

## **PROFIL MIKROBIOM UROGENITAL DAN KARAKTERISASI MOLEKULER BAKTERI PADA PASIEN INFEKSI SALURAN KEMIH**

Fitri Nadifah  
17/420218/SBI/00145

### **INTISARI**

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan penyakit infeksi dengan 150 juta kasus di seluruh dunia, terbesar setelah infeksi saluran pernapasan. Selain itu, terjadi peningkatan kasus resistensi bakteri terhadap sejumlah antibiotik, terutama antibiotik  $\beta$ -laktam, menyebabkan kasus ISK sangat perlu diteliti. Perbedaan jenis kelamin dan usia merupakan faktor penentu tingkat keparahan kasus ISK di beberapa RS. Hingga saat ini, identifikasi ISK, termasuk uji sensitivitas bakteri, dilakukan dengan teknik kultur konvensional. Namun, teknik tersebut membutuhkan waktu yang lama, hanya mampu mendeteksi 1% dari keseluruhan bakteri yang ada dalam spesimen, dan kemungkinan bias yang tinggi pada uji sensitivitas. Padahal, identifikasi yang akurat sangat diperlukan sebagai pertimbangan untuk menentukan diagnosis, resep obat dan perawatan yang tepat bagi pasien. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi komposisi mikrobiom urogenitalia pasien ISK berdasarkan perbedaan jenis kelamin dan kelompok usia, serta mengidentifikasi gen resistensi blaTEM pada urin pasien ISK.

Penelitian ini menggunakan 60 spesimen urin pancaran pertama pasien ISK dari 5 Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) di Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY). Isolasi DNA dari spesimen urin dilakukan sesuai protokol QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN). Sampel DNA hasil isolasi digunakan untuk tahap selanjutnya. Sekuensing gen 16S rRNA dengan Illumina MiSeq dilakukan untuk mengetahui komposisi mikrobiom urogenital. Amplifikasi PCR dan sekuensing dilakukan untuk menentukan keberadaan gen blaTEM pada sampel.

Sekuensing gen 16S rRNA berhasil mengidentifikasi komponen penyusun mikrobiom urogenitalia pasien ISK, termasuk mikrobiota yang kemungkinan sulit untuk dikulturkan. Berdasarkan *analysis of molecular variance* (Amova), terdapat perbedaan signifikan ( $p$  value <0,05) antara kelompok F (perempuan) dan M (laki-laki) yang sesuai dengan hasil *Principal Component Analysis* (PCA). Pada pasien perempuan, mikrobiom urogenitalia didominasi oleh *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Lactobacillus* (*L. iners* dan *L. helveticus*), *Citrobacter* (*C. werkmanii* dan *C. portucalensis*), *Enterococcus faecalis*, Enterobacteriaceae dan *Escherichia coli*. Mikrobiom urogenitalia pasien laki-laki didominasi oleh *Gardnerella vaginalis*, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, dan *Burkholderia cenocepacia*. Identifikasi sampel yang mengandung gen resistensi menunjukkan bahwa 73,3% sampel mengandung gen blaTEM. Keberadaan gen blaTEM dalam sampel mengindikasikan bahwa patogen penyebab penyakit telah resisten terhadap antibiotik

$\beta$ -laktam. Analisis menggunakan program BLAST menghasilkan 4 varian dari gen blaTEM, yaitu TEM-116 (29 sampel), TEM-117 (1 sampel), TEM-192 (1 sampel), dan TEM-201 (13 sampel). Kelompok usia yang paling banyak terdeteksi gen blaTEM adalah 51-65 tahun. Tingginya jumlah sampel yang resisten membutuhkan perhatian dari pihak terkait dalam pencegahan dan pengendalian resistensi patogen penyebab infeksi. Perspektif ekologi, seperti kemampuan bakteri dalam mengembangkan mekanisme resistensi dan interaksi terhadap inang dan mikrobiota lain, dibutuhkan untuk menentukan perawatan yang tepat bagi pasien ISK.

**Kata kunci:** ISK, mikrobiom, sekuensing, 16S rRNA, blaTEM

## UROGENITAL MICROBIOME PROFILE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE BACTERIA IN PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTION

Fitri Nadifah  
17/420218/SBI/00145

### ABSTRACT

Urinary tract infection (UTI) is an infectious disease with 150 million cases worldwide, the largest after respiratory tract infections. In addition, there is an increase in cases of bacterial resistance to a number of antibiotics, especially  $\beta$ -lactams, causing UTIs important for research. Gender and age differences are the determining factors for the severity of UTI cases in several hospitals. Until now, UTI identification, including bacterial sensitivity testing, has been carried out using conventional culture techniques. However, this technique takes a long time to work, is only capable of detecting 1% of all bacteria present in the specimen, and has a high probability of bias in the sensitivity test. In fact, accurate identification is needed as a consideration for determining the diagnosis, prescribing drugs and appropriate treatment for patients. The aim of this study is to identify and characterize the composition of the urogenital microbiome of UTI patients based on sex and age group, as well as to identify the blaTEM resistance gene.

This study uses 60 voided urine specimens of UTI patients from 5 Regional General Hospitals in the Special Region of Yogyakarta. DNA isolation uses the protocol of QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN) and resulting in DNA samples which is used in the next steps. Sequencing of 16S rRNA gene is performed using Illumina MiSeq platform to identify urogenital microbiome, while detecting the blaTEM gene uses PCR amplification technique and sequencing.

16S rRNA gene sequencing has successfully identifying components of the urogenital microbiome of UTI patients, including fastidious microbiota that may difficult to culture. Based on the analysis of molecular variance (Amova), there is a significant difference ( $p$ -value  $<0.05$ ) between groups F (female) and M (male) which is in accordance with the results of Principal Component Analysis (PCA). Predominant species in female microbiome consist of *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Lactobacillus* (*L. iners* and *L. helveticus*), *Citrobacter* (*C. werkmanii* and *C. portucalensis*), *Enterococcus faecalis*, Enterobacteriaceae and *Escherichia coli*. *Gardnerella vaginalis*, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, and *Burkholderia cenocepacia* are found to be predominant in male. Identification of samples harboring resistance gene found that 73.3% of samples contain the blaTEM gene. The presence of the blaTEM gene in the samples indicating the resistance of the disease-causing pathogen has occurred to  $\beta$ -lactam antibiotics. Analysis using the BLAST program resulting in 4 variants of the blaTEM gene which consist of TEM-



116 (29 samples), TEM-117 (1 sample), TEM-192 (1 sample), and TEM-201 (13 samples). The age group with the most blaTEM gene detected is 51-65 years. The high number of resistant samples requires attention from related parties in preventing and controlling resistance to pathogens that cause infection. Ecological perspectives, such as the ability of bacteria to develop resistance mechanisms and interactions with the host and other microbiota, are needed to determine the appropriate treatments for UTI patients.

**Keywords: UTI, microbiome, sequencing, 16S rRNA, blaTEM**