

Infeksi Bakteri Langka *Chromobacterium Violeceum* Pada *Chronic Granulomatous Disease* (CGD)

Conny Riana Tjampakasari¹, Jongga Adiyaksa², Ariyani Kiranasari³, Ika Ningsih⁴

^{1,2,3,4}Universitas Indonesia

Email: connyrianat@yahoo.com¹, utamamandala01@gmail.com², gahariyani@gmail.com³,
ikaningsih@yahoo.com⁴

ABSTRAK

Chromobacterium violaceum (*C. violaceum*) merupakan bakteri berbentuk batang bersifat Gram negatif yang hidup bebas di tanah dan air tawar yang ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Meskipun infektivitas bakteri ini rendah, namun *C. violaceum* dianggap sebagai patogen oportunistik dan infeksiya memiliki dampak kesehatan masyarakat yang luar biasa karena dapat menyebabkan kematian pada manusia dan hewan. *Chronic Granulomatous Disease* (CGD) merupakan imunodefisiensi genetik heterogen yang disebabkan kelainan fungsi *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) sehingga menyebabkan gangguan pernapasan; gangguan produksi hidrogen peroksida dan superoksida, mengarah ke pra-disposisi infeksi oleh organisme katalase-positif, seperti *C. violaceum*. Mutasi pada salah satu dari 5 fagosit oksidase (phox) gen dapat menyebabkan cacat pada kompleks NADPH. Kejadian infeksi *C. violaceum* pada pasien CGD masih diabaikan karena uji diagnostik untuk CGD mungkin belum dilakukan atau belum tersedia. Bakteri ini dapat diidentifikasi dengan metode uji kultur dan mikroskopik dilanjutkan dengan uji biokimia serta melalui pendekatan molekuler dengan PCR. Terapi kombinasi antibiotik kloramfenikol, beta-laktam, trimetoprim-sulfametoksazol/fluorokuinolon dengan salah satu aminoglikosida adalah antibiotik pilihan, namun uji resistensi diperlukan untuk meminimalisir resistensi antibiotik terhadap *C. violaceum*.

Kata Kunci: *C. Violaceum*, CGD, NADPH, Uji Diagnostik

ABSTRACT

Chromobacterium violaceum (*C. violaceum*) is a free-living Gram negative rod-shape bacterium in soil and fresh water found in tropical and subtropical regions. Despite the low infectivity of this bacterium, *C. violaceum* is considered an opportunistic pathogen and its infection has a tremendous public health impact as it can cause death in humans and animals. Chronic Granulomatous Disease (CGD) is a heterogeneous genetic immunodeficiency caused by impaired function of *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*

(NADPH) causing respiratory problems, impaired production of hydrogen peroxide and superoxide, leading to a pre-disposition to infection by catalase-positive organisms, such as *C. violaceum*. Mutations in any of the 5 phagocyte oxidase (phox) genes can cause defects in the NADPH complex. The incidence of *C. violaceum* infection in CGD patients is still neglected because diagnostic tests for CGD may not have been performed or not yet available. This bacterium can be identified by culture and microscopic test methods followed by biochemical tests and through a molecular approach with PCR. Combination therapy with chloramphenicol, beta-lactam, trimethoprim-sulfamethoxazole/Fluoroquinolone antibiotics with one of the amiboglycosides is the antibiotic of choice, but resistance testing is required to minimize antibiotic resistance to *C. violaceum*.

Keywords: *C. Violaceum*, CGD, NADPH, Diagnostic Test

PENDAHULUAN

Chromobacterium violaceum (*C. violaceum*) merupakan bakteri berbentuk batang bersifat Gram negatif yang hidup bebas di tanah dan air tawar yang ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Infeksi *C. violaceum* pada manusia memang jarang terjadi secara umum, oleh karena itu, sebagai agen penyebab penyakit infeksi sebagian besar diabaikan manifestasi kliniknya kecuali pasien datang dengan sepsis berat sehingga dengan cepat terjadinya lesi. Sebelum ditemukan sebagai penyebab infeksi bakteri ini dianggap sebagai mikroorganisme saprofit dan tidak patogen pada manusia. Wooley (1905) pertama kali melaporkan karakteristik patogenik dari bakteri ini, diamati adanya septikemia pada kerbau yang disebabkan oleh bakteri ini. Saat ini lebih banyak pengamatan melaporkan kematian manusia yang tinggi dengan septikemia yang fatal dan lesi kulit serta abses organ dalam. Manifestasi tersebut telah dilaporkan dari berbagai belahan dunia di subtropis dan tropis, termasuk Indonesia. Mikroorganisme ini telah dicirikan sebagai patogen oportunistik yang menyebabkan manifestasi parah dan fatal pada pejamu dengan gangguan sistem imun. Namun, anggapan ini ditentang oleh kasus lain yang melaporkan manifestasi klinis yang fatal dan parah pada pejamu *non-immunocompromised*.

Pengamatan awal bakteri ini dilakukan oleh Ilmuwan Prancis Boisbaudran dan Gasser (1870-an) menemukan pewarnaan *rice flower*. Pengamatan lainnya dilakukan oleh Bergonzini dari Modena University, Italia (1880) yang mengamati adanya kontaminasi labu dalam eksperimennya dengan zat ungu tua, setelah diekstraksi tidak larut dengan banyak pelarut. Bakteri tersebut bernama *C. violaceum* dan kemudian mendokumentasikan di Bergey's Manual of Systematic Bacteriology as *C. violaceum*. Pada tahun 1976, ditemukan 2 galur dari *C. violaceum* dengan warna yang berbeda yaitu putih dan ungu diisolasi di Brazil dan dihipotesiskan bahwa violacein melindungi bakteri dari sinar matahari. Ada 9 spesies lain dari genus *Chromobacterium* yang memiliki diakui sampai saat ini, *C. subtsugae*, *C.*

aquaticum, *C. haemolyticum*, *C. piscinae*, *C. pseudoviolaceum*, *C. vaccinii*, *C. amazonense*, *C. alkanivorans*, dan *C. rhizoryzae*.

Pigmen ungu (violacein) yang dihasilkan oleh bakteri ini memberikan minat yang besar untuk diteliti lebih lanjut. Violacein dianggap memberikan virulensi dari bakteri dan juga memiliki penghambat properti antibiotik. Pigmen ungu bakteri dianggap sebagai agen penyebab septikemia dan fatal infeksi pada manusia dan hewan. Bakteri dengan warna gelap ungu tahan terhadap berbagai antibiotik, termasuk vankomisin, ampisilin, dan linezolid, dan rentan terhadap kolistin, oksasillin, gentamisin, norflosaksin, klorampenikol, dan amikasin. Selain violasein, bakteri *C. violaceum* juga menghasilkan metabolit yang mempengaruhi pertumbuhan banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif serta menghasilkan efek imunomodulator. Menariknya, karakteristik ini telah dimanfaatkan untuk menghasilkan antibiotik aztreonam. Secara mikrobiologi, *C. violaceum* memiliki karakteristik biokimia yang mirip dengan *Pseudomonas* dan *Aeromonas* spesies yang terkait dengan multi-obat primer karakteristik yang menantang dalam pengobatan.

Setiap bagian dari tubuh manusia dapat berfungsi sebagai tempat inokulasi, dengan kerusakan traumatis pada kulit yang berfungsi sebagai tempat masuk infeksi yang paling umum dalam banyak kasus yang dilaporkan, diikuti oleh limfadenopati regional, bakteremia yang meluas, dan perkembangan abses pada organ viseral. Tingkat kematian infeksi *C. violaceum* telah dilaporkan 60%-80% pada infeksi, dan sulit untuk diberantas dalam banyak kasus. Literatur studi ini menggambarkan karakteristik klinis, epidemiologi, patogenesis dan patologi, infeksi pada *chronic granulomatous disease* (CGD) serta diagnostik laboratorium *C. violaceum*.

METODE PENELITIAN

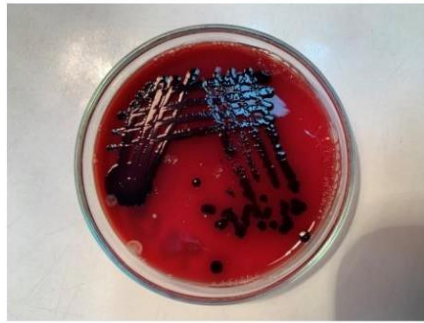
Pada artikel ini metode penelitian yang digunakan adalah literatur studi, suatu metode sistematis, eksplisit dan reproduktibel untuk melakukan identifikasi, evaluasi dan sintesis terhadap karya-karya hasil penelitian dan hasil pemikiran yang sudah dihasilkan oleh para peneliti dan praktisi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik *Chromobacterium violaceum* (*C. violaceum*)

C. violaceum adalah Gram negatif beta- proteobacterium yang membentuk koloni violet halus pada media agar. Warna violet ini berasal dari pigmen violasein, yang dikodekan oleh operon vio, yang ekspresinya diatur oleh quorum sensing (QS) pada bakteri ini. Karena sifat *C. violaceum* yang diatur oleh QS ini adalah sifat penanda yang mudah diamati dan diukur, bakteri ini telah banyak digunakan sebagai mikroorganisme model di laboratorium penelitian QS. Meskipun jarang terjadi infeksi pada manusia, infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini biasanya berakibat fatal. Ciri-ciri selain produksi violasein pada mikroorganisme ini belum diteliti secara mendalam. Pigmen violasein terkenal yang diproduksi oleh bakteri ini adalah molekul bioaktif. Investigasi terperinci tentang fisiologi dan metabolisme bakteri ini dapat lebih meningkatkan kegunaannya untuk penelitian biologi. Secara makroskopik, semua strain cukup seragam dalam agar darah setelah inkubasi selama 24 jam pada 37⁰C menghasilkan

koloni yang halus, bulat, mengkilat, dan sedikit cembung. Koloni berkisar antara 1,5 hingga 2,0 mm diameter, dan jika berpigmen berwarna ungu atau hitam. Strain berbeda dalam hemolitiknya kegiatan, beberapa strain menghasilkan zona hemolisis kecil yang hampir tidak terlihat di luar koloni sementara yang lain menghasilkan zona besar dengan diameter hingga 4 mm (bisa dilihat pada gambar 1).



Gambar 1. Pertumbuhan *Chromobacterium violaceum* pada agar darah¹³

Pada pewarnaan bakteri ini bersifat Gram-negatif batang dengan ukuran sekitar 0-5-1x 2-3 nm. *C violaceum* memiliki flagela dengan bentuk lurus atau sedikit melengkung tanpa gelombang (gambar 2).



Gambar 2. Morforogi *Chromobacterium violaceum* secara mikroskopis¹⁴

Meskipun tidak penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup, violasein penting untuk menjadi pernapasan dan terlibat dalam regulasi produksi triptofan. *C. violaceum* adalah anaerob fakultatif, dengan oksidase dan reaksi katalase positif serta tumbuh optimal pada suhu 30– 35 °C (bisa dilihat pada tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik *Chromobacterium violaceum*¹⁵

No.	Characteristic	Description
1	Size	(0.6–0.9 × 1.5–3.0) μm
2	Shape	Rods with rounded end
3	Motility	Motile by means of a single polar flagellum
4	Growth at 4 °C	–
5	Growth at 30 °C	+
6	Growth at 37 °C	+
7	Growth at pH 4	+
8	Growth at pH 3	–
9	Growth in 1% NaCl	+
10	Growth in 2% NaCl	+
11	Growth in 4% NaCl	–
12	Anaerobic growth	+

Epidemiologi *Chromobacteri*

‘–’ and ‘+’ respectively indicates absence and presence of growth.

C. violaceum merupakan mikroorganisme lingkungan, tidak berasosiasi dengan infeksi manusia namun kasus sporadis keterlibatan dalam infeksi manusia pernah dilaporkan. Potensi patogeniknya yang pertama dijelaskan oleh Woolley (1905), ketika dia mengisolasinya dari infeksi fatal pada seekor kerbau dan yang pertama kasus pada manusia dilaporkan dari Malaysia di 1927. Kasus infeksi *C. violaceum* pada manusia telah dilaporkan pula di Australia, India, Nepal, Amerika Serikat, Brasil, dan Kongo.

Ada sekitar 150 kasus yang dilaporkan seluruh dunia dan tingkat kematian dalam kasus tersebut ditemukan kasus tertinggi (53%). Saat ini kasus pertama infeksi *C. violaceum* telah dilaporkan dari Bangladesh. Di Kamboja dilaporkan seorang anak telah sembuh setelah pengobatan antibiotik, kasus ini juga dilaporkan di Taiwan, Malaysia, dan Vietnam. Selain itu, kasus pertama bakteremia dewasa yang fatal disebabkan oleh *C. violaceum* dilaporkan di Afrika.

Patogenesis dan Patalogi *Chromobacterium violaceum* (*C. Violaceum*)

Rute atau jalur masuk *C. violaceum* belum dapat dijelaskan dengan pasti. Sebagian besar pasien memiliki riwayat trauma atau luka yang telah terkontaminasi dengan tanah atau air yang tergenang. Dalam beberapa kasus cedera ringan yang mungkin bisa terjadi oleh pasien. Infeksi melalui rute oral dicurigai pada pasien dengan diare. Rute paparan yang tidak biasa termasuk *scuba diving* atau hampir tenggelam, berenang, mengarungi di dalam air, jatuh atau bermain di air berlumpur, dan mengikuti prosedur bedah. Meskipun infektivitas bakteri ini rendah, namun *C. violaceum* dianggap sebagai patogen oportunistik dan infeksiya memiliki dampak kesehatan masyarakat yang luar biasa karena dapat menyebabkan kematian pada manusia dan hewan serta patogenesisnya masih belum jelas.

Miller dkk (1988) melakukan penelitian yang membandingkan strain *C. violaceum* yang virulen dan avirulen, di mana strain virulen memiliki tingkat superoksida dismutase dan katalase yang tinggi yang dapat melindungi mikroorganisme dari serangan fagositik pada manusia, yang mungkin menyebabkan virulensinya yang ekstrem. Urutan genom *C. violaceum* ATCC 12472 menunjukkan adanya faktor patogen yang berbeda. Miki dkk (2019) menunjukkan bahwa sistem sekresi tipe III (T3SS) yang dikodekan oleh gen ada patogen *Chromobacterium* 1 dan 1a (*Cpi-1/- 1a*) terlibat dalam sitotoksitas yang menyebabkan kerusakan pada hepatosit dan mendorong invasi sel nonfagositik. *CilA* merupakan gen pengatur T3SS dan protein efektor CopE, telah dicirikan sebagai *guanine nucleotide exchange factor* (GEFs) yang terlibat dalam invasi sel epitel. Dua penelitian terbaru mempelajari protein yang disekresikan oleh *C. violaceum* ke dalam media kultur menggunakan massa spektrometri (MS).

Penelitian ini mengidentifikasi protein yang berpotensi terkait dengan virulensi seperti hemolisin, protein membran luar, kolagenase, protein flagellar, metalopeptidase dan protein efektor sistem sekresi tipe VI (T4SS). Peran protein ini dalam patogenisitas masih harus ditentukan.

Sebagian besar pasien memiliki waktu inkubasi yang singkat. Gejala yang paling umum dari infeksi *C. violaceum* adalah demam, nyeri pada bagian yang terinfeksi terkait dengan berbagai lesi kulit, perut nyeri abses di berbagai organ seperti hati, kulit, paru-paru, kelenjar

getah bening, dan otak, dan perkembangan yang cepat untuk sepsis. Perkembangan cepat menjadi sepsis yang mengancam jiwa terkait dengan metastasis abses pada infeksi *C. violaceum* adalah gambaran yang paling mencolok.

Perlu diketahui bahwa gejala klinis infeksi *C. violaceum* mungkin tidak terjadi segera setelah paparan tertentu dari air atau tanah; sebaliknya infeksi *C. violaceum* mungkin terjadi 60 hari setelah paparan. Spektrum klinis infeksi *C. violaceum* antara lain, infeksi saluran kemih, pneumonia, infeksi gastrointestinal, kulit terlokalisir lesi, abses lokal atau metastatik, osteomyelitis, meningitis, peritonitis, abses otak, endokarditis, sindrom hemofagositik, pernafasan sindrom distress dan sepsis fulminan.

Infeksi dilaporkan parah pada malnutrisi dan pasien dengan gangguan sistem imun. Infeksi terjadi cepat sehingga diagnosis cepat dan penentuan profil kerentanan antibiotik sangat penting. Telah dilaporkan septikemia lebih sering terjadi pada pasien dengan penyakit granulomatosa kronis, disfungsi neutrofil, dan parah defisiensi G6PD polimorfonuklear. Dalam kondisi ini, leukosit polimorfonuklear dan monosit tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan oksigen metabolit yang diperlukan untuk membunuh bakteri yang difagosit yang membuat pasien rentan untuk berkembang dan menyebar ke beberapa organ. Selain itu, strain *C. violaceum* yang virulen dapat menghasilkan endotoksin yang menahan serangan dari sel fagositik. Pesatnya perkembangan infeksi dengan tingkat kematian yang tinggi diperlukan untuk merawat pasien dengan infeksi *C. violaceum* untuk waktu yang lama dan merencanakan prosedur selanjutnya.

Isolasi *C. violaceum* dari sampel air di rumah sakit dan gambaran infeksi yang didapat di rumah sakit menunjukkan potensi bakteri ini sebagai infeksi nosokomial. Salah satu penelitian sepsis neonatorum yang dilakukan oleh Anah dkk (2008) menunjukkan isolasi *C. violaceum* dari 10 neonatus sebesar 6,3%, data ini menunjukkan bahwa mikroorganisme ini mungkin telah berada di lingkungan rumah sakit dan hal ini membutuhkan perhatian.

Infeksi *Chromobacterium violaceum* pada *Chronic Granulomatous Disease* (CGD)

Chronic Granulomatous Disease (CGD) merupakan imunodefisiensi genetik heterogen yang berhubungan dengan komplikasi inflamasi dan infeksi berulang, termasuk spesies *Aspergillus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, dan spesies *Nocardia*. Penyakit ini disebabkan oleh cacat dalam fungsi *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidase yang menyebabkan gangguan pernapasan dan hidrogen peroksida dan produksi superoksida, mengarah ke pra-disposisi infeksi oleh organisme katalase-positif, seperti *C. violaceum*. Mutasi pada salah satu dari 5 fagosit oksidase (phox) gen dapat menyebabkan cacat pada kompleks NADPH.

Hubungan klinis antara CGD dan infeksi *C. violaceum* telah dilaporkan terkait dengan oksidase NADPH sistem (NOX). Sekitar 15% dari infeksi *C. violaceum* adalah berhubungan langsung dengan komorbiditas ini. Sebagian besar kasus didokumentasikan di Amerika Serikat (56%) dan didiagnosis dengan CGD setelah terinfeksi *C. violaceum* (63%). Kebanyakan pasien mengalami penyakit parah, dengan beberapa kasus septikemia, abses multipel pada kulit dan jaringan lunak, limfadenitis dan satu kasus *fasciitis necrotizing* dan

satu lagi *tromboflebitis jugularis supuratif*. Dari 16 kasus dilaporkan sampai saat ini, hanya 2 pasien yang meninggal, namun kejadian infeksi *C. violaceum* pada pasien CGD masih diabaikan karena uji diagnostik untuk CGD mungkin belum dilakukan atau mungkin belum tersedia. Oleh karena itu perlu dilakukan konfirmasi oleh reduksi *nitroblue tetrazolium* atau uji oksidasi *dihydrorhodamine* fungsi netrofil dan pengurutan gen mutasi NADPH, dianjurkan pula untuk menguji fungsi neutrofil pada pasien dengan infeksi *C. violaceum* karena bakteri ini dapat menjadi indikator penyakit CGD.

Broz dkk (2016) melakukan penelitian terkait peran dari inflamasi dalam pembersihan infeksi *C. violaceum* dengan menginduksi piroptosis dan sitotoksitas sel NK. Peradangan merupakan kompleks makromolekul yang terlibat dalam kekebalan bawaan untuk mengendalikan mikroorganisme patogen sitosol dan sinyal berbahaya. Hal ini dibentuk oleh sensor pemicu inflamasi (NLRP1 [*Nucleotide-binding Oligomerization Domain (NOD) leucine-rich repeat (LRR)*] yang mengandung protein (NLR)], NLRP3, NLRC4, *pyrin* atau AIM2 [tidak ada dalam melanoma 2]) dan *caspases* inflamasi, dengan tidak adanya atau adanya ASC protein adaptor inflamasi. Aktivasi *caspases* terkait inflamasi menginduksi pembelahan faktor pro-piroptotik, gasdermin D dan mendorong produksi sitokin dan kematian sel oleh piroptosis. Inflamasi dapat diaktifkan oleh mekanisme independen *caspase-1* (kanonik) dan independen *caspase-1* (non-kanonik). Aktivasi *caspase-1* mempromosikan proses dan pelepasan interleukin-1 β (IL-1 β) dan IL-18, dan untuk aktivasi piroptosis, sedangkan jalur non-kanonik dijalankan oleh *caspases-4* dan 5 manusia. Peradangan NAIP NLRC4 awalnya diidentifikasi untuk bertindak sebagai respons terhadap flagelin bakteri.

Penelitian lebih lanjut juga menunjukkan bahwa NLRC4 merespons T3SS bakteri dengan mendeteksi secara khusus flagelin protein bakteri, T3SS, dan T3SS, ketika mentranslokasi ke sitosol dengan menggunakan NLR, protein penghambat apoptosis (NAIPs) sebagai reseptor hulu. Namun, pada manusia, hanya satu NAIP yang ditemukan, yang bertanggung jawab untuk mengenali subunit T3SS dari *C. violaceum*.

Penyakit granulomatosa kronis ditandai oleh sejumlah mutasi pada NOX, hal ini menunjukkan tingkat ROS yang rendah berasal dari fagosit. Kerentanan pasien dengan CGD untuk bakteri intraseluler yang berbeda, seperti *C. violaceum* tergantung pada kemampuannya untuk mengeluarkan bakteri dari intraseluler kompartemen oleh piroptosis. Inflamasi langsung dapat mensterilkan kekebalan bawaan terhadap daya hambat infeksi *C. violaceum*.

Sejauh ini dilaporkan terapi rejimen gentamisin, kloramfenikol fluorokuinolon, trimetoprim/sulfametoksazol dan karbapenem digunakan untuk pengobatan infeksi *C. violaceum* pada pasien CGD.

Resistensi obat *Chromobacterium violaceum*

Karena jumlah kasus yang masih terbatas, hasil uji resistensi antimikroba bervariasi di antara pengaturan klinis yang berbeda. Sebagian besar strain *C. violaceum* resisten terhadap penisilin dan antibiotik beta-laktam, seperti sefalosporin. Selain itu, bakteri ini telah menunjukkan resistensi terhadap rifampisin dan vankomisin, yang membuat pengobatan sulit dilakukan. Di sisi lain, resistensi terhadap kloramfenikol, trimetoprim, sulfametoksazol, tetrasiklin, siprofloksasin, cefepim, dan imipenem telah dibuktikan. Dengan demikian,

antibiotik spektrum luas, seperti karbapenem atau florokuinolon, dapat digunakan sebagai pilihan yang tepat untuk mengendalikan infeksi bakteri ini mengingat pedoman terapi tidak tersedia. Gentamisin dan amikasin memiliki resistensi menengah. Perawatan jangka panjang direkomendasikan sebagai frekuensi tinggi penyebaran hematogen ke organ viseral dan perlu dilakukan pengamatan terhadap kekambuhan.

Dalam sebuah studi komprehensif, Fantinatti-Gaboggini dkk (2014) menjelaskan urutan gen di *C. violaceum* ATCC 12472 terkait dengan resistensi obat. Selain gen yang mengkode beta-laktamase, sistem eflux bertindak sebagai pengangkut pemompaan obat sitotoksik searah dari sel ke media ekstraseluler merupakan mekanisme kunci dari resistensi obat ganda pada bakteri. Lima kelas translokasi eflux obat telah dijelaskan sebagai *small multidrug resistance* (SMR), *ATP binding cassette* (ABC), *major facilitator* (MF), *multidrug and toxic compound extrusion* (MATE), dan *resistance nodulation cell division* (RND). Genom *C. violaceum* ditandai dengan adanya gen yang mirip dengan lokus *the multiple antibiotic resistance* (mar), yang operon marRAB-nya diketahui mengendalikan resistensi pada *Escherichia coli*. ORF dengan kemiripan dengan marC terdapat pada *C. violaceum*.

Kesamaan gen dengan pompa resistensi multidrug MF dan SMR ditemukan pada *C. violaceum*. Pompa efflux melindungi bakteri dari beberapa antibiotik yang tidak terkait. Misalnya, karakteristik *bicyclomycin resistance protein* (bcr) dari MF diidentifikasi dalam *C. violaceum*. Translokasi EmrE dari SMR merupakan protein kecil yang memberikan resistensi terhadap tetrasiklin, eritromisin, dan sulfadiazin. Gen yang mirip dengan emrE terdapat dalam *C. violaceum*. Beberapa gen dengan kemiripan dengan sistem transportasi pengikat ATP dan ke RND sistem eflux memediasi resistensi terhadap akriflavin makrolid. Ekspresi berlebih dari produk gen lain, seperti MdfA, menghasilkan resistensi terhadap puromisin, rifampisin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan eritromisin. Homolog dari gen ini juga diidentifikasi pada *C. violaceum*. Hasil ini menunjukkan bahwa resistensi antibiotik merupakan faktor penting yang harus diatasi pada infeksi *C. violaceum*.

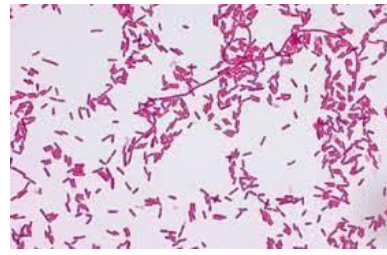
Pemeriksaan Laboratorium

A. Kultur dan Mikroskopis

Chromobacterium violaceum mudah terlihat karena koloninya yang berwarna ungu. Tumbuh dengan baik pada suhu 22°C dan 37°C, tetapi tidak pada suhu 4°C, 46°C dan 60°C. Koloni pada cawan agar nutrisi pada suhu optimal berwarna ungu, melingkar, agak menonjol, dengan tepian utuh dan permukaan halus. *C. violaceum* adalah *coccobacillus* motil, Gram-negatif, non-spora. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Kultur *C. violaceum* pada media Agar Darah



Gambar 4. Pewarnaan Gram *C.violaceum*

B. Uji Biokimia *Chromobacterium violaceum*

Chromobacterium violaceum merupakan famili Neisseriaceae dari β -Proteobacteria , dijelaskan pertama kali oleh Bergonzini (18800. *C. violaceum* bersifat fakultatif anaerob tumbuh optimal pada suhu 300C -350C. Bakteri saprofit ini ditemukan terutama di tanah dan air. *Chromobacterium violaceum* tumbuh dengan mudah media kultur bakteriologis yang berbeda termasuk agar nutrisi, agar darah, agar MacConkey, dan Agar Muller-Hinton pada 35-37oC dan menghasilkan koloni halus cembung dengan logam violet gelap kemilau. Karakteristik biokimia *C. violaceum* bisa dilihat pada tabel 2.

Table 2. Karakteristik morfologi dan uji biokimia *Chromobacterium violaceu*

Properties	Description
1. Size	(0.6-0.9 × 1.5-3.0) mm
2. Shape	Rods with rounded end
3. Capsule	Always capsulated
4. Motility	Motile by means of a single polar flagellum
5. Growth at 40 C	-
6. Growth at 370 C	+
7. Growth at pH 4	+
8. Growth at pH 3	-
9. Growth in 2% NaCl	+
10. Growth in 4% NaCl	-
11. Anaerobic growth	+
12. Fermentation of glucose	+
13. Cyanide production	+
14. Lecithinase production (Turbid zone on egg yolk agar)	+
15. Acid production from	
L-arabinose	-
Trehalose	+
D-galactose	-
Gluconate	+
D-maltose	-
N-acetyl glucosamine	+
16. Lactate utilization	+
17. Casein hydrolysis	+
18. Esculin hydrolysis	-

'-' and '+' respectively indicates absence and presence

C. Uji kepekaan antimikroba *Chromobacterium violaceum*

Data tentang kepekaan antimikroba *C. violaceum* masih sangat terbatas karena patogen ini jarang diisolasi dari spesimen klinis dan hasil uji kepekaan berbeda-beda pada keadaan klinis yang berbeda. The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) belum menetapkan minimum inhibitory concentration (MIC) yang terkait dengan *C. violaceum*.

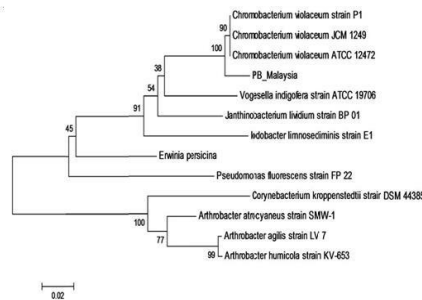
Pada tahun 1988, Aldridge dan lainnya melakukan penelitian untuk membandingkan aktivitas *in vitro* siprofloksasin dan agen antimikroba lainnya, seperti tikarsillin, karbenisilin, dan cefoksitin. Sebelum tahun 1990, pengobatan untuk infeksi *C. violaceum* adalah kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol, tetrasiklin atau aminoglikosida. Setelah tahun 1990, beberapa antimikroba baru yang diperkenalkan termasuk fluorokuinolon dan karbapenem. Menurut Aldridge (1988) siprofloksasin merupakan obat paling aktif untuk melawan *C. violaceum*. Namun terapi kombinasi dengan rejimen kloramfenikol, beta-laktam, trimetoprim-sulfametoksazol, atau fluorokuinolon bersama dengan salah satu aminoglikosida adalah obat pilihan. Masa pengobatan ekstensif antimikroba parenteral selama 2- 4 minggu untuk infeksi *C. violaceum* diikuti dengan terapi pemeliharaan dengan agen oral seperti trimetoprim-sulfametoksazol, tetrasiklin, atau fluorokuinolon selama 2 sampai 3 bulan untuk mencegah kekambuhan dianjurkan. Oleh karena itu, penting bagi klinisi untuk menyadari infeksi *C. violaceum* dan rejimen pengobatan antimikroba yang tepat.

D. *Polymerase chain reaction (PCR)*

C. violaceum dapat diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan Amplifikasi rRNA 16S parsial dilakukan dengan PCR dengan DNA genom isolat sebagai templat. Reaksi amplifikasi dibuat menggunakan Taq DNA polimerase dengan basa 1 dan oligo 14-F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492-R (5'-GGTACCTTGTTAGGACTT-3') sebagai primer bakteri universal. Program PCR dilakukan dalam Thermal Cycler (Bio-rad) yang terdiri dari tiga tahap: denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik; annealing pada suhu 52,7°C selama 30 detik; dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Amplikon dimurnikan menggunakan kit pemurnian PCR untuk analisis sekuensing.

E. Analisis molekular filogenetik

Analisis urutan 16S rRNA menunjukkan identitas yang tinggi (99%) antara bakteri serupa dengan *C. violaceum*. Pohon filogenik (Gambar 5) menunjukkan bahwa isolat dikelompokkan bersama dengan isolat *C. violaceum* lainnya dalam clade berbeda yang didukung oleh nilai bootstrap 99%. Akan tetapi berbeda dari *Vogesella indigofera*, bakteri lain yang menghasilkan pigmen ungu.



Gambar 5. Pohon filogenetik *Chromobacterium violaceum* yang bergabung dengan kerabat dan taksa bakteri serupa, berdasarkan urutan gen 16S rRNA.

KESIMPULAN

Hubungan klinis antara CGD dan infeksi *C. violaceum* terkait dengan oksidase NADPH sistem (NOX). Kombinasi agen antimikroba dipertimbangkan untuk terapi efektif. Durasi minimum 3 bulan harus dipertimbangkan pada pasien dengan infeksi *C. violaceum* invasif. Untuk memastikan diagnosis penyakit infeksi yang disebabkan *C. violaceum*, maka perlu ditetapkan diagnostik laboratorium untuk menetapkan etiologi infeksi dan meminimalisir resistensi antibiotik terhadap *C. violaceum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ang YM. A very rare and rapidly fatal case of *Chromobacterium violaceum* septicemia. *Med J Malaysia*. 2014;59(4):535–537.
- Darmawan G, Kusumawardhani RY, Alisjhabana B, Fadjar TH. *Chromobacterium violaceum*: the Deadly Sepsis. *Acta Med Indones*. 2018;50(1):80–81
- Fantinatti-Garboggini F, Almeida R, Portillo V, et al. Drug resistance in *Chromobacterium violaceum*. *Genet Mol Res*. 2014;3 (1):134–147
- Bottieau E, Mukendi D, Kalo J-R, et al. Fatal *Chromobacterium violaceum* bacteraemia in rural Bandundu, Democratic Republic of the Congo. *NMNI*. 2015;3:21–23. doi:10.1016/j.nmni.2014.10.007
- Sharmin S, Jahan AA, Kamal S, Sarker PJ. Fatal Infection Caused by *Chromobacterium violaceum*: a case report from a tertiary care hospital in Bangladesh. *Case Rep Infect Dis*. 2019;2019. doi:10.1155/2019/6219295
- Umadevi S, Kumar S, Stephen S, Joseph N. *Chromobacterium violaceum*: a potential nosocomial pathogen. *Am J Infect Control*. 2013;41(4):386. doi:10.1016/j.ajic.2012.05.004
- Durán M, Faljoni-Alario A, Durán N. *Chromobacterium violaceum* and its important metabolites. *Folia Microbiol*. 2016;55 (6):535–547. doi:10.1007/s12223-010-0088-4
- Batista JH, da Silva Neto J. *Chromobacterium violaceum* pathogenicity: updates and insights from genome sequencing of novel *Chromobacterium* species. *Front Microbiol*. 2017;8:2213. doi:10.3389/fmicb.2017.02213
- Kothari V, Sharma S, Padia D. Recent research advances on *Chromobacterium violaceum*. *Asian Pac J Trop Dis*. 2017;10 (8):744–752. doi:10.1016/j.apjtm.2017.07.022

- Durán N, Menck C. *Chromobacterium violaceum*: a review of pharmacological and industrial perspectives. *Crit Rev Microbiol*. 2015;27(3):201–222. doi:10.1080/20014091096747
- Jitmuang A. Human *Chromobacterium violaceum* infection in Southeast Asia: case reports and literature review. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2018;39(3):452.
- Moore CC, Lane JE, Stephens JL. Successful Treatment of an Infant with *Chromobacterium violaceum* Sepsis. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;32(6):e107– e10. doi:10.1086/319356
- Antonio RV, Creczynski-Pasa TB. Genetic analysis of violacein ^ biosynthesis by *Chromobacterium violaceum*. *Genet Mol Res* 2014; 3(1): 85-91.
- Batista, J.H.; da Silva Neto, J.F. *Chromobacterium violaceum* pathogenicity: Updates and insights from genome sequencing of novel *Chromobacterium* species. *Front. Microbiol*. 2017, 8, 2213
- Meher-Homji Z, Mangalore RP, Johnson PD, et al. *Chromobacterium violaceum* infection in chronic granulomatous disease: a case report and review of the literature. *JMM Case Rep* 2017; 4(1)
- Durán, N, Justo G. Z, Durán M, et al. Advances in *Chromobacterium violaceum* and properties of violacein-its main secondary metabolite: a review. *Biotechnol. Adv*; 2016, 34: 1030-1045.
- Sharmin S, Akter Jahan A, Kamal S.M.M, et al. Fatal Infection Caused by *Chromobacterium violaceum*: A Case Report from a Tertiary Care Hospital in Bangladesh. *Case Reports in Infectious Diseases*; 2019.
- Richard KR, Lovvorn JJ, Oliver SE, et al. *Chromobacterium violaceum* sepsis: rethinking conventional therapy to improve outcome. *Am J Case Rep*; 2015, 16: 740- 744
- Rai R, Karnaker V.K, Shetty V, et al. *Chromobacterium violaceum* septicaemia-a case report. *Al Ameen J. Med*; 2018, Sci. 4: 201- 203
- Liu D.X, Didier P.J, Plauche G.B. *Chromobacterium violaceum* infections in 13 nonhuman primates. *J. Med. Primatol*; 2019, 41: 107-114.
- Miller DP, Blevins WT, Steele DB, et al. A comparative study of virulent and avirulent strains of *Chromobacterium violaceum*. *Can J Microbiol*; 2018, 34: 249.
- Brazilian National Genome Project Consortium. The complete genome sequence of *Chromobacterium violaceum* reveals remarkable and exploitable bacterial adaptability. *Proc. Natl. Acad. U. S. A.* 100; 2016, 11660-11665.
- Miki T, Akiba K, Iguchi M, et al. The *Chromobacterium violaceum* type III effector Cop E, a guanine nucleotide exchange factor for Rac1 and Cdc42, is involved in bacterial invasion of epithelial cells and pathogenesis. *Mol. Microbiol*; 2019, 80: 1186- 1203.
- Kar H, Mane V, Urhekar AD, et al. A first case report in tertiary care hospital, Navi Mumbai, India *Chromobacterium violaceum* septicaemia in a child. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*; 2018, 2(7): 245-249
- Chen CH, Lin LC, Liu CE, et al. *Chromobacterium violaceum* bacteremia: a case report. *J Microbiol Immunol Infect*; 2017, 36: 141-144.

- Orsetti A.G, Markiewicz P, Epstein M.G, et al. Liver abscesses by *Chromobacterium violaceum*: a case report of a rare disease. *OA Case Rep*; 2018, 2: 19.
- Campbell J.I, Lan N.P.H, Qui P.T, et al. A successful antimicrobial regime for *Chromobacterium violaceum* induced bacteremia. *BMC Infect. Dis*; 2013, 13: 4
- Sirinavin S, Techasaensiri C, Benjaponpitak S, Pornkul R, and Vorachit M. Invasive *Chromobacterium violaceum* infection in children: case report and review. *Pediatr Infect Dis J*; 2015, 24: 559-561.
- Mamlok RJ, Mamlok V, Mills GC, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, neutrophil dysfunction and *Chromobacterium violaceum* sepsis. *J Pediatr*; 2017, 111: 852- 854
- Hagiya H, Murase T, Suzuki M, et al. *Chromobacterium violaceum* nosocomial pneumonia in two Japanese patients at an intensive care unit. *J. Infect. Chemother*; 2014, 20: 139-142.
- Anah MU, Udo JJ, Ochigbo SO, et al. Neonatal septicemia in Calabar, Nigeria. *Trop Doct*; 2008, 38: 126 to 8.
- Scholz HC, Witte A, Tomaso H, et al. Detection of *Chromobacterium violaceum* by multiplex PCR targeting the *prgl*, *spaO*, *invG*, and *sipB* genes. *Syst Appl Microbiol*; 2016, 29: 45-8.
- Marciano BE, Spalding C, Fitzgerald A, et al. Common severe infections in chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis* 2015;60:1176e83
- Lin Y, Majumdar SS, Hennessy J, Baird RW. The spectrum of *Chromobacterium violaceum* infections from a single geographic location. *Am J Trop Med Hyg* 2016;94:710e6.
- Meher-Homji Z, Mangalore RP, D R Johnson P, Y L Chua K. *Chromobacterium violaceum* infection in chronic granulomatous disease: a case report and review of the literature. *JMM Case Rep* 2017;4:e005084
- Marciano BE, Spalding C, Fitzgerald A, et al. Common severe infections in chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis* 2015;60:1176e83
- Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol* 2016;16(7):407e20
- Miao EA, Mao DP, Yudkovsky N, et al. Innate immune detection of the type III secretion apparatus through the NLRC4 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci U. S. A* 2015;107:3076e80
- Yang CH, Li YH. *Chromobacterium violaceum* infection: a clinical review of an important but neglected infection. *J Chin Med Assoc* 2016;74:435e41
- Segal BH, Ding L, Holland SM. Phagocyte NADPH oxidase, but not inducible nitric oxide synthase, is essential for early control of *Burkholderia cepacia* and *Chromobacterium violaceum* infection in mice. *Infect Immun* 2016;71: 205e10.
- Lin Y, Majumdar SS, Hennessy J, Baird RW. The spectrum of *Chromobacterium violaceum* infections from a single geographic location. *Am J Trop Med Hyg* 2016;94:710e6
- Fantinatti-Garboggini F, Almeida Rd, Portillo Vdo A, et al. Drug resistance in *Chromobacterium violaceum*. *Genet Mol Res* 2014;3:134e47

- Aldridge KE, Valainis GT, Sanders CV. Comparison of the in vitro activity of ciprofloxacin and 24 other antimicrobial agents against clinical strains of *Chromobacterium violaceum*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;10:31e9.
- Arifiyanto A, Apriyanti FD, Purwaningsih P, Kalqutny SH, Agustina D, Surtiningsih T, Shovitri M, Zulaika E. 2017. Lead (Pb) bioaccumulation; Genera *Bacillus* isolate S1 and SS19 as a case study. *AIP Conf Proc* 1854 (1): 020003. DOI: 10.1063/1.4985394.
- Kaniyarakkal V, Orvankundil S, Lalitha SK, et al. *Chromobacterium violaceum* septicaemia and urinary tract infection: case reports from a tertiary care hospital in South India. *Case Rep Infect Dis*; 2016, 2016: 6795743.
- Sirinavin S, Techasaensiri C, Benjaponpitak S, Pornkul R, and Vorachit M. Invasive *Chromobacterium violaceum* infection in children: case report and review. *Pediatr Infect Dis J*; 2015, 24: 559-561.
- August PR, Grossman TH, Minor C, Draper MP, MacNeil IA, Pemberton JM, Call KM, Holt D, Osborne MS (2017). Sequence analysis and functional characterization of the violacein biosynthetic pathway from *Chromobacterium violaceum*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2:513-519