

## Pendekatan Fenotipe dan Genotipe Sorbitol Fermentasi *Shiga Toxin Strain Escherichia coli* O157:H<sup>-</sup> untuk Diagnosis Mikrobiologi *Hemorrhagic Colitis* dan *Hemolytic Uremic Syndrome*

Donna Mesina Rosadini Pasaribu

Dosen Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana  
Alamat Korespondensi Jl.Arjuna Utara No.6 Jakarta Barat 11510  
mesinapasaribu@yahoo.co.id

### Abstrak

*Strain* patogen *Escherichia coli* (*E. coli*) dapat menyebabkan gejala diare ringan sampai berat, infeksi saluran kemih, sepsis, atau meningitis pada manusia. Patogenesis infeksi *E. coli* ditentukan berdasarkan pada kemampuan virulensi, interaksi bakteri pada mukosa usus, perbedaan serotipe antigen O dan H serta kondisi imun hospes. Shiga toxin (stx) yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* O157:H7 sudah terbukti sebagai penyebab utama *hemorrhagic colitis* dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS). Sorbitol Fermentasi Shiga Toxin *Escherichia coli* (SF STEC) O157:H<sup>-</sup> pertama kali ditemukan pada tahun 1988 sebagai penyebab HUS di Bavaria, Jerman. Bakteri berhasil diisolasi dari feses pasien anak yang mengalami kefatalan akibat bakteri ini. Meningkatnya infeksi SF STEC O157:H<sup>-</sup>, etiologi HUS dan diare secara epidemiologis, kurang dipahami karena keterbatasan data dan perbedaan-perbedaan aspek epidemiologis infeksi yang disebabkan SF STEC O157:H<sup>-</sup>. Gabungan media seleksi untuk isolasi *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, pengembangan *immunomagnetic separation* (IMS) dapat menghasilkan sensitivitas dan spesifisitas prosedur diagnosis untuk meningkatkan ditemukannya isolat patogen dari spesimen klinik dan spesimen lingkungan secara optimal.

**Kata kunci:** Sorbitol Fermentasi, Shiga Toxin *Escherichia coli*, O157:H<sup>-</sup>, Sorbitol Mac Conkey, diare, *hemorrhagic colitis*, *hemolytic uremic syndrome*.

### Abstract

*Pathogenic strains of Escherichia coli (E. coli) can cause mild to severe diarrhea, urinary tract infections, sepsis or meningitis in human. The pathogenesis of E. coli infection is determined based on the ability of the virulence, interaction of bacteria in the intestinal mucosa, the difference serotypes O and H antigens and host immune conditions. Shiga toxin (stx) produced Escherichia coli O157: H7 has been proven to be the main cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome (HUS). Sorbitol fermentation Escherichia coli Shiga toxin (SF STEC) O157: H<sup>-</sup>, first discovered in 1988 as the cause of HUS in Bavaria Germany, bacteria were isolated from the feces of patients who experienced child fatalities due to these bacteria. Increased infection SF STEC O 157: H<sup>-</sup>, in the etiology of HUS and diarrhea in epidemiology, poorly understood because of data limitations and differences in the epidemiology of infections caused aspects of SF STEC O157: H<sup>-</sup>. Combined selection media for the isolation of SF STEC strain O157: H<sup>-</sup>, immunomagnetic separation (IMS) development can generate sensitivity and specificity of diagnostic procedures to improve the discovery of pathogenic isolates from clinical specimens and environmental specimens optimally.*

**Key words:** Sorbitol Fermentasi, Shiga Toxin *Escherichia coli*, O157:H<sup>-</sup>, Sorbitol Mac Conkey, diare, *hemorrhagic colitis*, *hemolytic uremic syndrome*.

## Pendahuluan

*Escherichia coli* (*E. coli*) adalah flora normal usus yang berperan penting memelihara kondisi fisiologis saluran pencernaan, merupakan salah satu bakteri enterik batang Gram negatif, motil, beberapa *strain* menghasilkan kapsul polisakarida, koloni halus, tidak berwarna, berukuran 2 – 3µm, tumbuh baik pada media non-selektif, beberapa *strain* juga menghemolisis darah, anaerob fakultatif. Pada umumnya (90%) *E. coli* memfermentasi laktosa dan atau sorbitol, dalam media selektif agar *Sorbitol MacConkey* (SMAC), tetapi beberapa *strain* tidak menfermentasi laktosa atau sorbitol.<sup>1</sup>

*Strain* patogen dapat menyebabkan gejala diare ringan sampai berat, infeksi saluran kemih, sepsis, atau meningitis. Patogenesis infeksi *E. coli* ditentukan berdasarkan pada kemampuan virulensi, interaksi bakteri pada mukosa usus, perbedaan serotipe antigen O dan H, serta kondisi imun hospes.<sup>1</sup> Kauffman membedakan *E. coli* berdasarkan serotipe antigen polisakarida O (somatik), H (flagel), dan K (kapsul).<sup>1,2</sup> Kombinasi antigen O dan H penting dalam studi epidemiologi dan patogenesis *E. coli*.<sup>1,2</sup>

*Shiga toxin* (stx) yang dihasilkan *Escherichia coli* O157:H7 (STEC) sudah terbukti di dunia sebagai penyebab utama *hemorrhagic colitis* dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS). Diagnosis mikrobiologi dilakukan dengan cara mengidentifikasi tampilan karakteristik fenotipe koloni, terutama ketidakmampuannya memfermentasi sorbitol setelah diinkubasi satu malam. Penelitian di Eropa menunjukkan bahwa *E. coli* O157:H7 *strain* STEC dari serotip O157:H<sup>-</sup> (nonmotil) mampu menfermentasi sorbitol secara cepat, terbukti sebagai penyebab penyakit *hemorrhagic colitis* dan HUS.

Tulisan ini menjelaskan hubungan antara fermentasi sorbitol *strain* (SF) STEC O157:H<sup>-</sup> sebagai penyebab penyakit pada manusia, fenotipe, karakteristik molekuler epidemiologis dan strategi yang tepat untuk diagnosis mikrobiologi.

### ***Strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> sebagai Agen Patogen**

SF STEC O157:H<sup>-</sup> pertama kali ditemukan tahun 1988 sewaktu terjadi wabah

HUS di Bavaria, Jerman.<sup>3</sup> Bakteri tersebut diisolasi secara molekuler dari spesimen feses dua pasien anak, ditemukan *strain E. coli* O157 mengandung gen *stx2*, nonmotil, menfermentasi sorbitol dalam 24 jam inkubasi (sifatnya berlawanan dengan STEC O157:H7). Pada musim dingin tahun 1995 – 1996, terjadi wabah infeksi terbesar yang disebabkan oleh SF STEC O157:H<sup>-</sup> di Bavaria, Jerman, dari 28 kasus HUS 3 anak-anak mengalami kefatalan akibat bakteri ini. Dari 300 – 600 kasus yang tidak terdeteksi diare diperkirakan berkembang menjadi HUS dengan simptom STEC O157, 5 – 10%.<sup>3,4</sup> Sejak kejadian tersebut selama 3 tahun (1989-1991) dilakukan studi pengawasan prospektif untuk menyelidiki peranan SF STEC O157:H<sup>-</sup> dalam etiologi kasus sporadik terhadap pasien anak HUS dan kasus diare di Jerman.<sup>3,4</sup>

Meningkatnya infeksi SF STEC O157:H<sup>-</sup>, dalam etiologi HUS dan diare secara epidemiologi, kurang dipahami karena keterbatasan data dan perbedaan-perbedaan aspek epidemiologi infeksi yang disebabkan SF STEC O157:H7. Patogenesis SF STEC O157:H<sup>-</sup>, lebih infeksius pada anak di bawah umur 3 tahun dan kondisi musim dingin dibandingkan dengan STEC O157:H7.<sup>4</sup>

Sapi dan beberapa jenis hewan dapat menjadi sumber reservoir *strain* STEC O157:H7 dan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, diasumsikan bahwa *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, dapat beradaptasi dan menginfeksi lambung manusia dan manusia dapat menjadi reservoir utama, seperti reservoir enteropatogenik *E. coli*.

Sarana dan rantai penularan infeksi SF STEC O157:H<sup>-</sup> belum diketahui dalam kebanyakan kasus, tetapi dua dari tiga prinsip rantai penularan infeksi telah diidentifikasi. Wabah besar di Jerman tahun 1995-1996 diduga karena makanan saus yang mengandung daging mentah yang terkontaminasi SF STEC O157:H<sup>-</sup>, dan diidentifikasi sebagai sumber infeksi.<sup>5</sup>

Kontak langsung dengan binatang, sapi dan kuda melalui kotoran yang mengandung *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> merupakan rantai penularan ke pasien dalam kasus sporadik HUS dan diare yang sudah dilaporkan. Meskipun penularan melalui kontak langsung infeksi SF STEC O157:H<sup>-</sup> mungkin lebih rendah dibandingkan dengan STEC O157:H7 dan manusia sebagai

reservoir patogen atau berperan sebagai sumber penularan masih perlu dipelajari.

### Karakteristik Genotipe dan Virulensi *Strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>

*Strain* SF STEC O157 nonmotil, antigen H (flagel)nya tidak dapat diserotiping, sehingga analisis flagelin subunit yang mengkode gen *fliC* pada isolat SF STEC O157:H<sup>-</sup> dilakukan menggunakan metode *restriction fragment length polymorphism* (RFLP).<sup>6</sup> Pendekatan ini membuktikan bahwa semua *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> memiliki

gen *fliC* yang mengkode antigen H7. Analisis rangkaian nukleotida gen *fliC strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> dalam studi lain menunjukkan bahwa gen *fliC* SF STEC O157 yang mengalami mutasi ganda, diasumsikan sebagai hasil ekspresi flagelin.<sup>6</sup> Identifikasi genetik menunjukkan ditemukan 2 nukleotida menyisip dalam 5' *conserved region* dari gen *fliC* SF STEC O157 pada kerangka pembacaan (*shift in the reading frame*), sehingga pengenalan *stop codon prematur*, hal ini menjadi dasar molekuler dari beberapa *strain* nonmotil.

**Tabel 1. Karakter Fenotipe dan Virulensi SF STEC O157:H<sup>-</sup> dan STEC O157:H7.<sup>3,6</sup>**

Serotipe	Karakteristik fenotipe					Lokus kromosom virulen			Plasmid	Plasmid Gen				
	SF/GUD	Tipe faga	Stx	EHEC Hly	Resistensi Telluruit	<i>stx</i>	<i>eae</i>	TAI	besar (ca.90kb)	EHEC <i>hlyA</i>	<i>katP</i>	<i>espP</i>	<i>etp</i>	<i>sfp</i>
O157:H <sup>-</sup>	+/+	88, 23	Stx2	-	tidak	<i>stx2</i>	$\gamma$	-	ya	+	-	-	+	+
O157:H <sup>7</sup>	-/-	Variasi, tanpa 88,23	Stx1, Stx2, Stx2c	+	ya	<i>stx1, stx2,</i> <i>stx2c</i>	$\gamma$	+	ya	+	+	+	+	-

Ket. SF/GUD Sorbitol fermentations/ $\beta$ -D-Glucuronidase activity

*Strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang telah diteliti hingga saat ini memiliki fenotipe dan karakteristik virulensi identik dengan STEC O157:H7. *Strain* STEC O157:H7 dan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> memfermentasi sorbitol setelah inkubasi 24 jam dan menunjukkan adanya aktivitas  $\beta$ -D-glucuronidase. Identifikasi serotype menggunakan tipe faga *E.coli* O157:H7. menunjukkan bahwa *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> dikelompokkan pada tipe faga 88, yang identik dengan tipe faga 23, yang tidak ditemukan di antara *strain* SF STEC O157:H7.<sup>6</sup>

Meskipun karakteristik virulen *strain* tersebut mirip, *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> memiliki kombinasi spesifik ciri virulensi, yaitu *stx2*. Sebagai gen tunggal *stx*, *eae* mengkode  $\gamma$ -intimin dan plasmid 90-kb yang mengandung gen enterohemoragik *E.coli* (EHEC) *hlyA* dan *etp*, tetapi tidak mengandung gen virulensi *espP* dan *katP*. Gen *stx2* dalam *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> ditunjukkan sebagai pembawa *stx-converting* bakteriofaga seperti telah ditampilkan *stx1* dan *stx2* STEC O157:H7.<sup>6</sup>

*Strain* STEC O157:H7 akhir-akhir ini menunjukkan *pathogenicity island* TAI (*tellurite resistance and adherence conferring island*) sebagai pembawa gen baru yang mengkode protein pelekat dan resistensi terhadap *tellurite*. *Strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> tidak menunjukkan *pathogenicity island*, ketidakhadiran TAI pada genom SF STEC O157:H<sup>-</sup> membuktikan secara genetik bahwa beberapa *strain* SF STEC O157:H7 sensitif terhadap *tellurite*.<sup>7</sup>

Plasmid yang terdapat pada SF STEC O157:H<sup>-</sup> dan STEC O157:H7 yang tidak membawa *katP*, *espP*, dan tidak mengekspresikan gen EHEC *hlyA*, menunjukkan bahwa patogenesitas *strain* tersebut berbeda. Regulasi gen *hlyA* yang diekspresikan dalam STEC O157:H7 memberikan penambahan tipe fenotipe enterohemolitik pada *plate* agar darah yang mengandung sel darah merah dan ion Ca<sup>2+</sup> (agar enterohemolisin).<sup>7-8</sup> Gen *hlyA* EHEC tidak diekspresikan dalam mayoritas *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang biasanya nonhemolitik pada agar enterohemolisin. Kelompok gen

baru, *sfp* (*sorbitol-fermentation EHEC O157 fimbriae, plasmid encoded*) yang memfasilitasi manosa-hemaaglutinasi resisten dan mengekspresikan tipe fimbri baru diidentifikasi pada *plasmid* besar SF STEC O157:H<sup>-</sup>; *sfp* merupakan karakteristik unik dari SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang tidak ditemukan dalam STEC O157:H7, dan *strain* STEC lainnya atau anggota famili Enterobacteriaceae lainnya.<sup>8</sup>

Sejak tahun 1988-1991, peneliti di Jerman melakukan studi prespektif tentang bagaimana kedekatan antara setiap klonal *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, dengan menganalisis isolat menggunakan *pulsed field gel* elektroforesis (PFGE). Ternyata *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> identik dan mempunyai hubungan dekat dengan pola *Xba*I yang berbeda secara nyata dengan STEC O157:H7, fermentasi nonsorbitol (NSF) STEC O157:H<sup>-</sup> dan *strain* SF *E. coli* O157:H45 *Stx* negatif. Hasil PFGE menunjukkan tampilan fenotipe spesifik dan profil virulensi dari beberapa *strain* sangat kombinasi sehingga disimpulkan bahwa *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> suatu *strain* yang baru, klon yang berbeda dalam serogrup *E. coli* O157.<sup>8</sup>

Penelitian juga dilakukan untuk mengonfirmasi dalam studi terakhir Jerman, dikonfirmasi kedekatan hubungan antara isolat STEC O157, *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> berdasarkan tipe gen PFGE dan peta gen P (*number and genomic position of lambdaoid bacteriophages*). Analisis ini menampilkan hasil yang berlawanan dengan observasi penyebaran genom diantara STEC O157:H7 dan *strain* NSF STEC O157:H<sup>-</sup>, 40 isolat SF STEC O157:H<sup>-</sup> memiliki pola PFGE unik, yang tidak terlihat di antara *strain* NSF STEC O157 dan dua memiliki hubungan dekat dengan profil gen P. Analisis PFGE *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang diisolasi dari pasien di Republik Ceko dan sapi dan perbandingan di antara *strain-strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang diisolasi di Jerman, menampilkan bahwa semua isolat Ceko dan Jerman memiliki identik atau kedekatan hubungan pola PFGE dan ditempatkan dalam kluster yang sama. Ini menunjukkan bahwa *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang diisolasi di Republik Ceko milik dari klon SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang menyebar di Jerman.<sup>4</sup>

Feng, dkk meneliti hubungan dan evolusi klon SF STEC O157:H<sup>-</sup> dengan klon SF STEC O157:H7. Analisis mereka

menunjukkan bahwa *strain* tersebut dibedakan oleh dua enzim *alleles*. STEC O157:H7 dan SF STEC O157:H<sup>-</sup> merupakan turunan EPEC O157:H7 sebagai “moyang” yang membawa kepulauan patogenitas LEE (*Locus of enterocyte effacement*) dan selama perjalanan evolusi gen *stx2*, *plasmid* besar, dan *rfb* membawa kode antigen O157. SF STEC O157:H<sup>-</sup> merupakan model klon cabang dari klon kompleks O157:H7, yang menjadi berbeda bersamaan dengan hilangnya motilitas bakteri tetapi menurunkan kemampuan untuk mefermentsi sorbitol dan menampilkan aktivitas  $\beta$ -D *glucuronidase*.<sup>9</sup>

### Deteksi Mikrobiologi *Strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>

Media *Sarbitol MacConkey Agar* (SMAC) digunakan untuk mendeteksi STEC O157, tetapi tidak dapat mengidentifikasi *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> atau bukan. Untuk menyaring dan mengisolasi *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, harus dikombinasi dengan STEC O157:H7, kemudian dikulturkan pada SMAC sehingga pendekatan target mendapat 2 karakteristik penting yang berbeda yang dihasilkan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, yaitu gen *stx2* dan atau produksi *Stx2* dan liposakarida (LPS) O157.

Protokol diagnosis yang sukses untuk mendeteksi SF STEC O157:H<sup>-</sup> dilakukan dengan mengembangkan selektif tinja dengan cara pemisahan tinja berdasarkan *immunomagnetic separation* (IMS). IMS mengandung *beads* magnetik, dimana tinja yang mengandung bakteri O157 mengikat *beads* magnetik dan melekat pada SMAC. Isolat kultur disaring untuk mendapatkan bakteri yang mengandung *Stx* melalui uji PCR. Untuk mengidentifikasi *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, dari kultur feses yang PCR (+), koloni dihibridisasi pada 100-200 well-separasi, koloni yang terbentuk direaksikan dengan probe *stx2* berlabel *digoxigenin*.<sup>1-4</sup>

Alternatif lain koloni yang memproduksi *stx2* dapat diidentifikasi dalam kultur campuran melalui uji immunoblot yaitu mereaksikan koloni dengan antibodi spesifik. Koloni SF yang mengandung *stx2* dan atau yang memproduksi *Stx2* dikonfirmasi sebagai *E. coli* O157 melalui uji biokimia standar dan reaksi aglutinasi dengan antiserum O157.

Penelitian lain melakukan pendekatan diagnosis deteksi SF STEC O157:H<sup>-</sup>, dengan

cara mengombinasi *direct* kultur atau kultur pada SMAC diperkaya IMS, dengan menyaring antigen O157 dari tinja melalui uji komersial *enzim linked immunosorbent assay* (Elisa). Jika hasil Elisa menunjukkan *E. coli* O157 tetapi bukan koloni non-sorbitol fermentasi (NSF) pada SMAC, maka deteksi koloni SF STEC O157 diteruskan uji aglutinasi *slide* dengan antiserum O157 dan deteksi *Stx2* menggunakan uji aglutinasi lateks komersial.<sup>3-4</sup>

Sensitivitas *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> terhadap *tellurite* dan tidak dapat diisolasi pada agar *cefiximi-tellurite* SMAC yang menjadi media selektif terhadap STEC O157:H<sup>7</sup>, merupakan keterbatasan dalam diagnosis mikrobiologi. Selain itu ketidakhadiran fenotipe enterohemolitik pada kebanyakan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, menyebabkan deteksi tidak dilakukan pada agar enterohemolisin. Karena diagnosis mikrobiologi SF STEC O157:H<sup>-</sup> metodenya sulit dan waktunya lama, disarankan melakukan kombinasi metode yang ada.

Di benua Eropa untuk mendapatkan isolat patogen penyebab infeksi pada manusia dilakukan penekanan terhadap pengembangan media seleksi untuk mengisolasi *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>. Sebelum ditemukan media yang layak upaya penentuan diagnosis dilakukan dengan mengisolasi *strain* SF STEC O157 secara optimum yaitu mengombinasi IMS selektif diperkaya dengan metode deteksi *stx2* dan atau *Stx2* sebagai indikasi pasien HUS dan diare benar-benar terinfeksi *E. coli* O157 (contoh hadirnya antigen O157 dalam feses dan atau hadirnya IgM anti O157 antibodi LPS tetapi koloni NSF negatif dalam kultur fesesnya).<sup>1-4</sup>

### **Isolat pada Pasien yang Negatif *Shiga Toxin Strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>**

Suatu penelitian epidemiologi penderita HUS dan diare dilaporkan bahwa ditemukan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> yang tidak mengandung gen *stx2*, pada gen *fliC* yang mengkode antigen H<sup>7</sup>, gen *eae* mengkode  $\gamma$ -intimin, gen *plasmid* termasuk gen EHEC *hlyA* dan *etp*.<sup>7</sup> Analisis acak amplifikasi PCR polimorfik DNA menampilkan bahwa semua isolat SF *E. coli* O157:H<sup>-</sup> *stx2* negatif merupakan kelompok genetik yang sama dan dekat dengan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>.<sup>6</sup> Dilaporkan juga bahwa

pasien HUS memiliki antibodi anti O157 IgM sebagai pendukung etiologi penyakit, meskipun di antara pasien HUS pernah terinfeksi STEC O103:H<sup>2</sup>.<sup>4</sup>

Selama wabah di Austria, dengan metode *pulsed-field gel electrophoresis* (PFGE) diisolasi 6 strain SF STEC O157:H<sup>-</sup> *stx2* negatif, 5 isolat tidak dapat dibedakan resolusi fragmen DNA yang terbentuk pada gel separasi, demikian juga terhadap tipe faga dan profil gen *P. Strain* tersebut diisolasi dari satu keluarga, anak umur 10 bulan dan 2 tahun yang telah diare air selama 30 dan 10 hari, dan 3 pasien dewasa tanpa gejala. Feses dari semua anggota keluarga negatif terhadap bakteri enterik patogen, rotavirus dan parasit, selama wabah ini hanya satu orang, tanpa gejala yang contoh serumnya positif antibodi IgM terhadap LPS O157.<sup>8-9</sup>

Bagaimana peranan dalam menimbulkan penyakit dan mekanisme patogenesitas *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> *stx2*, belum diketahui. Penelitian menunjukkan bahwa beberapa *strain* dapat berubah kemampuan patogenesitasnya, seperti infeksi awal yang disebabkan *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup>, selama masa infeksi, isolasi atau subkultur spesimen menunjukkan gen *stx* hilang, tetapi secara alami *strain* SF *E. coli* O157:H<sup>-</sup> *stx* negatif dapat menjadi *strain* SF STEC O157:H<sup>-</sup> *stx* positif, melalui transduksi dengan konversi *stx* bakteriofaga.

Jika ditemukan isolat *strain*, *inherent* *stx* negatif dan menyebabkan penyakit seperti HUS, *strain* tersebut dapat mengalami penambahan/perubahan materi genetik yang belum teridentifikasi, seperti faktor virulensi yang berkontribusi terhadap patogenesitas infeksi. Telah dikembangkan bagaimana intimin berperan (faktor virulensi kemampuan melekat pada sel reseptor) dalam infeksi diare pada *strain* SF *E. coli* O157:H<sup>-</sup> dengan *stx* negatif, *eae* positif.

Hal penting dalam menentukan diagnosis adalah kenyataan bahwa *strain* SF *E. coli* O157:H<sup>-</sup> *stx* negatif akan diabaikan dari feses pasien, pada SMAC, untuk itu perlu dilakukan deteksi gen *stx* atau produksi *Stx*. Isolasi *strain* tersebut membutuhkan tehnik independen untuk mendeteksi *stx* seperti deteksi gen *eae* dan atau deteksi antigen O157.

## Kesimpulan

Prespektif teknik identifikasi SF STEC O157:H<sub>7</sub>, sebagai deteksi mikrobiologi sampai saat ini masih terus dikembangkan dan ditingkatkan. Hal tersebut sangat penting untuk mengetahui hubungan fenotipe atau genotipe antara *strain* SF STEC O157:H<sub>7</sub>, dalam menimbulkan penyakit maupun pemahaman epidemiologi yang lebih baik. Untuk mengetahui struktur *strain* SF STEC O157:H<sub>7</sub> dan hubungan kedekatannya dalam profil PFGE dan kedekatan terhadap subtype *strain* dalam studi epidemiologi dibutuhkan metode yang dapat membedakan kelompok klon *strain* SF STEC O157:H<sub>7</sub>.

Gabungan media seleksi untuk isolasi *strain* SF STEC O157:H<sub>7</sub>, pengembangan IMS dapat menghasilkan sensitivitas dan spesifisitas prosedur diagnosis untuk meningkatkan ditemukannya isolat patogen dari spesimen klinik dan spesimen lingkungan secara optimal. Penerapan beberapa peralatan diagnostik yang optimum dalam studi klinik dan epidemiologi di dunia harus dapat menghasilkan informasi, apakah *strain* SF STEC O157:H<sub>7</sub> benar-benar terbatas di benua Eropa atau apakah *strain* tersebut juga menyebar di tempat lain, dimana saat ini tidak terdeteksi. Dengan meningkatnya *strain* SF STEC O157:H<sub>7</sub> *stx* negatif dari spesimen pasien-pasien HUS dan diare, perlu diklarifikasi tentang peranan etiologi penyakit dan mekanisme patogenitas terhadap manusia

Selain itu dilakukan juga beberapa pendekatan diagnosis tentang peranan sapi dan binatang lain terhadap manusia sebagai reservoir SF STEC O157:H<sub>7</sub> untuk meneliti rantai penularan, sehingga dihasilkan dasar penerapan yang efektif untuk pencegahannya.

## Daftar Pustaka

1. Nataro JP dan James B.Kaper. Diarrhegenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews. 1998. 11:142-201.
2. O'Brien AD and RK Holmes. *Shiga* and *shiga*-like toxins. Microbiol. 1987. Rev. 51: 206-20.
3. Karch H and Martina Bielaszewska. Sorbitol-Fermenting *shiga* toxin-Producing *Escherichia coli* O157:H<sub>7</sub> strains: epidemiology, phenotype, molecular characteristics and microbiological diagnosis. J. Clin. Microbiol. 2001. 39:2034-49.
4. Gunzer, F., H. Bohm, H. Russmann, M. Bitzan, S. Aleksic, and H. Karch. 1992. Molecular detection of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157 in patients with hemolytic-uremic syndrome. J. Clin. Microbiol. 30:1807-1810.
5. Ammon, A., L. R. Peterson, and H. Karch. 1999. A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain *E. coli* O157:H<sub>2</sub>. J. Infect. Dis. 179:1274-1277.
6. Fields, P. I., K. Blom, H. J. Hughes, L. O. Helsel, P. Feng, and B. Swaminathan. 1997. Molecular characterization of the gene encoding H antigen in *Escherichia coli* and development of a PCR-restriction fragment length polymorphism test for identification of *E. coli* O157:H<sub>7</sub> and O157:NM. J. Clin. Microbiol. 35:1066-1070.
7. Tarr, P. I., S. S. Bilge, J. C. Vary, S. Jelacic, R. L. Habeeb, T. R. Ward, M. R. Baylor, and T. E. Besser. 2000. Iha: a novel *Escherichia coli* O157:H<sub>7</sub> adherence-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. Infect. Immun. 68:1400-1407.
8. Brunder, W., A. Salam Khan, J. Hacker, and H. Karch. 1999. Novel type of fimbriae encoded by the large plasmid of sorbitol-fermenting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H<sub>2</sub>. Infect. Immun., in press. 64:1300-1317.
9. Feng, P., K. A. Lampel, H. Karch, and T. S. Whittam. 1998. Genotypic and phenotypic changes in the emergence of *Escherichia coli* O157:H<sub>7</sub>. J. Infect. Dis. 177:1750-1753.