

Yulianto Ade Prasetya. (2018). Deteksi Gen SHV pada Isolat Klinik *Escherichia Coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) dari Urin Pasien di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Jurnal Bioeksperimen*. Vol. 4 (2) Pp. 42-45. Doi: 10.23917/bioeksperimen.v4i1.2795

## Deteksi Gen SHV pada Isolat Klinik *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) dari Urin Pasien di RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Yulianto Ade Prasetya

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

### Abstract

ESBLs of *Escherichia coli* responsible for the occurrence of outbreaks nosocomial infection, increased morbidity, and mortality as well as the increase in health costs. The purpose of the research to detection of SHV gene in *Escherichia coli* clinical isolates produce ESBLs, which is a collection of Clinical Microbiology Laboratory RSUD Dr. Soetomo Surabaya in January-February 2014 from urine of patients. The kind of research that we use is observational descriptive with the approach genotype molecule. The methods used for the detection of genotypic by (Polymerase Chain Reaction) PCR thus electrophoresis and visualized on agarose gel 1.5%. The results of research on the genes ESBL using PCR show than thirty isolates show that the twelve (40%) isolate positive containing a gene SHV.

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

### Abstrak

*Escherichia coli* ESBLs bertanggungjawab terhadap terjadinya wabah infeksi nosokomial, peningkatan morbiditas dan mortalitas, serta peningkatan biaya kesehatan. Tujuan penelitian ini yakni untuk mendeteksi keberadaan gen SHV pada isolat klinik *E.coli* penghasil ESBLs dari urine pasien yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada bulan Januari - Februari 2014. Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional deskriptif dengan pendekatan molekul genetik. Metode yang digunakan untuk deteksi gen SHV menggunakan PCR (Polymerase Chain Reaction) kemudian dielektroforesis dan divisualisasikan pada gel agarose 1.5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari tiga puluh isolat, sebanyak dua belas isolat (40%) positif mengandung gen SHV.

**Kata kunci:** ESBLs, *Escherichia coli*, RSUD Dr. Soetomo Surabaya, SHV

### Pendahuluan

*Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs) merupakan enzim yang dikode oleh gen yang sebagian besar terdapat di plasmid yang dapat menghidrolisis antibiotik sefalosporin generasi ketiga dan keempat serta monobaktam (aztreonam) (Sharma *et. al.*, 2010; Patterson, 2010). Colodner (2013) menyatakan bahwa *E. coli* merupakan kelompok *Enterobacteriaceae* yang paling banyak menghasilkan ESBLs. *Escherichia coli* termasuk patogen oportunistik yang selalu menunjukkan peningkatan

resistensi terhadap berbagai antibiotik. Bakteri ini menduduki insidensi tertinggi penyebab *urinary tract infections* (UTIs) (Jan *et. al.*, 2009). Salah satu gen pengkode ESBLs yang paling banyak ditemukan yakni SHV. Pada gen ini terjadi substitusi asam amino posisi 238 dan 240 sehingga menyebabkan resistensi terhadap sefotaksim dan seftazidim (Garza *et.al.*, 2007).

*Escherichia coli* penghasil ESBLs dari RSUD Dr. Soetomo Surabaya telah berhasil diidentifikasi dan dikonfirmasi secara fenotipik menggunakan DDST (*Double Disk Synergy Test*) dan perangkat Phoenix. Sebanyak tiga

puluh isolat *E.coli* penghasil ESBLs ditemukan di berbagai ruang yakni Ruang Interna, Anak, Instalasi Rawat Jalan (IRJ), Bedah, Paru, Jiwa, Kulit, dan Saraf. Selain secara fenotipik, identifikasi bakteri penghasil ESBLs secara genotipik penting dilakukan untuk mendeteksi sub tipe ESBLs dan memudahkan pemberian antibiotik secara efektif dan efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen SHV pada isolat klinik *E.coli* penghasil ESBLs di berbagai ruang RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

## Metode Penelitian

### 1. 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- Februari 2014. Isolat klinik *E.coli* diinokulasikan ke medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang mengandung sefotaksim 0.002 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.

### 2. Amplifikasi gen SHV

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 yang digunakan yakni 5'GGTTATGCGTTATTCGCC3' & 5'TTAGGTTGCCAGTGCTC3' (Ferreira *et al.*, 2011). 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

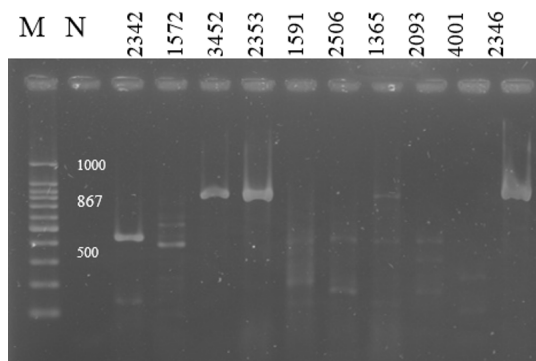
pada voltase 100 selama 60 menit. Pita DNA yang terbentuk diamati dengan bantuan *UV Transilluminator* panjang gelombang 360 nm.

## Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 43.33% isolat yang digunakan paling banyak berasal dari ruang Interna sedangkan 16.67% berasal dari ruang Instalasi Rawat Jalan (IRJ) (Tabel 1). Sampel urin yang mengandung *E.coli* digunakan karena paling banyak menghasilkan ESBLs dilihat dari data tahun 2005 yang menunjukkan sebanyak 61.7% *E.coli* penghasil ESBLs berasal dari urin (Severin *et al.*, 2010) sedangkan tahun 2011 ditemukan sebanyak 26.5% (Kuntaman *et al.*, 2011). Foxman (2010) menyebutkan bahwa UTIs merupakan infeksi yang paling sering disebabkan oleh *E.coli* sebesar 70-95% pada infeksi komunitas dan 50% pada infeksi nosokomial.

Penambahan sefotaksim pada medium dimaksudkan untuk menstimulasi plasmid dari *E.coli* penghasil ESBL, dimana gen pengkode ESBL paling banyak ditemukan di plasmid terutama plasmid R. Hasil visualisasi amplifikasi PCR (Gambar 1) menunjukkan bahwa sebesar 40% (12/30) *E.coli* penghasil ESBLs mengandung gen SHV. Persentase ini meningkat bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya tahun 2005 yakni sebesar 4.1% pada SHV-1 dan 1.4% pada SHV-12 (Severin *et al.*, 2005). Beberapa negara juga bervariasi persentasenya kehadiran gen SHV pada *E.coli* penghasil ESBLs yakni di Thailand 3.8% (Kirastin *et al.*, 2008) dan Mexico sebesar 35.7% (Garzo *et al.*, 2007).

Data penelitian ini juga menunjukkan bahwa gen SHV pada *E.coli* penghasil ESBLs ditemukan paling banyak di ruang Instalasi Rawat Jalan (IRJ) (Tabel 1) yakni empat isolat sedangkan isolat lain ditemukan di ruang Interna (3 isolat), Ruang Paru (3 isolat), dan Ruang Anak (2 isolat). Penelitian lain menunjukkan bahwa isolat *E.coli* yang mengandung SHV banyak ditemukan di ruang IGD (Instalasi Gawat Darurat, Traumatologi, dan Bedah (Sorlozano *et al.*, 2007).



Gambar 1. Hasil PCR gen SHV dengan amplikon sebesar 867 bp

Ruang	Jumlah isolat (%)	Gen SHV (%)
Interna	13 (43.33)	3 (25%)
Anak	4 (13.34)	2 (17%)
IRJ	5 (16.67)	4 (33%)
Bedah	1 (3.33)	-
Paru	4 (13.34)	3 (25%)
Jiwa	1 (3.33)	-
Kulit	1 (3.33)	-
Saraf	1 (3.33)	-
TOTAL	30	12

Perbedaan jumlah ini dapat disebabkan penggunaan antibiotik yang berbeda pada masing-masing ruang perawatan. Penggunaan antibiotik sefalosporin generasi ketiga, antibiotik golongan beta laktam, dan antibiotik golongan

floroquinolon di rumah sakit diduga menjadi faktor resiko munculnya bakteri penghasil ESBLs. Selain itu, penggunaan antibiotik pada komunitas turut berperan dalam penyebaran gen resisten diantara spesies bakteri (Adelyap *et.al.*, 2011). Semakin tinggi penggunaan antibiotik yang tidak tepat, semakin tinggi pula tekanan selektif proses evolusi dan proliferasi strain mikroorganisme yang bersifat resisten (Pratiwi, 2008).

Sebanyak enam belas isolat yang tidak teridentifikasi gen SHV bukan berarti tidak menghasilkan ESBLs. Ada lebih dari 700 jenis ESBLs yang diklasifikasikan dalam empat grup yakni grup 1, grup 2 (2a-2f), grup 3a (B1 dan B2), dan grup 4. Kemungkinan isolat klinik *E.coli* penghasil ESBL yang tidak teridentifikasi gen SHV mengandung gen seperti TEM, CTX-M, atau CARB-2 (Bush & Jacoby, 2010).

### Kesimpulan

Berdasarkan identifikasi secara genotip menggunakan PCR sebanyak 40% (12/30) isolat klinik *E.coli* penghasil ESBLs berhasil di deteksi dengan persebaran empat isolat (33%) di Ruang Instalasi Rawat Jalan, tiga isolat (25%) di Ruang Interna, tiga isolat (25%) di Ruang Paru, dan dua isolat (17%) di Ruang Anak.

### Daftar Pustaka

- Adelyap, M.A., Harbart, S., Vernaz, N., Kearney, M.P., Scott, M.G., Elhajji, F.W.D., Aldiab M.A dan Mc Elnay, 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.
- Colodner, R. 2013. Extended-Spectrum Beta-Lactamases: The End of Cephalosporins; <http://www.ima.org.il/imag/ar05may-13.pdf>.
- 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.
- Foxman, B. 2010. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol* 7(12): 653-660.

- Garza-Ramos, U., Martinez-Romero, E., and Silvia-Sanchez, J. 2007. SHV-type Extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) are encoded in related plasmids from Enterobacteria clinical isolates from Mexico. *Salud Publica Mex.* 49(6): 415-421.
- 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.
- 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.
- Paterson, D.L. 2010. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: a Clinical Update; downloaded at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1265908/pdf/0016-05>.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga. Jakarta. 151.
- 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.