

RINGKASAN

Pola Distribusi Gen SHV, TEM dan CTX-M pada Isolat Klinis *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum β -lactamases* (ESBLs) dari Urin Pasien di RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Extended Spectrum β -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). *E.coli* ESBL bertanggungjawab terhadap terjadinya wabah infeksi nosokomial, peningkatan morbiditas dan mortalitas serta peningkatan biaya kesehatan. Identifikasi bakteri penghasil ESBL (fenotipik dan genotipik) penting untuk epidemiologi klinik dan implikasi laboratorium. SHV dan TEM merupakan tipe klasik ESBL yang banyak dijumpai pada *E.coli* dan yang perlu diwaspadai yaitu keberadaan gen CTX-M dimana kemampuan hidrolisis sefotaksim lebih tinggi dibandingkan tipe SHV dan TEM.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui dan menganalisis pola distribusi gen ESBLs (*bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} & *bla*_{CTX-M}) pada isolat klinis *E.coli* penghasil ESBL yang berasal dari urin pasien di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Isolat klinis *E.coli* yang digunakan yaitu sebanyak tiga puluh yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang berasal dari urin pasien pada bulan Januari-Februari 2014. Uji kepekaan antibiotik telah dilakukan sebelumnya menggunakan Phoenix di Laboratorium Mikrobiologi klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan dalam penelitian ini hanya dilakukan analisis dari hasil uji kepekaan antibiotik tersebut. Bakteri *E.coli* dikultur dalam medium *Mueller-Hinton agar* dengan penambahan ampicillin 0.128 mg/ml dan sefotaksim 0.002 mg/ml selama 24 jam pada suhu 37°C. Satu ose koloni yang tumbuh diinokulasikan dalam mikrotube yang berisi 0.1 ml aquadest steril dan selanjutnya dilakukan ekstraksi DNA dengan *boiling method*. Hasil ekstraksi DNA kemudian dilakukan uji kemurnian DNA bakteri dengan menghitung rasio pada panjang gelombang 260 dan 280 nm menggunakan spektrofotometer sampai didapatkan hasil sebesar 1.8-2.0 yang menunjukkan bahwa DNA bakteri memiliki kemurnian tinggi dan dapat dilakukan amplifikasi menggunakan PCR. Metode untuk identifikasi ESBL secara genotipik untuk deteksi gen SHV, TEM dan CTX-M yaitu dengan menggunakan PCR. Campuran untuk reaksi PCR yaitu 25 μ l yang terdiri dari 12.5 μ l PCR Mastermix, 1.25 μ l untuk masing-masing primer dan 5 μ l DNA template. Hasil PCR kemudian dielektroforesis pada 100 volt selama \pm 60 menit dan divisualisasikan pada gel agarose 1.5%. Pita DNA yang dihasilkan untuk deteksi gen SHV, TEM dan CTX-M masing-masing sebesar 867 bp, 867 bp dan 593 bp.

Uji kepekaan antibiotik yang sudah dilakukan laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya menunjukkan bahwa 100% isolat *E.coli* resisten terhadap sefotaksim dan ampicillin, 96.67% resisten terhadap levofloksasin, 93.33% resisten terhadap tetrasiklin, 10% resisten terhadap meropenem dan 20% resisten terhadap fosfomisin. Deteksi *bla*_{SHV} pada isolat klinis *E.coli* ESBL di RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebesar 40% (12/30) dimana distribusi ruangan asal isolat ditemukan pada Interna (4), IRJ (3), Paru (3) dan Anak (2). Deteksi untuk *bla*_{TEM} sebesar 33.33% (10/30) dan distribusi ruangan

ditemukan antara lain di Interna (5), IRJ (2), Paru (1), Jiwa (1) dan Saraf (1). Deteksi *bla*_{CTX-M} pada isolat klinis *E.coli* ESBL di RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebesar 90% (27/30) dimana distribusi ruangan asal isolat ditemukan pada Interna (12), IRJ (5), Paru (4), Anak (3), Jiwa (1), Kulit (1) dan Saraf (1). Analisis pola distribusi *E.coli* ESBL di RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang membawa gen SHV dan TEM sebesar 6.67% (2/30), SHV dan CTX-M sebesar 36.67% (11/30), TEM dan CTX-M sebesar 30% (9/30) dan yang membawa gen SHV, TEM dan CTX-M sebesar 6.67% (2/30).

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, beberapa saran yang perlu ditindak lanjuti untuk penelitian berikutnya yaitu yang pertama perlu dilakukan sekuensing pada isolat klinis *E.coli* dari urin pasien yang ditemukan membawa gen SHV, TEM dan CTX-M karena adanya mutasi pada asam amino satu atau lebih akan menghasilkan resistensi antibiotik yang berbeda. Kedua, perlu diteliti lebih lanjut mengenai peningkatan keberadaan gen SHV dan TEM yang meningkat persentasenya dari tahun sebelumnya. Ketiga, beberapa *E.coli* pada penelitian ada yang resisten terhadap karbapenem, sehingga perlu ditelaah lebih lanjut mengenai potensinya menyebar ke strain atau spesies lain sebagai antisipasi pencegahan dan pengendalian infeksi ESBL_{CARBA}.

