

## IDENTIFIKASI GEN TEM ISOLAT KLINIK *Escherichia coli* PENGHASIL ESBLs DI RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA

**Yulianto Ade Prasetya**

Program Studi Teknologi Laboratorium Medik,  
Jalan Raya By Pass Krian Km.33 Sidoarjo, 61263  
STIKes RS Anwar Medika Sidoarjo.  
Email: yuliantoadeprasetya@gmail.com

### ABSTRACT

*Escherichia coli* producing Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) can turn off the cephalosporin third and fourth generation and monobactam (aztreonam). *E.coli* producers ESBLs who encoded by TEM genes can hydrolyzed ampicillin, cephalontin, and cephalozin. The purpose of this research is to identify the existence of TEM genes from some space at RSUD Dr. Soetomo Surabaya which has never been previously reported. The kind of research that used is observational descriptive with the approach genetic molecule. About thirty isolate clinical *E.coli* ESBLs producers of urine patients in January and February 2014 done with amplification of PCR, electrophoresis, and the result visualized on agarose gel 1.5%. The result was ten isolates (30%) positively containing TEM genes and most common to find in the Interna Department.

**Keywords:** ESBLs, *Escherichia coli*, RSUD Dr. Soetomo Surabaya, TEM

### PENDAHULUAN

*Escherichia coli* merupakan patogen oportunistik yang telah menduduki insidensi tertinggi penyebab infeksi saluran kemih (Jan *et al*, 2009) dan saluran pencernaan (Russo & Johnson, 2003). Bakteri ini juga sering menunjukkan peningkatan resistensi terhadap berbagai antibiotik (Jan *et al*, 2009; Miranda *et al*, 2004) dan bertanggungjawab terhadap wabah infeksi nosokomial, peningkatan morbiditas dan mortalitas serta peningkatan biaya kesehatan karena mampu memproduksi *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs) (Colodner, 2013; Chaudary, 2004). ESBLs merupakan enzim yang dikode oleh gen (umumnya terdapat dalam plasmid) yang mampu mendegradasi antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga dan keempat, serta monobaktam (aztreonam) (Kuntaman *et al*, 2011; Sharma *et al*, 2010).

Bakteri penghasil ESBLs yang dikode oleh gen TEM menyebabkan resistensi terhadap ampisilin, sefalontin, dan sefazolin (Kiratisin *et al*, 2008). Prevalensi gen ini di

beberapa negara berbeda-beda dan cukup tinggi yakni 77% di Thailand (Kiratisin *et al*, 2008), 48% di Ghana (Oduro-Mensah *et al*, 2016), dan 1.2% di Selandia Baru (Hefferman *et al*, 2009), tetapi di Indonesia khususnya di RSUD Dr. Soetomo Surabaya belum pernah dilaporkan sebelumnya. Identifikasi bakteri penghasil ESBLs secara fenotipik telah rutin dilakukan secara *Double Disk Synergy Test* (DDST) dan perangkat Phoenix, namun secara genotipik belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan gen TEM penghasil ESBLs pada *Escherichia coli* yang berasal dari urin pasien pada bulan Januari dan Februari 2014 Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Klinik di RSUD Dr. Soetomo.

### METODE PENELITIAN

#### Persiapan panen sel

Isolat klinik *E.coli* yang digunakan berasal dari urin pasien yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada bulan Januari dan Februari 2014. Isolat klinik

*E.coli* diinokulasikan ke medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang mengandung ampicilin 0.128 mg/ml dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Satu ose koloni yang tumbuh disuspensikan dengan 0.1 ml aquadest steril dalam mikrotube dan diinkubasi dalam *hot plate* suhu 100°C selama 5 menit. Sel kemudian disentrifugasi 100 rpm selama 5 menit pada suhu ruang. Supernatan diambil sebanyak 15 µl dan digunakan sebagai DNA *template* untuk amplifikasi.

### Amplifikasi gen TEM

Sebanyak 5 µl *template* dicampur dengan 25 µl campuran reaksi PCR (0.5 U Taq Polymerase, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, Buffer 1X, dan 1.25 µl primer). Primer spesifik:

5'ATGAGTATTCAACATTTCCG3' dan 5'CTGACAGTTACCAATGCTTA3'. Kondisi PCR yang digunakan yaitu: denaturasi awal pada suhu 94 °C selama 7 menit kemudian diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 96 °C selama 50 detik (denaturasi), 50 °C selama 40 detik (*annealing*), dan 72 °C selama 1 menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Produk hasil PCR divisualisasikan dalam 1.5 % gel agarose kemudian dilakukan elektroforesis pada voltase 100 selama 60 menit. Pita DNA yang terbentuk diamati dengan bantuan *UV Transilluminator* panjang gelombang 360 nm.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel urin yang mengandung *E.coli* dipilih karena merupakan sampel yang paling banyak terkumpul dan positif memproduksi ESBLs. Hal ini sesuai dengan penelitian di tahun 2005 dan tahun 2011 dimana sampel ini menduduki presentase tertinggi yang terkumpul yakni masing-masing sebanyak 67.1% (Severin *et al*, 2010) dan 26.5 % (Kuntaman *et al*, 2011). Beberapa negara juga ditemukan hal yang

serupa dimana *E.coli* penghasil ESBLs ditemukan sebesar 63% di Thailand (Kiratisin *et al*, 2008) dan 89% di Spanyol (Sorlozano *et al*, 2007). *Escherichia coli* penghasil ESBLs menyebabkan pilihan antibiotik menjadi semakin terbatas terutama untuk individu usia lanjut dan *immunocompromised* (Ferreira *et al*, 2011). Pada media *Muller-Hinton Agar* ditambahkan antibiotik ampicilin untuk menstimulor gen penghasil ESBLs, dimana umumnya gen ini terdapat pada plasmid terutama plasmid R (Pratiwi, 2008).

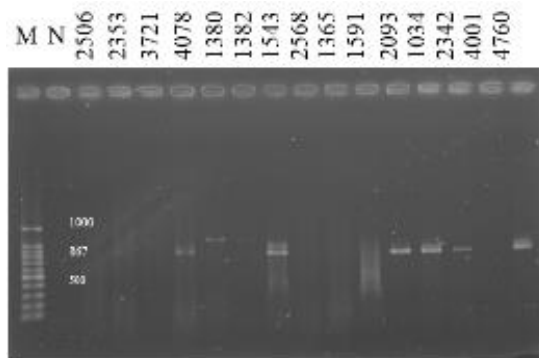
Ruang Interna (Tabel 1) ditemukan paling banyak isolat klinik *E.coli* penghasil ESBLs yakni sebanyak 11 isolat dan berbeda dengan ruangan lain yang hanya ditemukan sebanyak 1 sampai 5 isolat. Hal ini dapat disebabkan perbedaan penggunaan antibiotik yang berbeda pada masing-masing ruang perawatan tersebut. Penggunaan antibiotik sefalosporin generasi ketiga, antibiotik golongan beta laktam, dan fluoroquinolon di rumah sakit diduga menjadi salah satu faktor resiko munculnya bakteri penghasil ESBLs. Selain itu, penggunaan antibiotik yang kurang bijak pada komunitas juga turut menyumbangkan penyebab penyebaran kuman ESBLs menjadi meningkat (Adelyap *et al*, 2011).

Hasil amplifikasi PCR gen TEM (Gambar 1) dengan ampikon sebesar 867 bp menunjukkan bahwa sebanyak 10 isolat (30%) positif mengandung gen TEM. Penelitian Severin *et al* (2010) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya menunjukkan bahwa tidak ditemukan satupun isolat yang mengandung gen TEM. Distribusi ruangan (Tabel 1) ditemukan gen TEM paling banyak ditemukan di Ruang Interna. Penelitian di India juga menunjukkan hasil yang tidak terlalu jauh yakni sebanyak 38% *E.coli* yang membawa gen TEM (Sharma *et al*, 2010), sedangkan di Thailand ditemukan cukup tinggi yaitu sebesar 77% (Kiratisin *et al*, 2008). Keberadaan gen TEM yang sebelumnya tidak ditemukan pada penelitian

sebelumnya dapat disebabkan oleh lingkungan luar (infeksi komunitas) dimana pasien yang terinfeksi *E.coli* penghasil ESBLs yang dikode gen TEM telah menyebarkannya di lingkungan rumah sakit (infeksi nosokomial). Hal ini didukung oleh penelitian Karoglu *et al* (2007) yang berhasil mengisolasi 51 isolat *E.coli* dari sumber mata air Turki, dimana 11% mengandung gen TEM.

Tabel 1. Distribusi Keberadaan Gen TEM pada Isolat Klinis *E.coli* Penghasil ESBLs di beberapa ruang RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Ruang Asal Isolat	Jumlah Isolat	Gen TEM (%)
Interna	13	6
Anak	4	-
IRJ	5	1
Bedah	1	-
Paru	4	1
Jiwa	1	-
Kulit	1	1
Saraf	1	1



<b>TOTAL</b>	<b>30</b>	<b>10 (30%)</b>
--------------	-----------	-----------------

Gambar 1. Hasil amplifikasi PCR *E.coli* dengan amplikon sebesar 867 bp. N merupakan kontrol negatif. M merupakan marker.

Kuman ESBLs tipe TEM banyak ditemukan pada mikroflora normal usus, dimana hal ini dilakukan oleh bakteri anaerob fakultatif sebagai strategi untuk mempertahankan diri dari pemberian antibiotik golongan beta lactam yang diberikan secara per oral (Heritage *et al*, 2001).

Sebanyak dua puluh isolat *E.coli* penghasil ESBLs yang tidak membawa gen TEM bukan berarti tidak memproduksi ESBLs. Ada 700 tipe ESBLs yang diklasifikasikan kedalam empat grup yakni Grup 1, Grup 2 (2a-2f), Grup 3 dan Grup 4 (Bush & Jacoby, 2010), sehingga dimungkinkan bakteri yang tidak membawa gen TEM, membawa gen lain seperti gen OXA, PER, GES, CTX-M, atau SHV (Sana *et al*, 2010). Oleh sebab itu, pemeriksaan pasien dengan infeksi bakteri penghasil ESBLs tidak hanya dilakukan secara fenotipik tetapi secara genotipik penting untuk dilakukan. Tipe gen yang memproduksi ESBLs yang berbeda juga membutuhkan terapi antibiotik yang berbeda pula.

**KESIMPULAN**

Pemeriksaan secara genotipik terhadap *E.coli* penghasil ESBLs menunjukkan bahwa sebanyak 30% (10/30) isolat positif membawa gen TEM, yang pada penelitian sebelumnya belum pernah ditemukan. Ruang Interna ditemukan paling banyak *E.coli* penghasil ESBLs tipe TEM yakni sebanyak enam isolat.

**DAFTAR PUSTAKA**

Adelyap, M.A., Harbart, S., Vernaz, N., Kearney, M.P., Scott, M.G., Elhajji, F.W.D., Aldiab, M.A and McElnay, J.C. 2011. The impact of antibiotic use on the incidence and resistance pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in primary and secondary healthcare settings. *British Journal of Clinical Pharmacology*. DOI:10.1111/1365-2125.

Bush, K. & Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 54: 969-976.

Chaudary, U. 2004. *Review Article: Extended Spectrum beta lactamase-an Emerging Threat to Clinical Therapeutics*. <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=>

- 02550587;year=2004;volume=22;issue=2;spage=75;epage=80;aualast=Chaudary [26 Juli 2017].
- Colodner, R. 2013. *Extended-Spectrum Beta-Lactamases: The End of Cephalosporins*; downloaded at <http://www.ima.org.il/imaj/ar05may-13.pdf>. [28 Juli 2017].
- Ferreira, C.M., Ferreira, W. A., Almeida, N.O., Gomes, F., Naveca, and Barbosa, M.G. 2011. Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria Isolated From Hematologic Patients In Manaus, State Of Amazonas, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42: 1076-1084.
- Hefferman, H.M., Woodhouse, R.E, Pope, C.E., and Blackmore, T.K. 2009. Prevalence and types of extended-spectrum beta lactamase among urinary *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in New Zealand. *Int.J.Antimicrob Agents*. 34(6): 544-549.
- Heritage, J., Ransom, N., Chamber, P.A., and Wilcox, M.H. 2001. A comparison of culture a PCR to determine the prevalence of ampicillin-resistant bacteria in the faecal oral of general practice patients. *Journal of Antimicrobial Chemoteraphy*. 48: 287-289.
- Jan, N., Sudhir, U., and Archana K. 2009. Plasmid profile analysis of multidrug resistant *E.coli* isolated from UTI patients of Nagpur City, India. *Romanian Biotechnological Letters*. 14 (5): 4635-4640.
- Karoglu, S.A., Ozgumus, O.B., Sevim, E., Koylaili, F., Sevim, A., and Yesilgil, P. 2007. Investigation of antibiotic resistance profil and TEM-type beta lactamases gene carriage of ampicillin resistant *Esherichia coli* strain isolated from drinking water. *Annals of Mircrobiology*. 57(2): 281-288.
- Kiratisin, P., Apisarnthanarak, A., Laesripa, C., and Saifon, P. 2008. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrob Agents Chemother*.52:2818-2824.
- Kuntaman, K., Santoso, S., Wahjono, H., Mertaningsih, N.M., Lestrasi, E.S., Farida, H., Hapsari, R., Firmanti, S.C., Noorhamdani, A.S., Santosaningsih, D., Purwono, P.B., and Kusumaningrum, D. 2011. The sensitivity pattern of extended spectrum beta lactamase-producing bacteria against six antibiotics that routinely used in clinical setting. *J. Indon Med Assoc*. 61(12): 482-486.
- Miranda, P.R. Davide, M.G., and Peter, J.C. 2004. Evolution of multi-resistance plasmid in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology*. 150: 1539-1546.
- Oduruch-Mensah, D., Obeng-Nkrumah, N., Bonney, E.Y., Oduro-Mensah, E., Twum-Damsi, K., Osei, Y.D., and Sackey, S.T. 2016. Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Ghana. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 15:29.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Russo, T.A and Johnson, J.R. 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes infect*. 5: 449-456
- Sana, T., Rami, K., Racha, B., Fouad, D., Marcel, A., Hasan, M., Sani, H., and Mozer, H. 2011. Detection of genes TEM, OXA, SHV, and CTX-M in 73 clinical isolates of *Esherichia coli* producers of extended spectrum beta lactamases and determination of their

susceptibility to antibiotics. *iMedPub Journal*. 1(1):1-5.

Severin, J.A., Mertaningsih, N.M., Kuntaman, K., Lestari, E.S., Purwanta, M., Toom, N.L., Duerink, D.O., Hadi, U., Belkum, A., Verbrugh, H.A. and Goessens, W.H. 2010. Molecular characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Indonesia. *J. Antimicrob Chemother.* 65: 465-469

Sharma, J., Sharma, M and Ray, P. 2010. Detection of TEM & SHV genes in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital from India. *Indian J Med Res.* 132: 332-336.

Sorlozano, A., Guteirrez, J., Luna, J.D., Oteo, J., Liebena, J., Soto, M.J., and Piedrola, G. 2007. High presence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and resistance to quinolones in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiological Research.* 162: 347-354.

**“Halaman Sengaja dikosongkan”**