

Bentuk Makalah: Presentasi Oral
Disampaikan pada Pertemuan Ilmiah PAMKI Hotel Inna Garuda Jogjakarta 12 - 14 November 2009.

KESESUAIAN TIPE *STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSOME MEC (SCCmec)* ISOLAT *METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) DENGAN POLA KEPEKAAN TERHADAP ANTIMIKROBA

Yuwono

Departemen Mikrobiologi/Mikrobiologi Klinik FK Unsri/RSMH Palembang

PENDAHULUAN

Wabah MRSA pertama kali terjadi di Eropa pada era tahun 1960-an. Kemudian menyebar dengan cepat ke berbagai rumah sakit di seluruh dunia sehingga MRSA sering juga disebut *Healthcare associated MRSA* (HA-MRSA). Prevalensi MRSA di berbagai rumah sakit di dunia berkisar antara 2-70% dengan angka rata-rata 20%. Prevalensi di bawah 5% dijumpai di Belanda dan beberapa negara Skandinavia, karena ketatnya penggunaan antimikroba dan keberhasilan program pengendalian infeksi MRSA¹⁻³. Pada tahun 1998 di Amerika Serikat dilaporkan sebanyak 4 anak meninggal dunia akibat infeksi MRSA yang ternyata bersifat nonmultiresisten yaitu hanya resisten terhadap betalaktam. Para peneliti memperkirakan bahwa MRSA ini bukan berasal atau berhubungan dengan lingkungan rumah sakit melainkan berasal atau berhubungan dengan komunitas sehingga disebut *Community-Associated MRSA* (CA-MRSA)⁴. Hiramatsu dkk., menemukan bahwa faktor yang mendasari resistensi MRSA adalah suatu elemen

genetik yang disebut *mecDNA* yaitu suatu elemen genetik yang mengandung gen *mecA*⁵. Beberapa tahun kemudian Ito dkk., menyebut *mecDNA* sebagai *Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec)*⁶. Diantara elemen pada *SCCmec* MRSA terdapat bagian *conserved* yaitu gen *meca* yang menyandi PBP mutan PBP2a atau PBP2' seberat 76 kDa. Berbagai riset di seluruh dunia terhadap isolat baru maupun isolat yang telah tersimpan (arsip) sampai dengan tahun 1998, ditemukan 3 tipe *SCCmec* yaitu *SCCmec* tipe I, *SCCmec* tipe II dan *SCCmec* tipe III⁷. Ma dkk., berhasil menemukan *SCCmec* tipe IV berukuran antara 20.9 -24.3 kb⁸. Secara konsisten data-data yang diambil dari isolat MRSA sebelum tahun 1998 di seluruh dunia menunjukkan bahwa semua MRSA memiliki *SCCmec* tipe I, II atau III dan menunjukkan fenotip yang multiresisten. Dengan ditemukannya *SCCmec* tipe IV pada CA-MRSA yang diketahui bersifat nonmultiresisten mendorong peneliti untuk melakukan kajian bagaimana pengaruh keberadaan CA-MRSA pada populasi MRSA.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian prediktif eksperimental dengan pendekatan studi molekuler berupa genotyping *SCCmec* dan uji kepekaan terhadap antimikroba metode difusi cakram⁹. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kesesuaian tipe *SCCmec* dengan pola kepekaan terhadap antimikroba. Sebanyak 50 isolat MRSA didapat dari beberapa rumah sakit dan laboratorium di Bandung dan 22 isolat dari Laboratorium Mikrobiologi FK Unsri/ RSMH Palembang. Galur kontrol sensitif adalah *S. aureus* ATTC 25923 yang diperoleh dari Balai Besar

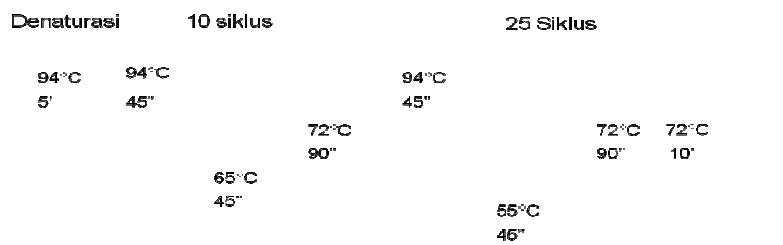
Laboratorium Kesehatan (BBLK) Palembang. Identifikasi *SCCmec* dilakukan dengan cara PCR multipleks berdasarkan metode yang dilakukan oleh Zhang dkk (2005) yang dimodifikasi¹⁰. Primer yang digunakan adalah

Tabel 2. Primer, Amplikon dan Tipe *SCCmec*

Primer	Sekuen Oligonukleotida (5'-3')	Amplikon	Spesifitas
Type I-F	GCTTTAAAGAGTGTGCGTTACAGG	613 bp	<i>SCCmec</i> I
Type I-R	GTTCTCTCATAGTATGACGTCC		
Type II-F	CGTTGAAGATGATGAAGCG	398 bp	<i>SCCmec</i> II
Type II-R	CGAAATCAATGGTTAATGGACC		
Type III-F	CCATATTGTGTACGATGCG	280 bp	<i>SCCmec</i> III
Type III-R	CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG		
Type IVa-F	GCCTTATTGCAAGAAACCG	776 bp	<i>SCCmec</i> IVa
Type IVa-R	CTACTCTCTGAAAAGCGTCG		
Type IVb-F	TCTGGAATTACTTCAGCTGC	493 bp	<i>SCCmec</i> IVb
Type IVb-R	AAACAATATTGCTCTCCCTC		
MecA147-F	GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT	147 bp	<i>mecA</i>
MecA147-R	ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T		

Volume reaksi adalah 25 ul dengan siklus reaksi sebagai berikut:

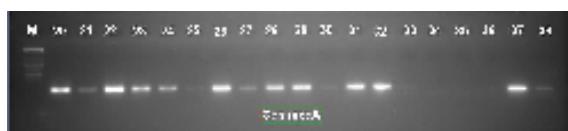
Siklus PCR Multipleks



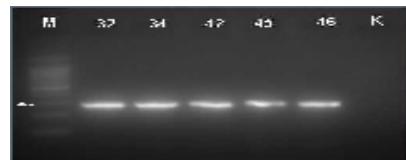
Amplifikasi dilakukan dalam mesin *i-cycler* Biorad (Biorad System, USA)

HASIL DAN PEMBAHASAN

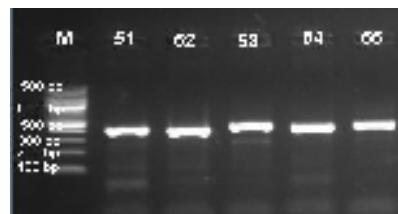
Hasil PCR multipleks menunjukkan bahwa 58 isolat memiliki *SCCmec* tipe III, 9 isolat memiliki *SCCmec* tipe IV sedangkan 5 isolat tidak teridentifikasi sebagai MRSA sehingga tidak mengandung *SCCmec*. Sebanyak 2 isolat (2,4%) yang memiliki *SCCmec* tipe III bersifat nonmultiresisten. Sebaliknya 2 isolat (22,2%) yang memiliki *SCCmec* tipe IV bersifat multiresisten. Hasil ini mengindikasikan adanya perubahan kesesuaian pola kepekaan MRSA terhadap berbagai antimikroba dengan kandungan genetik *SCCmec*. Analisis statistik untuk menguji apakah telah terjadi ketidaksesuaian tersebut menunjukkan hasil bahwa MRSA dengan *SCCmec* tipe III masih bersesuaian dengan pola kepekaan yang multiresisten dan demikian pula untuk MRSA dengan *SCCmec* tipe IV masih sesuai dengan pola kepekaan nonmultiresisten. Namun demikian perubahan yang cukup besar terutama pada kelompok *SCCmec* tipe IV mengindikasikan adanya perubahan dinamis pada genotipe dan fenotipe MRSA^{11,12}.



Gambar 1. Hasil PCR gen *mecA* dengan amplikon sebesar 147 bp. M adalah marker DNA, sampel pada alur 20-38 sebagian bukan MRSA sehingga tidak terdeteksi gen tersebut.



Gambar 2. Hasil PCR *SCCmec* tipe III dengan amplikon sebesar 280 bp. M adalah marker DNA, sampel pada alur 32-46. K adalah kontrol negatif.



Gambar 3. Hasil PCR *SCCmec* tipe IV dengan amplikon sebesar 490 bp. M adalah marker DNA, sampel pada alur 51-55.

KESIMPULAN

Genotipe *SCCmec* tipe III mempunyai kesesuaian dengan pola kepekaan MRSA multiresisten dan genotipe *SCCmec* tipe IV mempunyai kesesuaian dengan pola kepekaan MRSA nonmultiresisten.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chambers HF. Methicillin resistant in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10:781-9.
2. Rohrer S, Bischoff M, Rossi J, Bachi BB. Mechanisms of methicillin resistance. In: Fluit AC, Schmitz FJ, editors. *MRSA: Current perspectives*. Norfolk England: Caister Academic Press, 2003: 31-54.
3. Katayama Y, Takeuchi F, Ito T, Ma XX, Ui-Mizutani Y, Kobayashi I, Hiramatsu K. Identification in methicillin-susceptible *Staphylococcus hominis* of an active primordial mobile genetic element for the Staphylococcal cassette chromosome *mec* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2003; 185: 2711-22.
4. Fuda C, Suvorov M, Vakulenko SB, Mobashery S. The basis for resistance to betalactam antibiotics by PBP2a of MRSA. *J Biol Chem* 2004; 279:40802-06.
5. Hiramatsu K, Kondo N, Ito T. Genetic basis for molecular epidemiology of MRSA. *J Infect Chemother* 1996; 2:117-29.

6. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, Hiramatsu K. Structural comparison of three types of Staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1323-36.
7. Ito T, Katayama Y, and Hiramatsu K. 1999. Cloning and Nucleotide Sequence Determination of the Entire *mec* DNA of Pre-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob Agents Chemother*. 43:1449-1458.
8. Ma, X. X., T. Ito, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, P. Chongtrakool, S. Boyle-Vavra, R. S. Daum, and K. Hiramatsu. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1147-1152.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility, Vol 27. Approved Standard M100-S17. 2007;Wayne, PA:NCCLS
10. Zhang K, McClure J, Elsayed S, Louie T, and Conly J. Novel Multiplex PCR Assay for Characterization and Concomitant Subtyping of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Types I to V in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* . *J Clin Microbiol* 2005; 43:5026-5033
11. Fluit AC, Schmitz FJ. Population structure of MRSA. In: Fluit AC, Schmitz FJ, editors. *MRSA: Current perspectives*. Norfolk England: Caister Academic Press, 2003:159-86.
12. Fey PD, Salim BS, Rupp ME, Hinrichs SH, Boxrud DJ, Davis CC, Kreiswirth BN, Schlievert PM. Comparative molecular analysis of community or hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 196-203.