.6%) isolates and 87 (100%) isolates of CDST. Only 7(7.9%) isolates confirmed positive MBL, while all were negative for the VIM and NDM genes. The phenotypic data on positive samples for the IMP gene were obtained as follows, namely 4(4.5%) positive DDST and 7(7.9%) positive CDST. The sensitivity of the comparison of the two methods yielded 51.1% and a specificity of 100%. the most bacteria were *K.pneumonia* 45(51.1%) and *E.coli* 31(35.2%). Most samples of sputum were 34 (38.6%), pus 18(20.5%) and urine 13(14.8%).

Conclusion: An easier phenotypic confirmation method is the CDST method, and there are still positive MBL genes in gram-negative isolates.

PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik merupakan ancaman bagi efektifitas pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit infeksi. Penggunaan antibiotik yang berlebihan sudah sangat umum terjadi di dunia, termasuk di Indonesia. Prevalensi penyalahgunaan antibiotik sangat umum terjadi di lingkungan rumah sakit yaitu sekitar 40-50% yang tidak sesuai dengan pedoman pemakaian antibiotik lokal dan tidak sesuai dengan hasil kultur mikrobiologi ⁽¹⁾. Resistensi bakteri didasarkan pada dua faktor utama. Yang pertama adalah kemampuan bakteri untuk mengembangkan pertahanan diri terhadap antibiotik, dan yang kedua adalah peran manusia, yang membantu perkembangan bakteri melalui penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan. Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol pada pasien juga dapat menyebabkan resistensi bakteri, toksisitas, dan rawat inap yang lama, yang dapat menyebabkan kematian dan morbiditas. Antibiotik golongan beta laktam merupakan salah satu antibiotik yang banyak digunakan di zaman sekarang. Setelah penggunaan ini, bakteri gram negatif menjadi lebih tahan terhadap antibiotik daripada bakteri gram positif, karena mereka memiliki kemampuan untuk menginaktivasi enzim beta lactamase ⁽²⁾.

Infeksi bakteri penghasil ESBL telah meningkat di seluruh dunia sejak penemuan antibiotik beta laktam. Kelas beta-laktamase karbapenemase utama, menurut klasifikasi

METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah Deskriptif dengan pendekatan uji laboratorium, uji laboratorium untuk mengidentifikasi galur MBL dengan pendekatan survei klinis secara *cross sectional* pada isolat pasien di RSUP Moh Hoesin Palembang. Populasi target dari penelitian adalah semua spesimen yang diambil dari pasien suspect infeksi yang melakukan uji kultur dan resistensi di Rumah Sakit Umum Pendidikan Moh.Hoesin Palembang. Sampel penelitian adalah semua isolat bakteri Gram negatif dari berbagai sampel yang terdeteksi MDR.

Ambler, terdiri dari kelas A (Klebsiella pneumoniae carbapenemase-(KPC), kelas B (metallo-beta-lactamase-(MBL), dan kelas D (Oxacillinase-(OXA) beta lactamase) ⁽³⁾. Karbapenemase yang paling banyak menyebar digolongan bakteri Gram negatif ialah New Delhi Metallo-beta-lactamase. MBL merupakan enzim yang memiliki gugus metal ion active site yang memiliki kemampuan menghidrolisis antibiotik spektrum luas seperti golongan carbapenemase. MBL diperantarai plasmid, yang memungkinkannya bertahan dan menyebar di antara bakteri patogen rumah sakit. Ini dapat menyebabkan infeksi nosokomial dalam jangka panjang.

Kondisi gawat bakteri resisten juga dialami oleh Indonesia, dimana dilaporkan terjadi resistensi pada bakteri Klebsiella pneumoniae sebesar 25-57% dan Eschericia coli sekitar 32-56% ⁽⁴⁾. Perkembangannya di Indonesia semakin meningkat dimana pada tahun 2009 ditemukan gen New Delhi metallo- β -lactamase (blaNDM-1) pada K. pneumoniae dan pada tahun 2015 gen CTX-M pembawa ESBL pada E. coli (20%) dan K. pneumoniae (28%) ⁽⁵⁾. Penelitian Sabrina, 2019 didapatkan (4,8%) dari 35 sampel mengandung gen blaIMP ⁽⁶⁾. CRE (Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae) juga ditandai dengan gen blaVIM diperoleh sekitar 3(14,3%) dari 21 isolat CRE yang diperiksa dengan PCR, bakteri yang diidentifikasi sebagai CRE ⁽⁷⁾. Prevalensi gen CTX-M juga terdeteksi dari 70 sampel ada 46(65%) bakteri K.pneumoniae di RSUP Moh. Hoesin Palembang ⁽⁸⁾.

Kriteria Inklusi

Sampel yang diambil merupakan spesimen yang telah terdeteksi sebagai isolat bakteri Gram Negatif dan terdeteksi terjadi resistensi MDR, isolat dikatakan MDR apabila resisten 1 (satu) jenis antibiotik dari 3 (tiga)/lebih golongan antibiotik.

Kriteria Eksklusi

Saat alat otomatis VITEK 2 compact system (bioMerieux) tidak menemukan resistensi MDR pada isolat bakteri gram positif dan gram negatif maka sampel tersebut dikeluarkan sebagai sampel penelitian.

HASIL

Sebanyak 624 isolat dilakukan pemeriksaan kultur di laboratorium Sub. Mikrobiologi Klinik RSUP Moh. Hoesin Palembang. Penentuan jumlah sampel menggunakan rumus, didapatkan 88 sampel dengan kriteria bakteri gram negatif *Multidrug Resistant* (MDR) artinya sampel yang masuk pada penelitian ini merupakan sampel yang sudah resisten terhadap lebih dari 3 antibiotik yang diujikan. Sebanyak 88 isolat, bakteri terbanyak yaitu *K.pneumonia* 45(51,1%), *E.coli* 31(35,2%) dan bakteri lainnya 12(13,6%). Dari 88 isolat, sampel terbanyak sputum 34(38,6%); pus 18(20,5%) serta urin 13(14,8%). Berdasarkan ruang perawatan, terbanyak berasal dari ruang

rawat inap Muri 1 10(11,4%) dan GICU 8(9,1%). Isolat yang resisten terhadap golongan *Carbapenem* yaitu pada antibiotik Meropenem sebanyak 18(20,4%) dengan kategori resisten 16 isolat ($MIC \geq 16$); 1 isolat ($MIC \geq 8$) dan 1 isolat intermediet ($MIC \geq 4$). Pada antibiotik Ertapenem ada 10(11,3%) isolat dengan kategori resisten ($MIC \geq 8$). Isolat yang positif ESBL sebanyak 66 isolat yang didominasi oleh bakteri *K.pneumoniae* 36(54,5%) dan *E.coli* 29(43,9%). Resistensi yang paling banyak pada golongan antibiotik Ampicillin (AM), Ceftazidime (CAZ), Ciprofloxacin (CIP), Ceftriaxone (CRO) dan Cefazolin (CZ), untuk lebih lengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Profil Isolat bakteri Gram negatif basil

Bakteri patogen penyebab infeksi	∑ Isolat	Persentase (%)
<i>Escherichia coli</i>	31	35,2
<i>Klebsiella pneumonia</i>	45	51,1
Lainnya	12	13,6
Total	88	99,9

Tabel 2. Prevalensi ESBL pada Isolat bakteri Gram negatif basil

Bakteri	∑ Bakteri ESBL (n=66)	Antibiotik	% Resistensi Bakteri ESBL
<i>E.coli</i>	29 (43,9%)	AM	29 (43,9%)
		CAZ	17 (25,7%)
		CRO	29 (43,9%)
		CZ	29 (43,9%)
		FEP	9 (13,6%)
<i>K.pneumoniae</i>	36 (54,5%)	AM	36 (54,5%)
		CAZ	30 (45,4%)
		CRO	36 (54,5%)
		CZ	36 (54,5%)
		FEP	10 (15,1%)
Lainnya	1 (1,5%)	AM	-
		CAZ	-
		CRO	-
		CZ	-
		FEP	-

Ket: AM-Ampicillin; CAZ-Ceftazidime; CRO-Ceftriaxone; CZ-Cefazolin; FEP-Cefepime

Pada tabel 2, Jumlah total bakteri bersifat ESBL ialah 66 isolat. Bakteri ESBL terbanyak yaitu *K.pneumoniae* 36(54,5%) dengan resistensi

terbanyak pada antibiotik Ceftriaxone, Cefazolin dan Ampicillin. Bakteri ESBL terbanyak kedua ialah *E.coli* 29(43,9%) dengan resistensi terbanyak

pada antibiotik Ampicillin, Ceftriaxone dan Cefazolin.

Tabel 3. Prevalensi Jumlah Bakteri yang resisten terhadap Antibiotik Carbapenemase

Bakteri	Antibiotik	∑ Bakteri Carbapenem
<i>E.coli</i>	ETP	1 (3,2%)
	MEM	1 (3,2%)
<i>K.pneumoniae</i>	ETP	8 (17,7%)
	MEM	10 (22,2%)
Lainnya	ETP	1 (8,3%)
	MEM	5 (41,6%)

Ket: ETP-Ertapenem; MEM-Meropenem

Pada tabel 3, Jumlah total bakteri resisten terbanyak yaitu *K.pneumoniae* dengan resisten terbanyak pada antibiotik Meropenem 10(22,2%) dan Ertapenem 8(17,7%). Bakteri kedua lainnya

seperti *A. baumannii* dan *E. cloacae* dengan resisten terbanyak pada antibiotik Meropenem 5(41,6%) dan Ertapenem sebesar 1(8,3%).

Tabel 4. Distribusi Frekuensi Isolat bakteri Gram negatif basil Berdasarkan Jenis Spesimen

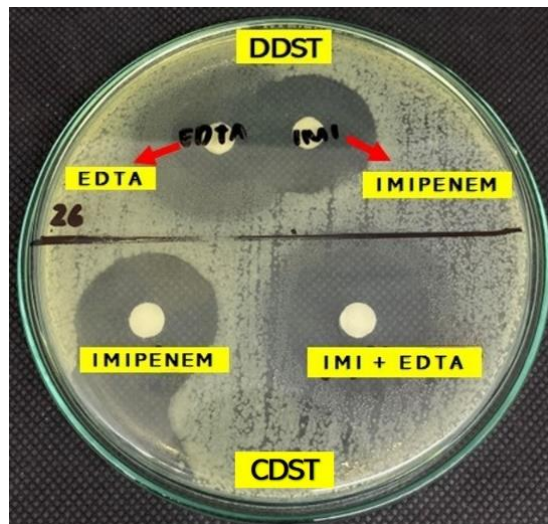
SPESIMEN	BAKTERI GRAM NEGATIF				
	<i>E.coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Lainnya	Total	%
Feses	1	1	0	2	2,3
Pus	14	4	0	18	20,5
Sputum	5	26	3	34	38,6
Swab	2	2	1	5	5,7
Urine	8	3	2	13	14,8
Darah	1	5	0	6	6,8
Swab	0	2	1	3	3,4
Tenggorokan					
Bilasan Bronkus	0	2	3	5	5,7
Lainnya	0	0	2	2	2,3
Total	31	45	12	88	100

Pada tabel 4, Jumlah total bakteri terbanyak berdasarkan jenis sampel yaitu *K.pneumoniae* 45(51,1%) terbanyak didapatkan dari sampel sputum sebanyak 26 sampel, *E.coli* 31(35,2%) terbanyak didapatkan dari sampel pus sebanyak 14 sampel. Sampel lainnya tersebar pada sampel sputum, urine, swab dan bilasan brokus. Konfirmasi *Metallo beta-lactamase* (MBL) secara

fenotif digunakan metode DDST dan CDST. Metode DDST berdasarkan penelitian sebelumnya menurut (Lee, *et al*) dalam Verma, N, *et all* dapat menggunakan disk ethylenediaminetetraacetic (EDTA) (10µ dalam 0.5M) dan disk antibiotik Imipenem yang diujikan secara sinergi, apabila mendapatkan zona hambat yang besar maka dapat dikatakan bahwa isolat

tersebut positif MBL, Pada metode CDST menurut (Yong, et al) dalam Verma, N et al menggunakan hanya disk antibiotik Imipenen saja dan Imipenen yang disinergikan dengan EDTA, hasil positif apabila zona diameter hambat dengan disk Imipenem + EDTA(≥ 7 mm) dibandingkan

dengan hanya disk Imipenem saja ⁽⁹⁾. Total 87 isolat didapatkan hasil uji DDST positif sebanyak 44(50,6%) isolat dan CDST sebanyak 87(100%) isolat. Gambar 1 dan Tabel 2 menggambarkan prevalensi CDST dan DDST.



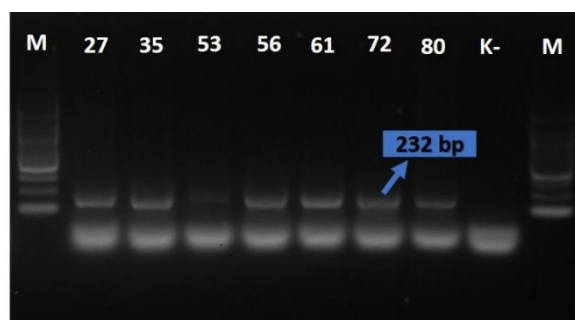
Gambar 1. Pengujian DDST dan CDST, untuk uji DDST terlihat zona hambat yang dihasilkan besar. Pada uji CDST pengujian disk IMI + EDTA dihasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan hanya disk IMI

Tabel 5. Konfirmasi Produksi MBL secara Fenotif pada Isolat Bakteri Gram negatif

Metode deteksi	n	%
EDTA kombinasi tes (CDST)	87	100
EDTA double disk sinergi (DDST)	44	50,6

Konfirmasi MBL secara genotif didapatkan positif hanya pada gen IMP 7(7,9%) isolat, sedangkan pada gen VIM dan NDM semuanya negatif. Data secara fenotif pada sampel yang positif gen IMP, didapatkan sebagai berikut yaitu DDST positif sebanyak 4(4,5%) dan CDST positif sebanyak 7(7,9%). Dari hasil ini metode konfirmasi secara fenotif yang lebih mudah

dipakai yaitu menggunakan metode CDST. Sensitifitas dari perbandingan dua metode tersebut diperoleh hasil sebanyak 51,1% dan Spesifisitas sebanyak 100%. Gambar 2 menggambarkan gen yang terdeteksi secara genotif, Gambaran konfirmasi secara fenotif dari isolat positif gen IMP ditampilkan pada tabel 3.



Gambar 2. Gen IMP positif pada posisi 232 bp dari sampel 27, 35, 53, 56, 61, 72 dan 80

Tabel 6. Gambaran DDST dan CDST dari isolat positif gen *Metallo β-lactamase* (MBL)

Jenis Gen teridentifikasi	Σ Isolat (n=88)	DDST		CDST	
		Pos	Neg	Pos	Neg
IMP	7 (7,9%)	4 (4,5%)	3 (3,4%)	7 (7,9%)	0
VIM	0	0	0	0	0
NDM	0	0	0	0	0
Total	7 (7,9%)	4 (4,5%)	3 (3,4%)	7 (7,9%)	0

Pada tabel 6 dapat dilihat didapatkan gen IMP yang positif sebanyak 7(7,9%) isolat dengan konfirmasi positif metode DDST sebanyak 4(4,5%) isolat dan yang positif konfirmasi MBL

menggunakan metode CDST sebanyak 7(7,9%) isolat, maka dapat disimpulkan metode CDST lebih baik digunakan untuk mengkonfirmasi resistensi MBL secara fenotif.

PEMBAHASAN

Enzim MBL dominan dihasilkan oleh bakteri Gram negatif patogen dari penelitian ini sebanyak 87 isolat dilakukan konfirmasi fenotif menggunakan *Double-disk synergy test* (DDST) didapatkan hasil positif sebanyak 44(50,6%) dan CDST sebanyak 87(100%) isolat. Pada penelitian sebelumnya didapatkan metode CDST dan E-test didapatkan 111 (85,4%) dari total isolat 1423 positif MBL⁽¹⁰⁾. Pada penelitian di India juga didapatkan metode CDST menghasilkan positif MBL sebanyak 9 (75%) isolat dari jumlah total sebanyak 12 isolat, sedangkan DDST menghasilkan positif MBL sebanyak 5 (41%) isolat⁽¹¹⁾. Pada metode CDST menurut (Yong, et al) menggunakan hanya disk antibiotik Imipenen saja dan Imipenen yang disinergikan dengan EDTA, hasil positif apabila zona diameter hambat dengan disk Imipenem + EDTA(≥ 7 mm) dibandingkan dengan hanya disk Imipenem saja⁽⁹⁾.

Pada penelitian ini didapatkan bakteri *K. pneumoniae* yang paling dominan sebanyak 45(51,1%) dari 87 isolat. Bakteri *K. pneumoniae* yang sudah resisten terhadap bakteri Carbapenem sebanyak 18 isolat yang terdiri dari resisten Meropenem 10(22%) dan Ertapenem 8(17,7%) dan memiliki kecenderungan juga menghasilkan enzim MBL. Pada penelitian di India didapatkan bakteri *K. pneumoniae* sebanyak 124 isolat dan positif MBL 9(7,26%)⁽¹²⁾. Penelitian lainnya pada pasien *Ventilator-associated pneumonia* (VAP), didapatkan *Klebsiella* spp sebanyak 13(54,17%) merupakan bakteri terbanyak kedua setelah bakteri *Acinetobacter*⁽¹³⁾. Aztreonam adalah satu-

satunya obat beta-laktam yang resistansinya tidak dapat ditularkan oleh isolat bakteri penghasil MBL, meskipun demikian, ko-eksistensi mekanisme resistensi lain, seperti beta-laktamase tipe AmpC atau ESBL membuat mereka resisten terhadap aztreonam⁽¹⁴⁾. Dalam penelitian saat ini, ditemukan bahwa setiap isolat *E.coli* dan *K.pneumoniae* dengan produksi MBL resisten terhadap ketiga karbapenem (imipenem, meropenem, dan ertapenem). Selain itu, isolat ini menunjukkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap kombinasi penghambat beta-laktam/beta-laktamase terhadap penisilin dan sefalosporin generasi ketiga yang diteliti dalam penelitian ini. Isolat Enterobacteriaceae yang menghasilkan MBL dilaporkan rentan terhadap carbapenem yang berbeda seperti piperacillin/tazobactam dengan pengujian difusi cakram.

Konfirmasi secara fenotif dan genotif didapatkan positif menggunakan metode DDST sebanyak 4 (4,5%), positif menggunakan metode CDST sebanyak 7 (7,9%) dan yang terkonfirmasi gen IMP ada sebanyak 7 isolat sekitar 7,9%. Gen IMP yang positif semua berasal dari bakteri *K.pneumoniae*, dimana 2 isolat bersifat ESBL dan 5 isolat bersifat resisten Carbapenem. Sejalan dengan penelitian ini pada isolate di RS Sanglah Bali dari 68 isolat didapatkan 9 (10,5%) isolat yang terdeteksi positif gen IMP-1⁽¹⁵⁾. Pada penelitian ini spesimen yang paling banyak yang menghasilkan enzim MBL adalah berasal dari sputum sebanyak 34(38,6%). Penelitian sebelumnya didapatkan kebanyakan didapatkan berasal dari sampel swab dan pus sebesar

76(44.2%) yang menghasilkan bakteri *Klebsiella* spp⁽¹⁶⁾.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini menggunakan metode konfirmasi MBL menggunakan 2 metode yaitu DDST dan CDST, metode yang lebih akurat pada penelitian ini menggunakan metode CDST yang dibuktikan tingkat positifnya lebih banyak yaitu sekitar 87(100%). Dari 87 isolat yang diperiksa didapatkan yang terkonfirmasi positif gen IMP yaitu sebanyak 7(7,9%) isolat yang semuanya berasal dari bakteri *K.pneumoniae*. Sampel isolat terbanyak berasal dari sputum 34(38,6%). Antibiotik yang dominan resisten pada penelitian ini yaitu Ceftriaxone, Cefazolin dan Ampicillin. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait gen lainnya yang berperan dalam resistensi antibiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Skema pembiayaan 'PDP' dari Poltekkes Kemenkes Banten menjadi pendukung utama dari berjalannya penelitian ini. Sebagai apresiasi atas fasilitas yang diberikan oleh RSUP Moh. Hoesin Palembang, para peneliti juga mengucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cucunawangsih. ANTIBIOTIK DAN RESISTENSI Penulis Dr. dr. Cucunawangsih, SpMK (K) 1 [Internet]. 2020 [cited 2021 May 8]. Available from: <https://penerbitbukudeepublish.com/shop/buku-antibiotik-dan-resistensi/>
2. Bush K BP. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Clin Microbiol Rev Am Soc Microbiol*. 2020;33(2):1–37.
3. Taggar G, Rheman MA, Boerlin P, Diarra MS. Molecular epidemiology of carbapenemases in enterobacteriales from humans, animals, food and the environment. *Antibiotics*. 2020;9(10):1–22.
4. Dahesihdewi A, Sugianli AK, Parwati I. The surveillance of antibiotics resistance in Indonesia: a current reports. *Bali Med J*. 2019;8(2):565.
5. Parathon H, Kuntaman K, Widiastoety TH, Muliawan BT, Karuniawati A, Qibtiyah M, et al. Progress towards antimicrobial resistance containment and control in Indonesia. Vol. 358, *BMJ (Online)*. 2017. p. 31–5.
6. Sabrina T, Amalia E, Patricia V, Yuwono, Usman RM. Identification of bla<inf>IMP</inf> gene carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) isolated from patient infection. In: *Journal of Physics: Conference Series*. 2019.
7. Amalia E, Sabrina T, Yuwono, Patricia V, Husna R, Augusta Rosdah A, et al. Identification of carbapenemases enterobacteriaceae producing gene blaVIM in clinical isolates. In: *Journal of Physics: Conference Series*. 2019.
8. Liana P, Patricia V, Agatha C. Multidrug-resistant organisms (MDRO) patterns of GICU patients in Dr Mohammad Hoesin Hospital Palembang. In: *Journal of Physics: Conference Series*. 2019.
9. Verma N, Prahraj A, Mishra B, Behera B, Gupta K. Detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* by phenotypic and genotypic methods in a tertiary care hospital of East India. *J Lab Physicians*. 2019;11(04):287–91.
10. Sinha S, Singh A, Verma RK, Singh DP, Kumari S. Prevalence of metallo-beta-lactamases (MBLS) producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients in rural tertiary care hospital in Uttar Pradesh, India. *Int J Res Med Sci*. 2018;6(9):3099.
11. Radhika A, Lakshmi JT, Ariyanachi K, Sakthivadivel V. Detection of Metallo Beta-Lactamase (MBL) Producing *Pseudomonas aeruginosa* in a Tertiary Care Hospital, Ghanpur, Medchal, India. *Maedica (Buchar)* [Internet]. 2022;17(1):134–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35733755%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC9168566>
12. Pandya NP, Prajapati SB, Mehta SJ, Kikani KM, Joshi PJ. Evaluation of various methods for detection of metallo- β -lactamase (MBL) production in gram negative bacilli. 2011;2(3):775–7.
13. Nusrat T, Akter N, Haque M, Rahman NAA, Dewanjee AK, Ahmed S, et al. Comparative study of CDST & multiplex PCR to detect MBL producing gram-negative bacilli among VAP patients admitted in a public medical college hospital of Bangladesh. *Pathogens*. 2019;8(3).

14. Bora A, Sanjana R, Jha BK, Narayan Mahaseth S, Pokharel K. Incidence of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in central Nepal. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):1–7.
15. Tarini NMA, Fatmawati NND, Mayura IPB. Detection Metallo-beta-lactamase gene IMP-1 and IMP-2 of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Sanglah Hospital Bali. *Asia Ocean Biosci Biotechnol Consort*. 2015;3(1):32–6.
16. Chowdhury DRA, Chowdhury DAHMSK, Sharmin DS, Akter DN, Ahmed DS. Metallo-Beta-Lactamase Producing Gram-Negative Bacteria among Patients in a Tertiary Care Hospital. *SAS J Med*. 2022;8(2):106–13.