

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Escherichia coli*

Escherichia Coli pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan Jerman, Theodor Escherich dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan. Pada 1885, beliau menggambarkan organisme ini sebagai komunitas bakteri *coli*. Nama "*Bacterium Coli*" sering digunakan sampai pada tahun 1991. Ketika Castellani dan Chalames menemukan genus *Escherichia* dan menyusun tipe spesies *E. coli* (Jawetz, 2005).

E.coli merupakan bakteri Gram negatif bersifat anaerob fakultatif dan tidak dapat membentuk spora. Bakteri ini dapat hidup pada berbagai substrat dengan melakukan fermentasi anaerobik menghasilkan asam laktat, suksinat, asetat, etanol, dan karbondioksida (Anonim 2008). *E. coli* termasuk family *Enterobacteriaceae*, bentuknya batang atau koma, terdapat tunggal atau berpasangan dalam rantai pendek. (Whittam., *et al*, 2011).

Escherichia coli yang diisolasi dari spesimen feses, urin, sputum, cairan serebrospinal, maupun darah dapat dikultur dengan menggunakan media agar Mac Conkey maupun agar EMB. Agar EMB yang mengandung satu jenis

gula dalam konsentrasi tinggi akan menyebabkan organisme memfermentasi gula sehingga membentuk koloni berwarna kemerahan (Brooks *et al.*, 2008).

1. Klasifikasi

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proterobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> . (Hardjoeno, 2007)

2. Patogenesis

Beberapa strain dari *E. coli* selama proses evolusi mendapat kemampuan virulensi yang membantu mereka menginfeksi *host*. Jenis *E. coli* yang patogen tersebut dapat mengakibatkan gangguan intestinal dan infeksi saluran kemih (Prescott, 2008).

Di negara-negara berkembang *E. coli* patogen menyebabkan lebih kurang seperempat dari seluruh kejadian diare. Transmisi kuman berlangsung secara *water borne* atau *food borne*. Dulu dikenal ada 3 grup (kelompok *E. coli* patogen penyebab diare yaitu ETEC, EPEC dan EIEC. Sekarang

ditemukan 2 grup yang diketahui pula sebagai penyebab diare yaitu EHEC dan EAEC.

1. ETEC (*Enterotoxigenic E. coli*)

ETEC adalah *E. coli* patogen penyebab utama diare akut dengan dehidrasi pada anak-anak dan orang dewasa di negara-negara yang mempunyai 2 musim maupun 3 musim. ETEC menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan terjadinya ekskresi cairan elektrolit tubuh sehingga timbul diare dengan dehidrasi. Secara immunologis enterotoksin yang dihasilkan oleh ETEC sama dengan enterotoksin yang dihasilkan oleh *V. cholera*. Enterotoksin ETEC terdiri dari dua macam yaitu:

- a. *Labile Toxin* (LT) yang mempunyai berat molekul yang tinggi dan tidak tahan panas (musnah pada pemanasan 60°C selama 10 menit); toksin inilah yang mirip dengan cholera toxin.
- b. *Stabile Toxin* (ST) merupakan peptide berukuran kecil yang terdiri atas 18-48 asam amino yang memiliki banyak cystein dalam rantainya. Mempunyai berat molekul rendah, tahan pada pemanasan dan tidak mempunyai sifat antigenik. Manusia dapat berperan sebagai carrier kuman ini, yaitu sebagai pembawa kuman tetapi dia sendiri tidak sakit. Transmisi kuman dapat berlangsung secara *food-borne* maupun *waterborne*. Di daerah endemik diare seperti halnya Indonesia, ETEC merupakan juga

penyebab utama diare akut yang mirip cholera serta merupakan penyebab *travellers diarrhea* (Dubreuil., *et al*, 2002).

2. EPEC (*Enteropathogenic E. coli*)

EPEC (*Enteropathogenic E. coli*), merupakan strain pertama diantara strain *E. coli* yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare patogenik pada pasien bayi dan anak-anak pada rumah sakit di Inggris dan beberapa negara di Eropa. Di beberapa daerah urban, sekitar 30% kasus-kasus diare akut pada bayi dan anak-anak disebabkan oleh EPEC. Mekanisme terjadinya diare yang disebabkan oleh EPEC belum bisa diungkapkan secara jelas, tetapi diduga EPEC ini menghasilkan *cytotoxin* yang merupakan penyebab terjadinya diare. Penyakit diare yang ditimbulkan biasanya *self-limited* tetapi dapat fatal atau berkembang menjadi diare persisten terutama pada anak-anak di bawah umur 6 bulan. Di negara-negara berkembang, anak-anak yang terkena infeksi EPEC biasanya adalah yang berumur 1 tahun ke atas (Whittam, *et al*, 2011).

3. EIEC (*Enteroinvasive E. coli*)

EIEC mempunyai beberapa persamaan dengan *Shigella* antara lain dalam hal reaksi biokimia dengan gula-gula pendek, serologi dan sifat patogenitasnya. Sebagaimana halnya dengan *Shigella*, EIEC mengadakan penetrasi mukosa usus dan mengadakan multiplikasi

pada sel-sel epitel colon (usus besar). Kerusakan yang terjadi pada epitel usus menimbulkan diare berdarah. Secara mikroskopis leukosit polimorfonuklear selalu hadir dalam feses penderita yang terinfeksi EIEC. Gejala klinik yang ditimbulkan mirip disentri yang disebabkan oleh *Shigella* (Parsot., *et al*, 2005).

4. EHEC (*Enterohaemorrhagic E. coli*)

Di Amerika Utara dan beberapa daerah lainnya, EHEC menyebabkan *haemorrhagic colitis* (radang usus besar). Transmisi EHEC terjadi melalui makanan daging yang diolah dan dihidangkan secara tidak higienis. tapi dapat pula terjadi secara *person to person* (kontak langsung). Patogenitas EHEC adalah dengan memproduksi sitotoksin yang bertanggung jawab terhadap terjadinya peradangan dan perdarahan yang meluas di usus besar yang menimbulkan terjadinya *haemolytic uraemic syndrome* terutama pada anak-anak. Gejala karakteristik yang timbul ditandai dengan diare akut, kejang, panas dan dalam waktu relatif singkat diare menjadi berdarah. Kejadian diare yang berdarah tersebut yang membedakan strain EHEC dengan *Shigella*. Di negara-negara berkembang kejadian diare yang disebabkan oleh EHEC masih jarang ditemukan (Karch., *et al* 2001).

5. EAEC (*Enterobacter Adherent E. coli*)

EAEC telah ditemukan di beberapa negara di dunia ini.

Transmisinya dapat food-borne maupun *water-borne*. Patogenitas EAEC terjadi karena kuman melekat rapat-rapat pada bagian mukosa intestinal sehingga menimbulkan gangguan. Mekanisme terjadinya diare yang disebabkan oleh EAEC belum jelas diketahui, tetapi diperkirakan menghasilkan sitotoksin yang menyebabkan terjadinya diare. Beberapa strain EAEC memiliki serotipe seperti EPEC.

EAEC menyebabkan diare berair pada anak-anak dan dapat berlanjut menjadi diare persisten (Eslava., *et al*, 2009).

B. Cefalosporin Generasi 1 Sampai 3

Cefalosporin termasuk golongan antibiotika betalaktam. Cefalosporin berasal dari fungus *Cephalosporium acremonium* yang diisolasi pada tahun 1948 oleh Brotzu. Fungus ini menghasilkan tiga macam antibiotik, yaitu cefalosporin P, N, dan C (Jawetz, 2004).

Cefalosporin secara kimiawi memiliki mekanisme kerja dan toksisitas yang serupa dengan penicillin. Cefalosporin lebih stabil daripada *penicillin* terhadap banyak bakteri betalaktamase sehingga biasanya memiliki spectrum aktifitas yang lebih luas. Cefalosporin tidak aktif terhadap *Enterococcus* dan *Listeria monocytogenes*. Cefalosporin dapat digolongkan kedalam 4 generasi atau kelompok besar, yang terutama

tergantung pada spektrum aktifitas antimikroba. Senyawa-senyawa generasi pertama memiliki aktifitas yang lebih baik terhadap organisme-organisme Gram positif, sementara yang senyawa-senyawa selanjutnya menunjukkan peningkatan aktifitas terhadap organisme-organisme aerob gram negatif (Katzung, 2004).

Cefalosporin generasi pertama meliputi *cefadroxil*, *cephazolin*, *cephalexin*, *cephalothin*, *cephapirine*, dan *cephadrine*. Obat-obat ini sangat aktif terhadap kokus gram positif, termasuk pneumokokus, streptokokkus dan stafilokokkus (Katzung, 2004).

Cefalosporin generasi kedua meliputi *cefaclor*, *cefamandole*, *cefonicid*, *cefuroxime*, serta *cephamycin* yang terkait secara struktural, *cefoxitin*, *cefmetazole* *cefotetan*, obat ini memiliki aktifitas yang tinggi terhadap mikroorganisme seperti *H. influenza*, *N. meningitides* dan *N. catarhallis*. Obat-obatan ini juga dipakai secara luas untuk pengobatan infeksi saluran pernafasan bagian atas dan infeksi saluran nafas bagian bawah (Carol, 2007).

Cefalosporin generasi ketiga memiliki rentang paparan gram negatif lebih luas dan kemampuan beberapa dari agen ini untuk melintasi sawar darah-otak (Jawetz, 2004).

1. Cefotaksim

Cefotaksime adalah antibiotik golongan cephalosporin generasi ketiga yang mempunyai khasiat bakterisidal dan bekerja dengan menghambat sintesis mukopeptida pada dinding sel bakteri. Pada pengobatan dengan cefotaksim, bila pasien memiliki volume distribusi sangat kecil, sebagian besar obat ada didalam darah. Antibiotik cefotaksim ini dapat diberikan secara i.v. dan i.m. karena absorpsi di saluran cerna kecil. Masa paruh eliminasi pendek sekitar 1 jam, maka diberikan tiap 12 jam MIC dapat dicapai dalam waktu 10 jam. Ikatan protein plasma sebesar 40 % (Prabaningrum dan Septiana, 2008).

2. Ceftazidim

Ceftazidim memiliki aktivitas terhadap bakteri yang tidak sebaik cefotaksim pada bakteri gram positif. Hal yang menonjol dari ceftazidim adalah aktivitasnya terhadap *P. aeruginosa* lebih besar dibandingkan dengan cefotaksim, cefsulodin, dan piperasilin. Waktu paruhnya di plasma adalah 1.5 jam. Obat ini tidak dimetabolisme di dalam tubuh dan terutama diekskresi melalui saluran kemih. Dosis bagi orang dewasa adalah 1-2 gram sehari IM atau IV setiap 8-12 jam. Dosis obat perlu disesuaikan dengan kondisi gagal ginjal (Katzung, 2010).

C. ESBL (Extended Spectrum *-Lactamase*)

1. Definisi ESBL

-lactamase merupakan enzim yang dihasilkan oleh beberapa bakteri yang berfungsi untuk melawan / mempertahankan diri terhadap serangan antibiotik *-lactam* seperti *penicillin*, *cephamycin* dan *carbapenem* (*entapenem*), dan cephalosporin. Antibiotik golongan ini memiliki unsur yang sama dalam struktur molekul mereka yaitu 4 cincin atom dan disebut sebagai *-laktam*. Enzim *-Laktamase* bekerja merusak cincin ini dan nonaktifkan molekul ini (Anonim, 2010). *-laktamase* pertama kali ditemukan pada tahun 1940 oleh Abraham dan Chain. Enzim ini berhasil ditemukan dari isolat *S. aureus* dan disebut sebagai *penicillinase*. Sejak saat itu semakin banyak pelaporan penemuan *-laktamase* yang baru (Dakh, 2010).

ESBL dikenal sebagai *extended-spectrum* karena dapat menghidrolisis antibiotik *-lactam* yang spektrumnya lebih luas dari antibiotik *-laktam* generasi sebelumnya. *-laktamase* merupakan kekebalan yang diperantarai plasmid. Enzim ini memiliki kemampuan menginaktivasi antibiotik golongan *-laktam* yang berisi *oxymino-group* seperti *oxymino-cephalosporin* (misalnya *ceftazidime*, *ceftriaxone*, *cefotaxime*) juga pada *oxymino-monobactam* (*aztreonam*). Resistensi ESBL tidak tampak pada *cephamycin* dan *carbapenem*. Biasanya, enzim ESBL dapat dihambat

dengan β -lactamase inhibitor seperti *clavulanate* dan *tazobactam* (Paterson 2010).

ESBL dapat ditemukan pada bakteri golongan *Enterobacteriaceae*. Strain ESBL terutama diproduksi oleh spesies *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* dan *Escherichia coli*. Organisme lain dilaporkan juga dapat menghasilkan enzim ESBL termasuk *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Namun frekuensi produksi ESBL dari organisme tersebut tergolong rendah (Nathisuwan *et al.*, 2005).

2. Pembagian ESBL (Extended Spectrum β -Lactamase)

a. ESBL Jenis TEM

Istilah TEM berasal dari kata *Temoneira* yang merupakan nama pasien pertama yang terinfeksi kuman penghasil ESBL. Jenis TEM-1 β -lactamase resisten terhadap ampisilin, penisilin dan cefalosporin generasi pertama seperti cephalotin. Enzim ini bertanggung jawab terhadap 90% kejadian resistensi terhadap ampisilin pada isolat *E. coli* enzim ini juga bertanggung jawab terhadap kasus resistensi penisilin terhadap *H. influenzae* dan *Neisseria gonorrhoeae*. Mutasi pada struktur gen *blatem-1*, kiranya melalui seleksi dari antibakteri, meningkatkan kemampuan dari enzim untuk menghidrolisis obat jenis cephalosporin dan aztreonam (Rupp and Paul., 2003).

b. ESBL Jenis SHV

–lactamase jenis SHV pertama kali ditemukan pada *K. pneumonia*. Merupakan enzim yang mengkodekan plasmid yang mengakibatkan resistensi terhadap penisilin dan cefalosporin generasi pertama. SHV mengalami mutasi pada struktur gen bla_{shv-1} yang meningkatkan kemampuan dari SHV untuk menghidrolisis obat jenis cefalosporin dan monobactam. Pemberian nama SHV berdasarkan *sulphydryl variabel*. Tipe SHV merupakan kelompok enzim yang paling banyak (Livermore, 2005).

c. ESBL Jenis Lain

ESBL jenis lain yang ditemukan akhir-akhir ini memiliki kemiripan dengan enzim jenis SHV dan TEM. Jenis –lactam tersebut ditemukan dari berbagai spesies yang berbeda yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* dan *P. aeruginosa*, seperti OXA-type, CTX-M-type dan PER-type. *CTX-M type ESBL*, terdiri dari CTX-M-2, CTX-M-3 dan CTX-M-14. Enzim ini dinamakan demikian karena kemampuannya melawan aktivitas sefotaksim. PER-type ESBL memiliki kemampuan melawan aktifitas seftazidim. *OXA-type ESBL* digolongkan karena kemampuannya menghidrolisis oxacilin. (Rupp and Paul, 2003).

3. Prevalensi Kejadian ESBL

Kejadian prevalensi ESBL belum diketahui secara pasti dan masih dalam bentuk perkiraan saja karena sulit ditemukan saat penelitian. Akan tetapi, secara pasti diketahui bahwa organisme penghasil ESBL tersebar luas di seluruh dunia dan prevalensinya semakin meningkat. Kejadian ESBL pertama kali diberitakan pada tahun 1983 di Jerman dan Inggris.

Prevalensi kejadian ESBL yang ditemukan pada *E. coli* berbeda dari tiap-tiap negara. Survei yang dilakukan pada sebuah laboratorium di Belanda dilaporkan bahwa kurang dari 1% bakteri *E. coli* dan *Klebsiella Sp* memiliki ESBL (Babini dan Livermore, 2000).

Kejadian pertama organisme penghasil ESBL di Amerika Serikat dilaporkan pada tahun 1988. Prevalensi kejadian ESBL pada *Enterobacteriaceae* di Negara Amerika Serikat berkisar antara 0 sampai 25% dengan rata-rata nasional sekitar 3%. Di Amerika Selatan tercatat bahwa dari kira-kira 10.000 isolat yang dikumpulkan dari sepuluh tempat berbeda, diketahui 8,5% *E.coli* memiliki ESBL. Di Asia bervariasi dari 5% di Korea hingga 23,3% di Indonesia. Meskipun penelitian yang dilakukan di Afrika dan Timur Tengah sangat minim, namun pada beberapa negara di Afrika dilaporkan terjadi penyebaran infeksi organisme penghasil ESBL (Cotton, 2002).

4. Makna Klinis ESBL

Akibat klinis dari adanya ESBL adalah, karena perannya yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial dimana saat ini jumlahnya terus bertambah. *E. coli* adalah salah satu bakteri patogen yang paling banyak mengakibatkan kejadian infeksi di Rumah Sakit (*Hospital Acquired infection*) dan di masyarakat (*Community Acquired Infection*) (Livermore, 2005).

Infeksi yang disebabkan oleh kuman penghasil ESBL menunjukkan dilema *therapeutic* yang besar karena pilihan antibiotik yang terbatas. Hal ini disebabkan karena enzim betalaktamase yang dihasilkan kuman mempunyai spektrum lebar, kuman penghasil ESBL bersifat resisten terhadap semua golongan beta-laktam termasuk cefalosporin spektrum lebar, aztreonam, penisilin spektrum lebar, dan sering dihubungkan dengan masalah resisten terhadap *fluoroquinolone* (Paterson 2010).

5. Identifikasi ESBL

Metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi kuman penghasil enzim *Extended-Spectrum Beta-Lactamases* menurut *Clinical Laboratory Standard Institute* ialah *Double Disk Synergy Test (DDST)* yang menggunakan kombinasi cephalosporin dan asam clavulanat. Identifikasi ini menggunakan media Mueller-Hinton agar. Sinergi cephalosporin generasi III dengan kombinasi cephalosporin-asam klavulanat berupa perluasan zona hambatan atau timbulnya halo diantara kedua disk

menunjukkan kuman tersebut positif ESBLs (*National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2005*).

Metode lain untuk mengidentifikasi kuman penghasil *Extended-Spectrum Beta-Lactamases* ialah dengan menggunakan metode *Double Diffusion Test (DDT)*. Metode ini menggunakan cefotaxim (30 µg) serta ceftazidim (30 µg) dengan atau tanpa klavulanat (30 µg) untuk menentukan konfirmasi fenotip dalam mengidentifikasi kuman penghasil enzim ESBLs. Dengan menggunakan media Mueller-Hinton agar apabila terjadi perbedaan sebesar 5 mm antara diameter disk cephalosporin dan disk kombinasi cephalosporin-clavulanat menyatakan kuman tersebut positif ESBLs (*National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2005*).

6. Pilihan Terapi Kasus Infeksi ESBL

Carbapenem, meliputi imipenem, meropenem, dan ertapenem secara luas diterima sebagai obat pilihan pertama dalam pengobatan kasus infeksi yang disebabkan oleh strain bakteri *Enterocateriaceae* penghasil ESBL. Obat golongan tersebut dianggap cukup stabil dari hidrolisis enzim ESBL, didistribusikan secara luas ke seluruh tubuh dan tidak memiliki *inoculum effect* (Paterson, 2010).

D. Uji saring (*Screening*) terhadap Extended Spectrum β -lactamase

Uji saring (*screening*) terhadap enzim *extended spectrum* β -lactamase (ESBL) adalah uji awal untuk mengetahui apakah isolat *E. coli* yang berhasil kita isolasi adalah isolat yang resisten, intermediet atau sensitif terhadap cefalosporin generasi ketiga yang digunakan dalam test, untuk mengetahui apakah resisten atau sensitif diketahui dengan standar kepekaan yang dikeluarkan oleh NCLLS (Duttaroy dan Mehta, 2005).

E. Uji Konfirmasi terhadap ESBL dengan metode Double Disk Sinergy Test

Bakteri *E. coli* yang resisten terhadap antibiotik cefalosporin generasi ke tiga akan dilakukan uji konfirmasi dengan menggunakan metode *Double Disc Sinergy Test*. Untuk mengetahui apakah penyebab resistensi tersebut disebabkan oleh ESBL atau bukan. Uji konfirmasi ini dengan menggunakan disk antibiotika ceftazidime 30 μ g, cefotaxime 30 μ g, dan amoxicilline-clavulanat 20/10 μ g. Disk amoxicilline-clavulanat 20/10 μ g diletakkan ditengah dan ceftazidim dan cefotaxim dikiri kanan dengan berjarak 20 mm dari disk amoksisillin-clavulanat 20/10 μ g. Apabila pada media uji ditemukan zona hambat antara sefalosporin generasi ketiga dengan amoksisilin-clavulanat, menunjukkan bahwa bakteri tersebut memproduksi ESBL (D'Azevedo., *et al*, 2004).



Gambar 2. ESBL positif dengan metode *double disk synergy test*.