

# IDENTIFIKASI GENOTIP CTX-M PADA *Escherichia coli* PENGHASIL EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) YANG RESISTEN PADA CEPHALOSPORIN GENERASI III DI RSUP WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR

Agus Sangka Pratama<sup>1,2</sup>, M. Natsir Djide<sup>1</sup>, M. Nasrum Massi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

<sup>2</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam, Makassar

<sup>3</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui untuk mendapatkan gambaran tentang prevalensi kejadian *Escherichia coli* penghasil ESBL yang resisten terhadap cephalosporin generasi III pada pasien RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan prevalensi genotip CTX-M *Escherichia coli* penghasil ESBL yang resisten terhadap cephalosporin generasi III pada pasien RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Penelitian dilaksanakan diruang perawat rawat inap, ruang ICU, ruang HCU, ruang PICU, ruang IGD anak, Infection Center, laboratorium patologi klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan laboratorium mikrobiologi klinik RSP Universitas Hasanuddin Makassar periode Juni 2018 – Agustus 2018. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan teknik pengambilan sampel secara consecutive sampling. Bakteri *Escherichia coli* diisolasi dari 50 pasien. Pengujian dilakukan meliputi uji sensitivitas antibiotika dengan menggunakan metode difusi agar Kirby-bauer dan vitek 2 compact, uji deteksi ESBL dengan metode *Double Disc Synergy Test* (DDST), *Phenotypic Confirmatory Test* dan Uji genotip CTX-M *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil penelitian menunjukkan uji sensitivitas antibiotika pada 50 sampel klinik (Urin, Sputum, Darah, Feses, Pus dan Jaringan) yang diuji terhadap antibiotika golongan sefalosporin generasi III yang telah mengalami resistensi sebesar 40 isolat (80%) baik pada Ceftriaxone, Cefotaxime dan Ceftazidime. Pada uji fenotip dengan metode DDST dan Vitek 2 compact ditemukan 40 sampel (80%) positif ESBL pada Antibiotika Cefotaxime+As.Klavulanat (30 µg/10 µg) maupun Ceftazidime+As.Klavulanat (30 µg/10 µg). Pada uji genotip CTX-M di temukan 41 sampel (82%) memiliki gen CTX-M penghasil ESBL.

## Kata Kunci :

Antibiotika,  
Sefalosporin generasi III, *Escherichia coli*,  
ESBL, CTX-M

## PENDAHULUAN

*E. coli* merupakan famili Enterobacteriaceae dengan habitat alami dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan. *E. coli* pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich dari tinja seorang anak kecil pada tahun 1885. Bakteri ini berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 µm, termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob (1). *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk melakukan transfer DNA melalui proses konjugasi, transduksi ataupun transformasi materi genetik dengan menyebar secara horizontal pada populasi yang sesuai (2).

Resistensi bakteri terhadap antibiotika merupakan masalah yang sangat serius dalam dunia kesehatan. Penggunaan antibiotik secara irrasional merupakan salah satu penyebab suatu antibiotik kehilangan kemampuannya dalam melawan bakteri *Escherichia coli* sehingga infeksi/penyakit tidak dapat terobati. Kejadian serta penyebaran resistensi bakteri lebih sering terjadi sehingga menyulitkan tatalaksana penyakit terkhusus infeksi ringan maupun berat. Salah satu mekanisme resistensi bakteri gram negatif dari famili enterobacteriaceae adalah produksi extended-spectrum beta lactamase (ESBL) (3).

Resistensi ini disebabkan akuisisi plasmid yang mengandung gen yang mengkode enzim extended-spectrum beta lactamase (ESBL), terutama diproduksi oleh *Escherichia coli*. Produksi

extended-spectrum beta lactamase (ESBL) sangat penting untuk mengetahui mekanisme resistensi anti mikroba *Escherichia coli* (*E. coli*), serta enzim tersebut dapat menghidrolisis penisilin, sefalosporin dan antibiotik amida monosiklik, namun aktivitasnya biasanya dihambat oleh inhibitor beta-laktamase, seperti sulbaktam, asam klavulanat dan tazobaktam (3,4).

Extended-spectrum beta laktamase (ESBL) adalah kelompok enzim beta-laktamase yang terdapat di dalam plasmid bakteri yang mampu menghidrolisis antibiotik golongan penisilin, cephalosporin generasi ketiga (cefotaxime, ceftriaxone dan ceftazidime) dan golongan monobactam (aztreonam) sehingga menyebabkan resistensi antibiotik tersebut pada bakteri penghasil ESBL. Enzim ini adalah TEM, SHV, CTX-M dan OXA. Dalam beberapa tahun terakhir, inaktivatif beta-laktamase TEM dan SHV telah dilaporkan, dan kebanyakan dari mereka memiliki Enzim CTX-M. Bakteri penghasil ESBL dihambat oleh β-laktamase inhibitor (mis : asam klavulanat) dan tidak terpengaruh oleh antibiotik golongan cephamycins (mis : cefoxitin dan cefmetazole) dan carbapenem (mis : meropenem dan imipenem); serta menunjukkan sensitivitas yang bervariasi terhadap antibiotik golongan aminoglikosida, fluoroquinolon dan trimethoprim-sulfamethoxazole (5,6,7)

Masuk 21-01-2019

Revisi 22-03-2019

Diterima 22-04-2019

## Korespondensi

M Natsir Djide

natsir\_dj@yahoo.com

## Copyright

© 2019 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas

Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

30-04-2019

## Dapat Diakses Daring

Pada:

<http://journal.unhas.ac.id>

[/index.php/mff](http://index.php/mff)



Enzim CTX-M telah sering ditemukan di *Escherichia coli* dan *Klebsiella*, tapi itu juga telah dilaporkan pada spesies Enterobacteriaceae lainnya (8). Umumnya, plasmid bertanggung jawab untuk pengembangan gen beta laktamase di antara yang serupa atau berbeda Strain Enterobacteriaceae. Beberapa strain Enterobacteriaceae menghasilkan beta-laktamase yang dikodekan oleh kromosom dan itu bisa menyebabkan resistensi antibiotik (3,9)

Studi telah menunjukkan bahwa lebih dari 60 jenis CTX-M enzim telah diidentifikasi. Enzim ini dikategorikan menjadi lima kelompok utama berdasarkan variasi asam amino. Dibandingkan dengan TEM dan SHV beta lactamases, CTX-M memiliki efek yang lebih berbahaya pada sefotaksim dan ceftriaxone dari pada ceftazidime Enzim CTX-M dihambat dengan beta-laktamase, seperti asam klavulanat, sulbaktam, dan tazobaktam (10).

Pedeteksi yang dapat dilakukan untuk mendiagnosa ESBL yang direkomendasikan oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) adalah Metode pendeteksi dapat dibagi menjadi deteksi fenotipik (tes skrining dan konfirmasi), Metode otomatis dan metode genotipik. dimana tes skrining dan tes konfirmasi ESBL (11,12). Jika hasil tes skrining mengindikasikan adanya produksi ESBL, maka perlu dilakukan tes konfirmasi untuk menegakkan diagnosis. Clinical and Laboratory Standards Institute telah mengembangkan skrining uji disk diffusion dan broth microdilution dengan menggunakan agen antimikroba. Deteksi konfirmasi fenotip pada isolat yang berpotensi menghasilkan ESBL. Tes ini harus menggunakan ceftazidime dan kombinasi ceftazidime-asam klavulanat serta cefotaxime dan kombinasi cefotaxime-asam klavulanat (13)

Metode *automatic* menggunakan vitek ESBL card, MicroScan panel dan BD Phoenix Automated Microbiology System. Metode lainnya yang dapat digunakan untuk mendeteksi ESBL yaitu cephalosporin/clavulanate combination disks pada agar Iso-Sensitest, *double-disk diffusion test*, *agar supplemented with clavulanat*, *disk replacement method* dan *three-dimensional test* (5). Tipe ESBL dapat diketahui melalui pemeriksaan genotif (molekuler) dengan PCR. Selain itu, deteksi molekuler juga dapat membantu menentukan breakpoint yang tepat (12). Metode molekuler termudah dan paling umum digunakan untuk mendeteksi keberadaan gen-laktamase yang termasuk dalam famili enzim adalah Polimerase Chain Reaction (PCR) dengan primer oligonukleotida yang spesifik untuk gen-lactamase.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui prevalensi kejadian *Escherichia coli* penghasil ESBL yang resisten dan prevalensi genotip CTX-M terhadap sefalosporin generasi III pada pasien infeksi di RSUD Dr. Wahidin Sudirohusodo pada periode Juni – Agustus 2018.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini Autoklaf, bunsen, BSC Tipell, cawan petri, cetakan agarosa, erlenmeyer, Gel DOC, Handscoon, *hot plate*, inkubator, jarum ose, kamera digital, Laminar air flow, Lemari pendingin, Mesin elektroforesis mikropipet, mikrotube, mikrosentrifuge, oven, Polymerase chain reaction (PCR), pH meter, pipet serologi, sentrifuge, mesin shaker, tabung endorph, tabung uji, termometer, timbangan analitik, tips, *UV transilluminator*, vortex, waterbath, VITEK 2 Compact®, Vorteks dan benda gelas lainnya.

Agarose, Buffer TEA, DNA leader / marker (100 bp) Etanol, Etidium bromide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Kit kappa hot star Taq DNA polymerase, Kit DNA Purification, loading dey, MacConkey

agar, Muller Hinton agar, Natrium clorida (NaCl) 9% dan paper disk antibiotika (Ceftazime, Cefotaksime, Ceftriaxone, Cefotaksim + asam klavulanat, Ceftazidime + asam klavulanat) dan Primer PCR

### Prosedur Kerja

#### Isolasi dan Identifikasi

Isolasi bakteri dalam specimen urin, sputum, pus, darah, feses dan jaringan dilakukan dengan metode gores pada medium MacConkey Agar dan di inkubasi selama 24 pada suhu 37°C. setelah masa inkubasi diamati koloni bakteri yang terbentuk. Positif *Escherichia coli* bila bentuk koloni bulat, permukaan meninggi, licin dan putih buram. Uji identifikasi, koloni yang tumbuh pada medium disuspensikan dengan larutan NaCl yang dibandingkan dengan 0,5 McFarland lalu diinjeksikan sebanyak 145 µl kedalam vitek 2 compact. Untuk identifikasi bakteri *Escherichia coli* digunakan kartu GN pada alat vitek 2 compact.

#### Phenotypic Confirmatory Test dengan menggunakan Vitek 2 Compact

Phenotypic confirmatory test pada uji bakteri yang menghasilkan Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL) menggunakan kartu AST pada mesin VITEK 2 Compact®. Tabung suspensi bakteri dan kartu VITEK 2 AST dimasukkan ke rak khusus (*cassette*). Rak yang berisi suspensi bakteri dan kartu dimasukkan ke *vacuum chamber station*. Suspensi bakteri dipindahkan ke sumuran oleh alat. Tabung transfer dipotong secara otomatis. Kartu dipindahkan ke ruang inkubator setelah 15 menit, setelah diinkubasi akan dianalisis secara otomatis. Hasil dianalisis secara otomatis oleh system dan diinterpretasikan sebagai sensitif, intermediate dan resisten (14).

#### Phenotypic Confirmatory Test dengan menggunakan metode Double Disc Synergy Test (DDST)

#### Uji pendahululahan bakteri yang menghasilkan Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)

Isolat *Escherichia coli* yang telah di kumpulkan di uji dengan metode difusi cakram berdasarkan panduan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), dengan cakram yang mengandung antibiotika (*screening test*) pada medium Muller-Hinton Agar. Antibiotika yang digunakan adalah Sefalosporin generasi ketiga, Cefotaxime (CTX; 30 µg), Ceftazidime (CAZ; 30 µg) dan Ceftriaxone (CTR; 30 µg). Uji ini dilakukan dengan preparasi suspensi bakteri standar yang setara dengan 0.5 McFarland dan diinokulasikan pada medium Mueller Hinton agar dan cakram kertas antibiotika diletakkan di atas lempengan medium dengan jarak yang seragam. Lempengan agar tersebut lalu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambatan pertumbuhan diukur dan dibandingkan dengan nilai standar. Hasil positif apabila zona hambatan ceftazidime ≤ 22 mm, cefotaxime ≤ 27 mm, dan ceftriaxone ≤ 25 mm.

#### Uji Konfirmasi

Uji konformasi (*Phenotypic Confirmatory Test*) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan medium Muller-Hinton Agar yang telah ditanami bakteri uji *Escherichia coli*. Cakram-cakram kertas yang mengandung ceftazidime dan ceftazidime / asam klavulanat (30/10 µg), dan cefotaxime dan cefotaxime / asam klavulanat (30/10 µg) diletakkan dengan jarak 15 mm dari tengah lempengan agar Mueller Hinton, Lempengan medium diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif dari uji tersebut didefinisikan apabila terjadi peningkatan diameter zona hambat > 5 mm dibandingkan dengan cakram kertas tanpa asam klavulanat.

## Amplifikasi Gen CTX-M dengan Polymerase chain reaction (PCR)

### Isolasi DNA

Isolat bakteri *Escherichia coli* positif ESBL yang telah dikultur dalam medium MacConkey Agar selama 24 jam pada suhu 37°C dibuat Suspensi didalam tabung ependorf, sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. buang supernatant dan tambahkan 200 ul PBS, tambahkan 20 ul Proteinase K mix. Tambahkan 200 ul GSB Buffer vortex, inkubasi pada suhu 60 °C selama 20 menit dimana tiap 5 menit divortex. Tambahkan 200 ul Ethanol vortex selama 10 detik. Masukkan kedalam GS Column dalam 2 ml collection Tube. Sentrifuge 16.000 rpm selama 1 menit buang cairan pada collection tube. Tambahkan 400 ul W1 Buffer, Sentrifuge 16.000 rpm selama 30 detik. Buang cairan pada collection tube, Tambahkan 600 ul Wash Buffer Sentrifuge 16.000 rpm selama 30 detik. Ganti collection tube dengan yang baru, sentrifuge dengan kecepatan 16.000 rpm selama 3 menit. Pindahkan GS Column ke tabung ependorf steril. Tambahkan 100 ul Elution Buffer yang sebelumnya telah dipanaskan. sentrifuge dengan kecepatan 16.000 rpm selama 30 detik. Buang GS column cairan yang terdapat pada tabung ependorf merupakan DNA produk yang siap untuk di PCR.

### Amplifikasi PCR

DNA yang digunakan sebagai Template sebanyak 5,0 ul. Primer yang digunakan yakni U1 : ATG TGC AGC ACC AGT AAA GTG ATG GC dan U2 : TGG GTA AAG TAA GTG ACC AGA ATC AGC GG. Campuran untuk reaksi PCR dengan volume 25 µl yang terdiri dari 12,5 µl Go Taq master mix, 0,5 µl masing-masing primer, Nuclease free water 6,5 µl dan 5 µl DNA template. Kondisi PCR yang digunakan yakni denaturasi awal pada suhu 95°C selama 15 detik kemudian diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 94°C selama 30 detik (denaturasi), 61°C selama 40 detik (*annealing*) dan 72°C selama 2 menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 2 menit. Hasil amplifikasi PCR kemudian dilakukan visualisasi dengan menggunakan metode elektroforesis.

### Visualisasi produk PCR dan analisis data

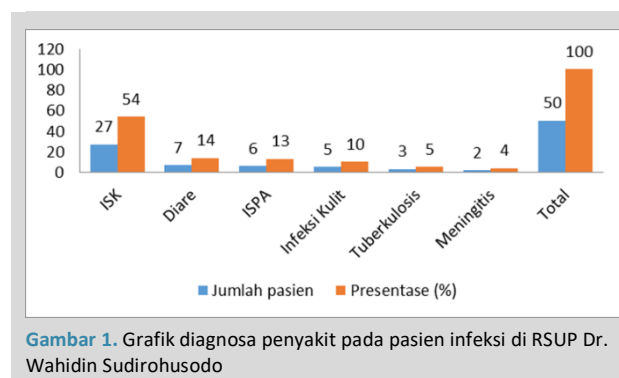
Produk hasil PCR divisualisasikan dalam agarose 2%. Sebanyak 8 µl produk PCR dicampur diatas parafilm dan ditambahkan 2 µl *blue juice loading dye* (tanpa marker) kemudian direndam dalam larutan Ethium Bromida selama 10 menit di tempat gelap. Amati produk PCR yang terbentuk dengan UV Transilluminator dengan panjang gelombang 360 nm. Data yang terkumpul kemudian dianalisis secara deskriptif, dimana hasil positif apabila pita sejajar dengan pita kontrol positif (593 bp). Kontrol negatif (N) yang digunakan adalah aquadest steril. Marker (M) yang digunakan merupakan DNA ladder sebesar 1000 bp.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar tepatnya diruang perawatan Lontara, ruang perawatan palem, intensive care unit (ICU), High care unit (HCU), pediatric intensive care unit (PICU), poli bedah urologi, instalasi gawat darurat anak, Infection Center, laboratorium patologi klinik Rumah Sakit wahidin Sudirohusodo Makassar dan laboratorium mikrobiologi klinik Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar. Pengambilan data penelitian dan pengujian laboratorium dilakukan pada pasien dengan diagnosa penyakit infeksi yang dirawat selama periode Juni - Agustus 2018. berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium berupa nilai WBC (white blood cell), nilai neutrophil, nilai limfosit, monosit, LED (Laju endap darah), PCT (procalcitonin) yang diatas nilai normal, hasil pemeriksaan bakteri penyebab infeksi dari isolate yang menunjukkan *Escherichia coli* satu-satunya bakteri penyebab infeksinya tanpa kontaminasi bakteri penyebab infeksi

lainnya serta hasil uji resistensi antibiotik sefalosporin generasi III. sebagai Subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi yaitu sebanyak 40 isolat pasien yang positif penghasil ESBL dari 50 isolat pasien yang terinfeksi bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan karakteristik pasien, jenis penyakit yang terdiagnosa dari pasien yang juga sebagai sumber isolate bakteri *Escherichia coli* terbesar adalah infeksi saluran kemih sebanyak 27 pasien dengan presentase 54%. Menurut Karowsky, *Escherichia coli* merupakan pathogen utama infeksi pada pasien rawat jalan maupun rawat inap dimana sekitar 85% penyebab utama ISK (infeksi saluran kemih) dan sekitar 50% menyebabkan infeksi nosokomial di masyarakat<sup>15</sup>. *Escherichia coli* berperan dalam beberapa kejadian infeksi seperti infeksi saluran kemih, infeksi aliran darah, infeksi saluran cerna dan Meningitis di Indonesia (16,17).



Gambar 1. Grafik diagnosa penyakit pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo

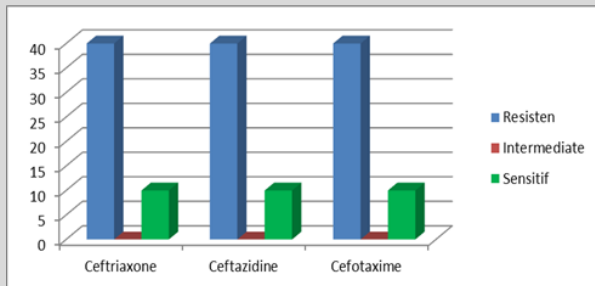
Jenis antibiotika yang diberikan kepada pasien di ruangan palem, lontara, ICU, HCU, PICU, Poli bedah urologi, IGD anak dan Infection center di RSUP wahidin sudirohusodo Makassar terdiri golongan sefalosporin, penicillin, carbapenem, aminoglikosida, antiturbecular, flouroquinolon, makrolida dan antibiotika golongan lain.

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* dengan vitek 2 compact diperoleh hasil tingkat kekeruhan berada pad kisaran 93% - 99% dengan probabilitas very good. Probabilitas vitek 2 compact untuk range 96% -99% dinyatakan sebagai excellent, 93% - 95% dinyatakan very good. 89%- 92% dinyatakan good, 85%- 88% dinyatakan acceptable dan keberadaannya dua sampai tiga taxa yang memiliki pola sama dinyatakan sebagai low discrmination (14,18).

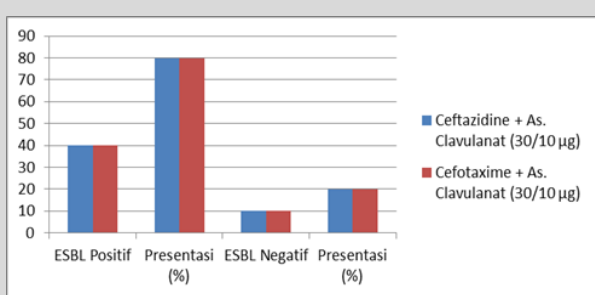
Uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan antibiotik sefalosporin generasi III (ceftriaxone, cefotaxime dan ceftazidine), dimana 40 isolat (80%) telah resisten terhadap antibiotik sefalosporin generasi III. Pada penelitian ini, ceftriaxone, ceftazidine dan cefotaxime mengalami resistensi yang cukup tinggi. temuan World Health Organization dan Kemenkes RI 40-62% penggunaan antibiotik yang tidak tepat pada pasien yang tidak memerlukan antibiotik serta temuan 30% - 80% penggunaan antibiotik di rumah sakit tidak didasari oleh indikasi terjadi infeksi pada pasien. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan tidak tepat inilah yang menimbulkan antibiotik menjadi kurang efektif serta meningkatkan resiko resistensi bakteri terhadap antibiotik (19,20).

Pada uji konfirmasi fenotip ESBL menggunakan metode *double disk Synergy Test (DDST)* dengan disk Ceftazidime (30 µg), ceftazidime + asam clavulanat (30/10 µg), cefotaxime (30 µg), cefotaxime + asam klavulanat (30/10 µg), diperoleh hasil sebanyak 40 isolat positif penghasil ESBL. Penelitian kuntaman di tiga rumah sakit di malang, Surabaya dan semarang, dari 128 isolat *E. coli* positif penghasil ESBL yang di uji sensitivitas terhadap antibiotik sefalosporin generasi III dimana 96,88 (124 isolat) yang masih telah terhadap ceftriaxone, Cefotaxime dan ceftazidine (20). Mekanisme

resistensi antibiotika golongan beta lactam, yaitu enzim-enzim beta lactamase dapat menghidrolisis struktur cincin beta lactam sehingga antibiotik beta lactam menjadi tidak aktif, mekanisme yang lain adalah antibiotik beta lactam tidak mampu untuk mencapai tempat kerjanya atau perubahan dalam PBP yang menjadi targetnya, serta *Escherichia coli* mempunyai kemampuan untuk menyebar dengan mudah di antara manusia dan dapat memperoleh materi genetik melalui transfer gen horizontal yang dimediasi oleh plasmid dan transposon (22-24).



Gambar 2. Grafik kejadian resistensi antibiotik pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo

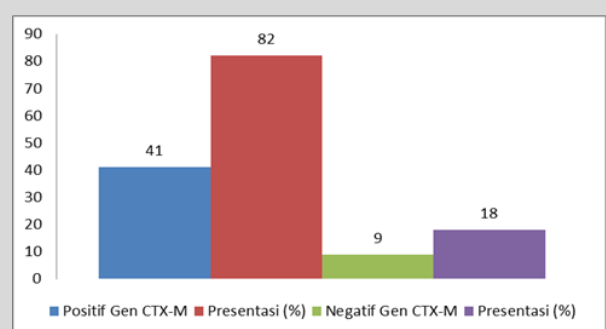


Gambar 3. Grafik Frekuensi Strain Penghasil ESBL *E. coli* terhadap Antibiotik Sefalosporin Generasi III pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo

Pada uji genotip CTX-M ESBL pada isolat *Escherichia coli* menggunakan (PCR) untuk amplifikasi DNA sedangkan untuk visualisasi produk PCR menggunakan elektroforesis gel agarose. Diperoleh hasil, sebanyak 41 isolat (82%) positif memiliki gen CTX-M ESBL. Hal ini juga sesuai dengan beberapa penelitian yang di Indonesia, di beberapa rumah sakit di Surabaya dari 73 isolat *Escherichia coli* positif penghasil ESBL 94,5% (69 isolat) di antaranya memiliki genotip CTX-M. Yulianto dalam penelitian yang dilakukan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya 27 isolat *E. coli* (90%) penghasil ESBL positif mengandung gen CTX-M. hal ini menunjukkan bahwa prevalensi blaCTX-M semakin tinggi dalam menyebabkan Resistensi pada bakteri *E.coli* yang di berikan antibiotika sefalosporin generasi III di Indonesia terkhusus di RSUP Wahidin sudirohusodo, Makassar (22,27). Tingginya prevalensi blaCTX-M dalam menyebabkan resistensi *E.coli* terhadap antibiotika sefalosporin generasi III dihubungkan dengan fenomena "The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic" dimana bakteri gram negatif dapat : (1) Transfer gen horizontal/transfer gen lateral dari plasmid, (2) cloning *Escherichia coli* (3) ESBLs yang terdapat dalam makanan (Hewan) (25,26).

Penelitian harada, menemukan bahwa Isolat bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL dapat memiliki 2 atau lebih gen pembawa sifat resistensi ESBL. Adanya perbedaan dalam hasil identifikasi pada metode *Double Disc Synergy Test* (DDST) dan PCR (Polymerase Chain Reaction) disebabkan *Escherichia coli* dapat menghasilkan positif palsu dan negatif palsu, *E. coli* yang tidak menghasilkan ESBL, bisa menghasilkan SHV-1 secara berlebihan sehingga dapat menyebabkan tes konfirmasi positif palsu dimana Isolat-

isolat tersebut terjadi peningkatan MIC ceftazidime  $\geq 32$   $\mu\text{g/ml}$  (28,29). Beberapa penelitian mengungkapkan adanya isolat *E. coli* yang memiliki  $\beta$ -lactamase AmpC yang diperantarai oleh plasmid dalam penyebarannya. Dimana *E. coli* dapat memiliki dua tipe jenis enzim seperti  $\beta$ -lactamase AmpC dan ESBL sekaligus sehingga menyebabkan peningkatan MIC sefalosporin tetapi menghasilkan tes konfirmasi ESBL negatif palsu sehingga  $\beta$ -lactamase AmpC menahan hambatan oleh klavulanat (tes konfirmasi ESBL) sehingga mengaburkan efek klavulanat dan sefalosporin terhadap ESBL (5,23).



Gambar 4. Grafik Frekuensi Genotip CTX-M Penghasil ESBL *E. coli* pada Isolat pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bakteri *Escherichia coli* yang menginfeksi pasien di RSUP Dr. Wahidin sudirohusodo Makassar telah mengalami resistensi terhadap antibiotika golongan sefalosporin generasi III, sebesar 80% (40/50). Isolat *Escherichia coli* telah menghasilkan Extended Spectrum Beta Laktamase (ESBL) dan sebesar 82% (41/50) memiliki gen CTX-M penghasil Extended Spectrum Beta Laktamase (ESBL).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPDP Indonesia atas bantuan pendanaan. Penulis juga berterima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas dukungan moril dan sarana selama penulis melakukan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Carter GR, Wise DJ. 2004. Essential of Veterinary Bacteriology and Mycology. 6th Ed. Iowa : Blackwell Publishing.
- Branger Catherine et. Al., 2018, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-encoding genes are spreading on a wide range of *Escherichia coli* plasmids existing prior to the use of third-generation cephalosporins, *Microbial Genomics* 2018;4
- Bradford, P.A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 933-951. doi:10.1128/CMR.14.4.933-951.2001
- Gutkind, G. O., Di Conza, J., Power, P., and Radice, M. (2013). beta-lactamase mediated resistance: a biochemical, epidemiological and genetic overview. *Curr. Pharm. Des.* 19, 164-208. doi: 10.2174/1381612811306020164
- Paterson, D.L., Bonomo, R.A. 2005. Extended-Spectrum Beta-Lactamases: A Clinical Update. *Clin Microbiol Rev.* 18(4):657-86.
- Al-Agamy MH, Shibl AM, Tawfik AF. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann Saudi Med.* 2009;29(4):253-7.
- Munier GK, Johnson CL, Snyder JW, Moland ES, Hanson ND, Thomson KS. 2010. Positive extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL) screening results may be due to AmpC beta-lactamases more often than to ESBLs. *J Clin Microbiol.* 48(2)
- Bush K, 2010, Alarming beta lactamase-mediated resistance in multidrug resistant *Enterobacteriaceae*. *Current Opinion in Microbiology* (13). Elsevier; 558-564
- Bonnet R., 2004, Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.*;48(1):1-14.

10. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Stratchounski L., 2003, Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*; **47**(12):3724–32
11. Wang, P., Hu, F., Xiong, Z., Ye, X., Zhu, D., et al. 2011. *Susceptibility of Extended Spectrum Beta Lactamase Producing Enterobacteriaceae According to the New CLSI Breakpoints*. *J Clin Microbiol*. **49**(9):3127-31
12. Shaik, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, M.D., et al. 2015. Antibiotic Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamases: Types, Epidemiology and Treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*. **22**, 90-101.
13. Kuper, K.M., Boles, D.M., Mohr, J.F., Wanger, A., 2009. Antimicrobial susceptibility testing: primer for clinicians. *Pharmacotherapy* **29** (11), 1326–1343
14. Pincus David H., 2006, Microbial Identification Using The Biomérieux Vitek® 2 System, Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods, bioMérieux, Inc. Hazelwood, MO, USA
15. Karowsky J A. et. al. 2010. Multidrug resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli* : prevalence and patient demographics in the United states in 2009. *Antimicrob Agents Chemother*; **45**(5) : 1402-06.
16. Hanna E Sidjabat , David L Paterson., 2015, Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Asia: epidemiology and management, UQ Centre for Clinical Research The University of Queensland, ISSN 1478-7210 Queensland
17. Smyth EG, O'Connell N. 2004. Complicated urinary tract infection. *Drugs & Therapy Perspectives*; **11**(1): 63-6.
18. Prihatini, Aryati, Hetty., 2007, Identifikasi Cepat Mikroorganisme Menggunakan Alat Vitek-2 Compact, *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, Vol. 13, No. 3 : 29-132 Airlangga University Press, Surabaya
19. Kementerian Kesehatan RI. 2012. Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotika. Depkes RI : Jakarta
20. World Health Organization (WHO). 2014. *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* 2014.
21. Kuntaman Kuntaman, Sanarto Santoso, Hendro Wahjono, Ni Made Mertaniasih, Endang S. Lestari, Helmia Farida, Rebriarina Hapsari, Stefani Candra Firmanti, Noorhamdani AS, Dewi Santosaningsih, Priyo Budi Purwono, Deby Kusumaningrum, 2010, The sensitivity pattern of extended spectrum beta lactamase producing bacteria against six antibiotics that routinely used in clinical setting, *Journal Indonesian Medical Association* Volume: 61, Nomor: 12
22. Severin Julie'tte A., Ni Made Mertaniasih, Kuntaman Kuntaman, Endang S. Lestari, Marijam Purwanta, Nicole Lemmens-Den Toom, D. Offra Duerink, Usman Hadi, Alex van Belkum, Henri A. Verbrugh and Wil H. Goessens., 2010, Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Oxford University Press on behalf of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy, England
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC., 2013, U.S Department of Health and Human Services, Antibiotic Resistance Threats in The United States.
24. Brown, L., Wolf, J.M., Prados-Rosales, R. and Casadevall, A., 2015. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nature Reviews Microbiology*, **13**(10), p.620.
25. Rafael Cantón, Teresa M Coque., 2006, The CTX-M beta-lactamase pandemic, *Current Opinion in Microbiology* Volume 9, Issue 5, Pages 466-475
26. Edward R. Bevan, Annie M. Jones and Peter M. Hawkey., 2017, Global epidemiology of CTX-M Beta lactamases: temporal and geographical shifts in genotype, *Journal of antimicrobial chemotherapy*
27. Ade Yulianto Prasetya., 2014, Pola Distribusi Gen SHV, TEM dan CTX-M pada Isolasi Klinis *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum beta lactamases* (ESBLs) dari Urin Pasien di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Universitas Airlangga, Surabaya
28. Miro E, del Cuerpo M, Navarro F, Sabate M, Mirelis B, Prats G. 1998. Emergence of Clinical *Escherichia coli* Isolates with Decreased Susceptibility to Ceftazidime and Synergic Effect with Co-Amoxiclav Due to SHV-1 Hyperproduction. *J. Antimicrob. Chemother.* **42**:535–538.
29. Rice LB, Carias LL, Hujer AM, Bonafede M, Hutton R, Høyen C, Bonomo RA. 2000. High-level Expression of Chromosomally Encoded SHV-1 Beta-Lactamase and An Outer Membrane Protein Change Confer Resistance to Ceftazidime and Piperacillin Tazobactam in a Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**:362–367.

**Sitasi artikel ini:** Pratama AS, Djide MN, Massi MN. Identifikasi Genotip CTX-M pada *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) yang Resistan pada Cephalosporin Generasi III di RSUP Wahidin Sudirohusodo Makassar. *MFF* 2019; 23(1):5-9