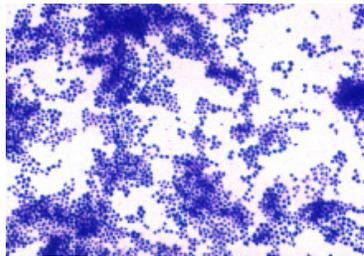


PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini, pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan. Rosenbach juga mengungkapkan bahwa *S. aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel. Sejak itu *S. aureus* dikenal secara luas sebagai penyebab infeksi pada pasien pascabedah dan pneumonia terutama pada musim dingin/hujan⁽¹⁾.



Gambar 1. Gambar mikroskopik *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan Gram, terlihat bakteri berbentuk bulat/coccus (sumber: Yuwono, 2009)

Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomyelitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar *mammae*. Pneumonia yang disebabkan *S. aureus* sering merupakan suatu infeksi sekunder setelah infeksi virus influenza. *S. aureus* dikenal sebagai bakteri yang paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah sehingga menimbulkan komplikasi. Sumber pencemaran pada infeksi pascabedah ini diantaranya berasal dari penderita *carrier* yaitu dokter, perawat atau petugas

terutama pada bangsal perawatan ibu dan anak (maternal dan neonatal) dan galur grup faga III yang menyebabkan infeksi nosokomial pada bangsal selain maternal dan neonatal⁽³⁾.

Upaya pengobatan infeksi galur *S. aureus* resisten penisilin membuahkan hasil ketika pada tahun 1959 ditemukan antimikroba semisintetik yang tahan terhadap penisilinase yaitu metisilin (*methicillin*). Keberhasilan ini tidak bertahan lama karena dua tahun kemudian ditemukan galur *S. aureus* resisten terhadap metisilin yang dikenal dengan sebutan *methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Galur yang masih sensitif terhadap metisilin disebut *methicillin sensitive S. aureus (MSSA)*. Pembentukan galur *MRSA* merupakan fenomena yang sangat menarik karena ditemukan dua macam isolat *MRSA* yaitu isolat dari penderita yang sebelumnya terpapar metisilin yang berarti resistensi tersebut bersifat induktif dan isolat lainnya dari penderita yang belum pernah terpapar metisilin yang berarti resistensi bersifat bawaan (intrinsik). Resistensi intrinsik diduga disebabkan dua hal yaitu karena mutasi spontan atau karena tertular dari pasien *carrier*. Hal menarik lainnya, ternyata *MRSA* merupakan galur multiresisten yaitu bakteri ini tidak peka (sensitif) terhadap semua golongan betalaktam, dan terhadap lebih dari 2 antimikroba nonbetalaktam seperti makrolida (eritromisin), inhibitor sintesa protein (tetrasiklin, kloramfenikol) dan kuinolon. *MRSA* yang ditemukan pada awal tahun 1960-an tersebut, dengan cepat menyebar dan menjadi salah satu penyebab utama infeksi nosokomial di seluruh rumah sakit di dunia. Oleh karena itu galur ini diberi nama *MRSA* rumah sakit/nosokomial atau *hospital associated MRSA (HAMRSA)*. Pada sekitar tahun 1998, ditemukan galur *MRSA* yang tidak terkait dengan galur *HAMRSA* yang diberi nama *MRSA* komunitas atau *community associated MRSA (CAMRSA)*^(4,5).

Resistensi *MRSA* terhadap antimikroba golongan betalaktam disebabkan bakteri ini memiliki protein mutan *penicillin-binding protein 2a (PBP2a atau PBP 2')* yang disandi oleh gen *mecA*. PBP merupakan suatu kelompok enzim pada membran sel *S. aureus* yang mengkatalisis reaksi transpeptidasi guna pembentukan anyaman (*cross-linkage*) rantai peptidoglikan. Afinitas PBP2a terhadap antimikroba golongan beta laktam sangat rendah sehingga *MRSA* akan tetap hidup meskipun terpapar antimikroba tersebut dalam konsentrasi tinggi⁽⁶⁾.

Ekspresi resistensi gen *mecA* dikendalikan oleh gen regulator *mecI* dan *mecR1* yang homolog dan memiliki mekanisme kerja yang serupa dengan regulator pada gen penyandi penisilinase. Gen *mecA* merupakan satu bagian dari *mobile genetic element* yang disebut *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCC*mec* atau *mecDNA*) yang ditemukan pada semua galur *MRSA*. Secara umum SCC*mec* mengandung gen resisten utama yaitu *mecA*, gen resisten tambahan, *insertion sequences* (IS) serta gen-gen lain yang belum diketahui fungsinya. Sejauh ini telah ditemukan 6 macam SCC*mec* dengan ukuran bervariasi antara 21 - 67 kilo basa (kb). Para peneliti menyatakan bahwa *MRSA* rumah sakit cenderung memiliki SCC*mec* tipe I-III sedangkan *CAMRSA* cenderung memiliki SCC*mec* tipe IV yang lebih pendek, lebih *mobile* dan tidak membawa gen resisten tambahan selain *mecA*. Stabilitas SCC*mec* dalam *MRSA* dipengaruhi tipe SCC*mec*, jumlah *insertion sequence* (IS), gen resisten tambahan dan faktor eksternal seperti radiasi ultraviolet, ketiadaan makanan untuk bakteri tersebut dan kenaikan temperatur. Jika *MRSA* kehilangan sebagian atau seluruh komponen SCC*mec* maka bakteri ini dapat berubah dari bakteri resisten antimikroba menjadi bakteri sensitif. Bukti kehilangan sebagian atau seluruh komponen SCC*mec* telah ditemukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* ^(7,8).

MRSA dikenal sebagai salah satu penyebab utama infeksi nosokomial di berbagai rumah sakit di seluruh dunia (pandemi) sejak era 1980-an dengan prevalensi rata-rata 50%. Hanya vankomisin yang dikatakan masih efektif untuk terapi infeksi *MRSA*. Masalah *MRSA* menjadi semakin rumit karena munculnya galur *MRSA* resisten vankomisin dan munculnya galur baru *MRSA* yang sama sekali tidak berhubungan dengan infeksi nosokomial atau infeksi di rumah sakit yang disebut galur komunitas (*CAMRSA*). Laporan pertama tentang adanya galur *CAMRSA* adalah adanya kematian 4 orang anak di Amerika Serikat akibat infeksi galur ini. Penelitian awal mengindikasikan bahwa galur *CAMRSA* secara fenotip dan genotip serta virulensi berbeda dengan galur *HAMRSA*. Ternyata *MRSA* komunitas hanya resisten terhadap antimikroba golongan betalaktam dan secara genotip tidak membawa gen resisten tambahan selain gen resisten terhadap metisilin. *CAMRSA* diduga lebih virulen dibandingkan *CAMRSA* berdasarkan indikasi bahwa tingkat mortalitas infeksi oleh galur ini lebih tinggi. Pada

eksplorasi lebih lanjut ditemukan bahwa *CAMRSA* membawa faktor virulen tambahan yaitu *Panton Valentine Leukocidin (PVL)* ^(9,10).

Pendekatan yang menyeluruh diterapkan untuk mengatasi masalah infeksi dan resistensi *MRSA* yaitu terapi dengan antimikroba baru, eksplorasi target gen esensial, vaksinasi dan program pencegahan. Antimikroba baru yang tengah digunakan untuk mengatasi infeksi *MRSA* adalah quinupristin-dalfopristin dan linezolid. Quinupristin-dalfopristin bersifat bakterisidal sedangkan linezolid bersifat bakteriostatik. Kabar terkini yang mengkhawatirkan adalah temuan adanya galur *MRSA* resisten terhadap linezolid. Obat lain yang tengah dalam uji klinis adalah daptomisin yaitu suatu antibakteri baru yang bersifat bakterisid dengan cara merusak membran sitoplasma. Eksplorasi gen esensial berupa pencarian gen yang diduga menjadi penentu utama resistensi baik induktif maupun alami. Diharapkan setelah gen ini ditemukan akan dapat dirancang zat atau substansi yang mampu menghambat atau menghentikan ekspresi gen tersebut. Sejauh ini belum ditemukan vaksin yang efektif untuk *MRSA*. Kandidat vaksin konjugat kapsular polisakarida-protein tengah dalam uji klinis. Program pencegahan berupa penerapan peraturan yang konsisten untuk membatasi penyebaran infeksi *MRSA* seperti karantina, kebiasaan mencuci tangan bagi petugas medis, penggunaan alat medis yang steril dan terapi pasien *carrier* telah menghasilkan manfaat yang sangat besar seperti di Belanda dimana prevalensi *MRSA* sangat rendah (kurang dari 2%). Program pengendalian infeksi telah terbukti mampu mereduksi prevalensi *MRSA* di Amerika Serikat dari 50% menjadi 28% sedangkan di Hongkong dan Jepang belum berhasil, prevalensinya tetap tinggi yaitu sekitar 70%^(10,11).

Daftar Rujukan

1. Lowy FD. 1998. *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J Med. 339:520-532.
2. DeLeo FR, Diep BA, Otto M. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. Infect Dis Clin North Am. 2009 Mar;23(1):17-34.
3. Giesbrecht P, Kersten T, Maidhof H and Wecke J. 1998. Staphylococcal cell wall: Morphogenesis and fatal variations in the presence of penicillin. Microbiol. Mol Biol Rev. 62:1371-1414.
4. Chambers HF. 1997. Methicillin resistant in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 10:781-9.
5. Katayama Y, Zhang HZ, and Henry F. Chambers. 2004. PBP 2a Mutations Producing Very-High-Level Resistance to Beta-Lactams. Antimicrob Agents Chemother. 48: 453-459.
6. 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.
7. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, and Hiramatsu K. 2001. Structural Comparison of Three Types of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Integrated in the Chromosome in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 45: 1323-1336.
8. Ma, X. X., T. Ito, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, P. Chongtrakool, S. Boyle-Vavra, R. S. Daum, and K. Hiramatsu. 2002. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Antimicrob Agents Chemother. 46:1147-1152.
9. Löffler B, Hussain M, Grundmeier M, Brück M, Holzinger D, Varga G, Roth J, Kahl BC, Proctor RA, Peters G. 2010. *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils. PLoS Pathog. Jan 8;6(1):e1000715.
10. DeLeo FR, Chambers HF. 2009. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. J Clin Invest. Sep;119(9):2464-74.
11. Goetghebeur M, Landry PA, Han D, Vicente C. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A public health issue with economic consequences. Can J Infect Dis Med Microbiol. Jan;18(1):27-34.
12. Yuwono. 2009. MRSA: Disertasi. FK Unpad Bandung

IDENTIFIKASI MRSA

2.1. Isolasi dan Identifikasi

Isolasi *MRSA* tidak mudah dilakukan karena seringkali bercampur/terkontaminasi dengan flora normal seperti *coagulase negative staphylococcus* (CoNS) yaitu *S. epidermidis* dan *Staphylococcus haemolyticus*. Hingga saat ini belum ditemukan media yang benar-benar ideal untuk isolasi dan identifikasi koloni *MRSA* secara langsung. Agar nutrisi/kaldu ditambah NaCl 7% pernah direkomendasikan oleh *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC). Media ini memiliki kelemahan karena hanya mampu menumbuhkan sebagian kecil isolat *MRSA* meskipun telah dilakukan substitusi NaCl dengan aztreonam atau asam nalidiksat + kolistin. Media lain yang digunakan untuk penapisan (screening) *MRSA* adalah agar darah dengan 4 mg/L metisilin atau 2 mg/L oksasilin, tetapi media ini juga memiliki kelemahan karena seringkali tidak mampu membedakan *MRSA* dengan CoNS. Para ahli mencoba mengganti media tersebut dengan media selektif *manitol salt agar* (MSA) dengan NaCl 7% tetapi hasilnya juga belum memuaskan. Penurunan konsentrasi NaCl menjadi 2% ternyata memberi hasil yang baik. MSA dengan NaCl 2% direkomendasikan baik oleh BSAC maupun *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) dan pada saat ini secara luas digunakan di seluruh dunia untuk mengisolasi *MRSA*^(1,2).

Identifikasi *MRSA* dapat dilakukan dengan uji biokimia terhadap protein A, *clumping factor*, koagulase atau nuklease dan uji kepekaan terhadap antimikroba. Uji kepekaan terhadap antimikroba dapat menggunakan salah satu dari tiga media yaitu *Mueller Hinton agar* (MHA), *Columbia agar* atau DST agar. Selain itu identifikasi *MRSA* dapat pula dilakukan secara langsung dengan kit yang telah diproduksi secara komersial seperti *latex agglutination kit* untuk mengidentifikasi PBP 2a dan secara otomatis dengan mesin seperti *vitek* dari *bioMerriex* atau *phoenix* dari *Becton Dickinson*. Baku emas (*gold standard*) identifikasi *MRSA* adalah dengan mendeteksi gen *conserved* (tetap/terpelihara)-

yang senantiasa ditemukan pada *MRSA* yaitu gen *mecA*. Identifikasi gen *mecA* ini dapat dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR)^(3,4).

Pendeteksian resistensi *MRSA* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu metode dilusi atau metode cakram menggunakan oksasilin (bukan metisilin). Oksasilin digunakan karena secara kimia satu golongan dengan metisilin, lebih stabil, hasil uji antara metisilin dan oksasilin sama dan pada saat ini metisilin tidak lagi diproduksi secara komersial sehingga yang ada di pasaran adalah oksasilin. Akhir-akhir ini dikatakan bahwa penggunaan cefoxitin lebih akurat dibandingkan dengan oksasilin^(3,5).

Pada metode dilusi digunakan medium MHA atau *Columbia* ditambah 2% NaCl. Oksasilin *stock* dibuat dengan melarutkan bubuk oksasilin dalam air steril dan dibuat konsentrasi bervariasi 10^2 , 10^3 , 10^4 mg/L. Dilakukan pengenceran sehingga didapatkan satu seri larutan oksasilin mulai dari 0.125 mg/L hingga 12.8 mg/L dan satu tabung tanpa oksasilin (0 mg/L). Medium dipanaskan hingga 50°C dan dituangkan ke tabung kemudian didinginkan. Inokulum dibuat dalam media MHA dengan konsentrasi sekitar 10^4 cfu/spot (dapat diukur kesetaraannya dengan McFarland standard). Masing-masing tabung larutan oksasilin dengan konsentrasi berbeda yang telah dibuat diberi 1-2 μ L suspensi kuman kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 30°C. Pembacaan dengan melihat ada tidaknya hambatan pertumbuhan dan diinterpretasikan sensitif bila tumbuh pada konsentrasi oksasilin ≤ 2 mg/L dan resisten bila tumbuh pada konsentrasi oksasilin ≥ 4 mg/L. Sebagai galur kontrol sensitif digunakan *S. aureus* ATCC 29213 atau NCTC 6571 dan galur resisten *S. aureus* NCTC 12493⁽³⁾.

Pada metode cakram digunakan media MHA atau *Columbia* ditambah 2% NaCl. Inokulasi dilakukan dengan *sterile swab* pada permukaan medium kemudian diletakkan cakram oksasilin 1 μ g dan diinkubasi 24 jam pada suhu 30°C. Pembacaan zona hambatan minimal (*minimal inhibitory concentration*/MIC) dalam skala millimeter (mm) dengan interpretasi sensitif bila zona hambatannya ≥ 15 mm dan resisten zona hambatannya ≤ 14 mm. Sebagai galur kontrol sensitif digunakan *S. aureus* ATCC 25923 atau NCTC 6571⁽³⁾.

2.2. Pendekatan Biologi Molekuler

Sekitar satu abad lamanya, para ahli mikrobiologi menerapkan dan mengembangkan sistem identifikasi dan karakterisasi (*microbiological typing system* atau biasa disingkat *typing* saja) galur *S. aureus* berdasarkan ciri fenotip. Pada pendekatan fenotipik dilakukan karakterisasi produk gen untuk mengidentifikasi dan membedakan antar galur berdasarkan profil biokimia, keberadaan antigen, kepekaan terhadap faga (*phage typing*) dan analisa keseluruhan protein dengan *multilocus enzyme electrophoresis* (MLEE). Parameter keberhasilan *typing* ditentukan oleh kehandalan metode tersebut dalam mengidentifikasi dan mengkarakterisasi (*typeability*), jika diulang mendapatkan hasil yang sama (*reproducibility* atau *reliability*), stabilitas (*stability*) dan derajat pembedaan (*discriminatory power*). *Typing* fenotipik memiliki keterbatasan pada semua aspek parameter tersebut. Oleh karena itu sejak 30 tahun terakhir kebanyakan pusat penelitian dan pelayanan mikrobiologi kedokteran menggunakan *typing* genotip. Terlebih lagi saat ini telah tersedia ratusan *software* program filogenetik untuk membantu menganalisa berbagai pita (*band*) hasil elektroforesis, sekuen DNA dan hasil hibridisasi sehingga *typing* genetik menjadi lebih akurat dan efisien⁽⁶⁾.

Tujuan *typing* secara epidemiologi adalah untuk mendefinisikan hubungan antar galur yang diisolasi dari tempat dan waktu tertentu misalnya pada saat wabah, sedangkan survailans dan analisa genetika populasi bertujuan untuk mengungkap hubungan antar galur dalam periode yang lebih lama (bulan dan tahun) dan mencakup geografi yang luas misalnya negara atau antar negara. Pada saat wabah (*outbreak*) ditemukan peningkatan infeksi dan atau ditemukan pola resistensi yang berbeda dengan data sebelumnya. Penelusuran dan perbandingan galur penyebab wabah ditujukan untuk mengetahui jenis dan jumlah galur yang terlibat, penerapan terapi yang tepat, pembatasan penyebaran bakteri dan evaluasi keberhasilan program pengendalian infeksi⁽⁶⁾.

Asumsi dasar *typing* bahwa keterkaitan antar galur bakteri merupakan hasil turunan dari satu prekursor, artinya antar galur dalam satu spesies memiliki sifat yang sama (saling berbagi) tetapi berbeda secara nyata dengan spesies lainnya. Keanekaragaman (*diversity*) genetik didasari adanya berbagai mutasi

seperti akumulasi mutasi titik (*point mutation*), *genetic rearrangement* dan akuisisi (pengambilan) atau kehilangan elemen genetik kromosomal maupun ekstrakromosom. Perlu diingat bahwa keseluruhan materi genetik pada bakteri (genom) terdapat dalam kromosom tunggal termasuk didalamnya *insertion sequence* dan *transposon* (Tn) dan pada ekstra kromosom seperti plasmid. Genom *Staphylococcus* tersusun atas berbagai gen yang *conserved* dan gen *mobile* yang diperoleh secara transfer horizontal dari galur/spesies lainnya yang membawa determinan resistensi atau faktor virulen. SCC*mec* merupakan struktur yang sangat bervariasi (*mosaic structure*) dan merupakan contoh rekombinasi genetik yang sangat bagus. Di dalamnya terdapat determinan resistensi utama yaitu *mecA* dan berbagai kombinasi *transposon*, *insertion sequence* dan *plasmid sequence*. SCC*mec* diperkirakan sangat aktif ditransmisi antar spesies *Staphylococcus* secara *in vivo*. Variasi elemen genetik pada SCC*mec* mengindikasikan bahwa elemen ini kemungkinan terbentuk karena pertukaran materi genetik secara horizontal dengan spesies *Staphylococcus* lainnya dan karena pengaruh lingkungan (habitat) bakteri tersebut ⁽⁷⁾.

S. aureus termasuk MRSA memiliki variasi genetik yang sangat tinggi, lebih dari 20% materi genetiknya merupakan elemen yang dapat berpindah (*mobile*). Sejauh ini telah ditemukan 18 regio DNA spesifik yang diperkirakan menyandi faktor virulensi. Metode *typing* genetik ditujukan untuk mengungkap faktor virulen ini dan memperkirakan proses patogenesisnya misalnya temuan gen yang menyandi *Panton Valentine leukocidin* pada CAMRSA yang menyebabkan *necrotising pneumonia* pada pasien dengan imunitas normal ⁽⁷⁾.

Sejauh ini *typing* genetik (molekuler) *S. aureus* termasuk MRSA telah mengalami 4 fase yaitu fase pertama berupa analisa profil plasmid, fase kedua *southern hybridization analysis* dari kromosom, fase ketiga PCR dan PFGE dan fase keempat *sequence typing* dan *probe mediated typing* ⁽⁸⁾.

Analisa plasmid pada MRSA mulai diterapkan pada pertengahan tahun 1970-an. Metode ini mengandung keterbatasan karena meskipun 90% MRSA mengandung plasmid tetapi galur pembandingnya yaitu MSSA kurang dari 50% yang memiliki plasmid serupa. Selain itu variasi struktur plasmid seperti *supercoiled*, *nicked*, linear dan oligomerik merupakan faktor perancu dalam

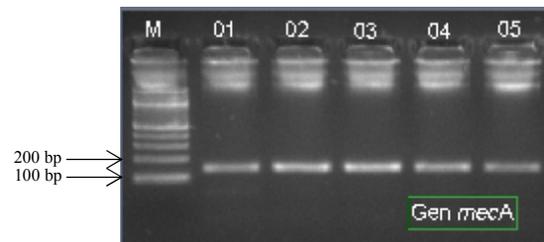
mengkarakterisasi plasmid itu sendiri. Problem ini diatasi dengan memotong (*digestion*) plasmid menjadi fragmen tertentu kemudian menganalisa jumlah dan ukuran potongan tersebut ⁽⁷⁾.

Kromosom merupakan molekul target untuk mengetahui hubungan antar bakteri. *Southern blot analysis* juga mulai diterapkan pada pertengahan tahun 1970-an ditujukan untuk mendeteksi DNA spesifik pada kromosom yang sesuai (homolog) menggunakan pelacak (*probe*). Pemilihan *probe* menjadi titik krusial (kritis) karena menentukan parameter *typeability* dan *discriminatory power*. Contoh sukses metode ini adalah *ribotyping* yaitu karakterisasi polimorfisme pada ribosom, multi *probe* untuk *insertion sequence*, transposon, gen *mecA* dan gen virulen seperti gen penyandi protein A. Polimorfisme pada gen ribosomal ini juga dapat dikarakterisasi dengan PCR ⁽⁷⁾.

Polymerase chain reaction (PCR) merupakan satu inovasi paling penting dalam biologi molekuler. Prinsip dasar kerja PCR yang mulai diterapkan pada tahun 1986 adalah melipatgandakan secara eksponensial (*amplification*) bagian tertentu dari DNA target sehingga didapatkan sejumlah besar salinan (*amplicon*) yang kemudian dengan mudah dapat dianalisa dengan elektroforesa gel. Umumnya PCR digunakan untuk menganalisa satu atau beberapa gen saja misalnya gen *mecA* dan gen regulatornya. Amplikon tertentu misalnya gen koagulase *MRSA* dapat dianalisa dengan cara pemotongan dengan enzim restriksi (*restriction endonuclease enzyme*) kemudian dilakukan elektroforesis. Cara ini dikenal dengan sebutan *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP). PCR juga sangat berhasil dalam mendeteksi *repetitive sequence* terutama pada genom eukariot. Analisa *repetitive sequence* pada *MRSA* hanya menghasilkan resolusi yang moderat sehingga metode ini tidak digunakan lagi untuk *typing MRSA*. Demikian pula metode *arbitrarily primed PCR* (AP-PCR) atau *randomly amplified polymorphic DNA analysis* (RAPD) yaitu *typing MRSA* berdasarkan variasi kromosom menggunakan primer yang pendek (10bp) hanya menghasilkan akurasi/resolusi yang moderat, sehingga jarang digunakan. Pengembangan metode PCR yang dapat mengamplifikasi sekitar 40% genom *MRSA* disebut *amplified fragment length polymorphism analysis* (AFLP). Pada metode ini fragmen genom diligasi dengan nukleotida

adapter yang disebut *linker* dan *indexer* kemudian dilakukan PCR menggunakan *adapter specific primer*⁽⁹⁾.

Pemotongan genom *MRSA* dengan enzim restriksi menghasilkan fragmen berukuran besar yang sulit dianalisa dengan elektroforesis. Problem ini berhasil diatasi oleh Schwartz dan Cantor pada tahun 1984 dengan memodifikasi aliran listrik pada gel yang disebut metode *pulse field gel electrophoresis* (PFGE). Pada PFGE, fragmen DNA akan menempati lokasi tertentu berdasarkan orientasinya dan bukan berdasarkan kecepatannya. PFGE disebut sebagai *gold standard* untuk *MRSA typing* karena dapat memisahkan sejumlah besar fragmen DNA dari kromosom. Kesulitan yang dihadapi dalam menerapkan metode ini adalah dalam menginterpretasikan pita DNA pada gel dan *reproducibility*-nya. Oleh karena itu saat ini dilakukan standardisasi teknik dan interpretasi secara internasional agar kedua masalah tersebut teratasi⁽⁹⁾.



Gambar 3. Amplikon gen *mecA* hasil PCR dengan berat molekul sekitar 147 bp (sumber: Yuwono, 2009).

Fase keempat dari *typing* genetik adalah *sequence typing* dan *probe mediated typing*. *Sequence typing* atau secara singkat sering disebut sekuensing adalah metode mengidentifikasi urutan asam nukleat pada genom. Dari segi ketepatan, metode ini menghasilkan ketepatan identifikasi nyaris 100%. Melakukan sekuensing pada seluruh genom hampir dikatakan tidak mungkin karena banyaknya galur yang harus disekuensing. Sejauh ini baru tersedia sekuen lengkap genom *MRSA* galur N315 dan galur Mu50 yang memiliki SCC*mec* tipe II. Untuk itu para ahli mengusahakan memetakan bagian yang variatif dan yang *conserved* dalam genom agar sekuensing hanya dilakukan pada bagian tertentu dari genom tetapi hasilnya efisien. Usaha ini berhasil setelah ditemukan cara karakterisasi bakteri berdasarkan perbedaan *house keeping genes* yaitu beberapa

gen yang menyandi beberapa protein yang menentukan kehidupan bakteri (*viability*). Umumnya satu bakteri mengandung 6-7 fragmen *house keeping gene*. Tiap fragmen gen diidentifikasi jenis alelnya kemudian digabungkan secara keseluruhan hingga didapat kombinasi khas tiap galur yang disebut *sequence type* (ST). Isolat dengan pola alel yang sama diartikan memiliki korelasi klonal. Akhir-akhir ini terdapat satu metode yang disebut *multilocus sequence typing* (MLST) yaitu data ST dimasukkan pada program komputer untuk dibandingkan dengan ST dari berbagai tempat/negara. Data ini dapat diakses via internet. Dalam hal *discriminatory power*, MLST merupakan metode yang paling akurat untuk melacak asal-usul dan penyebaran (filogeni dan evolusi) *MRSA*⁽¹⁰⁾.

Pada prinsipnya *probe mediated typing* adalah cara karakterisasi berdasarkan prinsip hibridisasi. Pelacak dibuat berdasarkan data gen atau sekuen spesifik pada bakteri sehingga dapat mengenali bakteri mulai dari tingkat genus, spesies hingga galur. Jika *probe* tidak terhibridisasi berarti bakteri tersebut tidak memiliki sekuen homolog dengan *probe* ini. Data sekuen *probe* yang telah dibuat disimpan dalam *database* komputer sehingga sewaktu-waktu dapat diakses dan digunakan untuk *typing* di tempat lain. Problem yang dihadapi sebagaimana problem hibridisasi adalah tingkat ketepatan hibrid antara *probe* dan sekuen spesifik pada bakteri target⁽¹⁰⁾.

Semua metode *typing* yang dibicarakan di atas adalah karakterisasi asam nukleat secara struktural. Para ahli juga telah berhasil mengembangkan *typing* asam nukleat secara fungsional dalam rangka menjelaskan hubungan patogen-inang, mekanisme kerja faktor virulen (*pathotype*) dan mekanisme kerja faktor resisten (*resistotype*). *Multiplex* PCR menggunakan multi primer digunakan untuk mengidentifikasi berbagai faktor virulen *S. aureus*, hubungannya dengan latar belakang genetik, distribusi faktor virulen tersebut diantara berbagai galur, regulator faktor virulen dan patogenesis faktor virulen pada penyakit infeksi. Metode lain untuk mengkarakterisasi fungsi genom *MRSA* adalah DNA *micro array*. Pada metode ini dilakukan deteksi ekspresi gen (transkripsi) dalam *plate* berisi banyak sampel sekaligus kemudian diinterpretasi menggunakan program komputer⁽¹⁰⁾.

Daftar Rujukan

1. Brown D, and Cookson B. 2003. Detection of *MRSA*, p 11-30. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
2. Nuria Mir, Miguel Sánchez, Fernando Baquero, Blanca López, Celia Calderón, and Rafael Cantón. 1998. Soft Salt-Mannitol Agar-Cloxacillin Test: a Highly Specific Bedside Screening Test for Detection of Colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 36: 986-989.
3. Van Leeuwen WB. 2003. Molecular approaches for the epidemiological characterization of *S. aureus* strain, p 55-95. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
4. Jonas D, Speck M, Daschner F. D, and Grundmann H. 2002. Rapid PCR-Based Identification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Screening Swabs. *J Clin Microbiol.* 40: 1821-1823.
5. Broekema NM, Van TT, Monson TA, Marshall SA, Warshauer DM. Comparison of cefoxitin and oxacillin disk diffusion methods for detection of *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus aureus* in a large-scale study. *J Clin Microbiol.* 2009 Jan;47(1):217-9.
6. Enright MC, Nicholas P. J. Day, Catrin E. Davies, Sharon J. Peacock, and Brian G. Spratt. 2000. Multilocus Sequence Typing for Characterization of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Clones of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin Microbiol.* 38: 1008-1015.
7. Mehndiratta PL, Bhalla P, Ahmed A, Sharma YD. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains by PCR-RFLP of *SPA* gene: a reference laboratory perspective. *Indian J Med Microbiol.* 2009 Apr-Jun;27(2):116-22.
8. Schouls LM, Spalburg EC, van Luit M, Huijsdens XW, Pluister GN, van Santen-Verheuvél MG, van der Heide HG, Grundmann H, Heck ME, de Neeling AJ. Multiple-locus variable number tandem repeat analysis of *Staphylococcus aureus*: comparison with pulsed-field gel electrophoresis and *spa*-typing. *PLoS One.* 2009;4(4):e5082.
9. Paule SM, Mehta M, Hacek DM, Gonzalzes TM, Robicsek A, Peterson LR. Chromogenic media vs real-time PCR for nasal surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: impact on detection of *MRSA*-positive persons. *Am J Clin Pathol.* 2009 Apr;131(4):532-9.
10. Mohanasoundaram KM, Lalitha MK. Comparison of phenotypic versus genotypic methods in the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Indian J Med Res.* 2008 Jan;127(1):78-84.
11. Yuwono. 2009. *MRSA: Disertasi*. FK Unpad Bandung

MEKANISME RESISTENSI

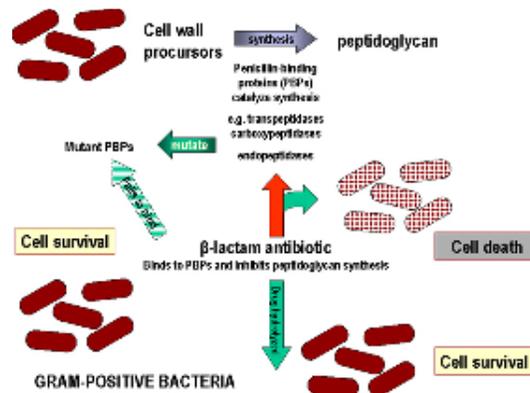
3.1. Resistensi Terhadap Beta Laktam

S. aureus berubah menjadi galur resisten metisilin (*MRSA*) karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut *staphylococcal cassette chromosome mec* (*SCCmec*). *SCCmec* atau *mecDNA* terintegrasi ke dalam kromosom *S. aureus* pada regio di dekat *origin of replication* (*ori*) kromosom. Kemampuan integrasi ini dikarenakan pada ujung 3' *SCCmec* merupakan sekuen berulang dan *inverted* yang disebut *orfX*. Selain itu *SCCmec* juga memiliki kemampuan integrasi dan eksisi (keluar dari kromosom) karena pada ujung 5' mengandung gen *ccrA* dan *ccrB* yang merupakan anggota famili *invertase/resolvase*. *SCCmec* selalu mengandung *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP2a yang mendasari resistensi *MRSA*. Setidaknya terdapat satu *insertion element* IS431 atau IS257 pada sebelah hulu *mecA* yang menjadi situs bagi proses rekombinasi elemen genetik dari plasmid maupun transposon seperti Tn554^(1, 2).

Resistensi *MRSA* terhadap metisilin dan terhadap semua antimikroba golongan betalaktam disebabkan perubahan pada *protein binding penicillin* (PBP) yang normal yaitu PBP 2 menjadi PBP 2a. PBP 2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap beta laktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakan pada medium mengandung konsentrasi tinggi beta laktam, *MRSA* tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel (tumbuh). Eksplorasi pada struktur PBP 2a menunjukkan adanya perubahan pada situs pengikatan (*binding site*) yang mengakibatkan rendahnya afinitas. PBP 2a disandi oleh gen *mecA* yang merupakan bagian *SCCmec*⁽³⁾.

Protein binding penicillin adalah sekelompok protein yang terlibat dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalisa reaksi transpeptidasi (pembentukan anyaman peptida). Peptidoglikan *Staphylococcus* memiliki ciri khas berukuran panjang, berupa struktur anyaman (cross linkage) dengan rantai samping pentaglisin yang fleksibel. Peptidoglikan ini menjadi target antimikroba betalaktam. Resistensi terjadi karena produksi enzim betalaktamase seperti pada galur *S. aureus producing betalactamases* dan perubahan pada struktur PBP

seperti yang terjadi pada *MRSA*. PBP 1, 2 dan 3 memiliki aktifitas transpeptidase primer sedangkan PBP 4 memiliki aktifitas transpeptidase sekunder. Reaksi lain dalam pembentukan peptidoglikan adalah transglukosilasi yang tidak berhubungan dengan *penicillin binding activity* (tidak berhubungan dengan reseptor penisilin). PBP 2 memiliki aktifitas unik yaitu selain sebagai enzim transpeptidase ternyata juga memiliki aktifitas transglukosilase. Afinitas PBP 2a yang sangat rendah terhadap beta laktam mengakibatkan antimikroba ini tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidasi. Selain itu karena aktifitas transglukosilasi PBP 2a sama sekali tidak terpengaruh oleh beta laktam maka diduga resistensi *MRSA* juga ditentukan oleh keutuhan fungsi transglukosilasi dari PBP 2a ini^(3,4).



Gambar 4. Skematik pembentukan galur resisten beta laktam karena *S. aureus* memproduksi enzim penisilinase (betalaktamase) dan karena terjadi perubahan pada PBP seperti yang terjadi pada *MRSA*.

Ekspresi gen *mecA* dikendalikan oleh gen regulator *mecR1* dan *mecI*. Pada keadaan tidak terinduksi/tidak ada induser maka *mecI* akan menekan transkripsi *mecA* dan *mecR1-mecI* (*mec complex*), sebaliknya bila ada induser atau terinduksi maka akan terjadi transkripsi pada *mec complex*. Sejauh ini baru metisilin dan antimikroba beta laktam lainnya yang diketahui merupakan induser. Selain oleh induser, induksi *mecI* juga dapat terjadi karena autokatalitik oleh protease pada membran sel dan mutasi pada kromosom yang belum diketahui secara persis. Autokatalitik pada regulator penisilinase *blaI* juga diperkirakan dapat mengaktifkan *mecA*, karena sekuen *blaI* dengan *mecI* memiliki homologi yang tinggi⁽⁴⁾.

Beberapa riset mutakhir memperlihatkan adanya mutasi pada gen-gen tertentu yang dapat meningkatkan atau mengurangi derajat resistensi *MRSA*. Regulator *mec complex* sering terpotong dan menjadi tidak aktif karena insersi *IS431* atau *IS1272*, tetapi bukti lain menyebutkan bahwa insersi elemen tersebut justru meningkatkan ekspresi resistensi *MRSA*. Keberadaan suatu elemen pada kromosom yang disebut *chr** diduga dapat meningkatkan derajat resistensi. Demikian pula keberadaan gen *hmrA* dan *hmrB* (high methicillin resistance) secara *in vitro* terbukti meningkatkan derajat resistensi. Pertumbuhan dan pembelahan *S. aureus* memerlukan pembentukan dinding sel baru dan pemisahan dari dinding sel lama melalui pembentukan septum. Pembentukan septum ini dikatalisa oleh suatu enzim autolitik. Antimikroba beta laktam bekerja menggagalkan pembentukan dinding sel dengan cara menghambat pembentukan anyaman (*cross linking*) peptidoglikan sehingga akhirnya sel akan lisis. Beta laktam juga dapat menggagalkan proses awal pembentukan septum dengan cara menghambat kerja enzim autolitik. Populasi *MRSA* dengan derajat resistensi tinggi mengalami inaktivasi pada gen *lytH* yang menyandi enzim autolitik. Hal ini mengindikasikan bahwa kehilangan aktifitas autolitik dapat meningkatkan derajat resistensi⁽⁵⁾.

Transposable element (transposon) yang disebut *fem* (factor essential for methicillin resistance) atau *aux factor* pada *SCCmec* dapat mengurangi derajat resistensi dengan cara mengganggu pembentukan prekursor peptidoglikan atau mempengaruhi komposisi peptidoglikan. Gen *mecA* atau produksi PBP 2a sama sekali tidak terpengaruh oleh *fem*. Inaktivasi atau mutasi pada transposon lainnya seperti *Tn551*, *glmM* atau *femD*, *glnR* atau *femC*, *femA*, *femB*, *fnhB*, *fntA*, *fntB*, *fntC* dsb juga berpengaruh secara langsung atau tidak langsung terhadap pembentukan peptidoglikan. Hubungan antara pembentukan biofilm dengan resistensi *MRSA* diselidiki pada *S. epidermidis* resisten metisilin. Kesimpulan yang didapat adalah keberadaan atau kehilangan biofilm dapat meningkatkan atau mengurangi derajat resistensi. Apakah mekanisme ini juga terjadi pada *S. aureus* belum diketahui dengan pasti⁽⁵⁾.

Secara fenotipik resistensi *MRSA* bersifat heterogen artinya dalam satu biakan, nilai *minimal inhibitory concentration* (MIC) sangat bervariasi tergantung

tipe *SCCmec* yang dikandungnya. Ekspresi resistensi *MRSA* juga dipengaruhi konsentrasi paparan beta laktam. Pada kondisi terdapat beta laktam maka nilai MIC akan mendekati nilai sensitif. Syarat mutlak resistensi *MRSA* adalah adanya PBP 2a meskipun dalam jumlah minimal, tetapi ternyata peningkatan produksi PBP 2a tidak berkorelasi dengan homogenitas resistensi. Sepasang galur *MRSA* dengan *mecA* yang sama dan produksi PBP 2a yang juga sama tinggi ternyata menghasilkan ekspresi resistensi yang berbeda. Faktor genetik lain seperti gen beta laktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, osmolaritas, kandungan ion, tekanan oksigen dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi⁽⁴⁾.

Beberapa uji *in vitro* memperlihatkan adanya fenomena resistensi yang dimediasi oleh elemen genetik non *SCCmec* yang belum diketahui. Resistensi pada galur yang disebut *borderline resistant S. aureus* (BORSA) terjadi secara intrinsik karena seleksi oleh metisilin. Para peneliti tidak tertarik untuk mengeksplorasi lebih lanjut karena galur ini tidak bermakna secara klinis⁽⁵⁾.

3.2. Resistensi Terhadap Antimikroba Non Beta Laktam

Salah satu antimikroba yang digunakan untuk mengatasi problem *MRSA* adalah quinolon. *MRSA* pada awalnya sangat peka terhadap quinolon tetapi kemudian secara bertahap terjadi resistensi. Resistensi ini terjadi dengan dua cara yaitu mutasi pada gen *gyrA* yang menyebabkan kegagalan formasi *supercoiling* kromosom dan *active efflux* yaitu pengeluaran obat secara aktif segera setelah obat tersebut masuk ke dalam sel bakteri. Gen yang menyandi protein pompa (*efflux*) ini adalah gen *norA* yang berlokasi di kromosom⁽⁶⁾.

Resistensi *MRSA* terhadap kelompok makrolida ditentukan oleh adanya gen *ermA* yang terkait dengan Tn554 yang terdapat pada *SCCmec*. Ekspresi gen ini akan mengubah molekul target dari antimikroba makrolida tersebut. Selain melalui *ermA*, resistensi *MRSA* terhadap makrolida juga diperantarai oleh *active efflux* yang dikendalikan gen *msrA*⁽⁷⁾.

Resistensi *MRSA* terhadap tetrasiklin terjadi melalui mekanisme *efflux* yang dikendalikan gen *tetA* dan *tetB* dan proteksi ribosom oleh protein TetM, TetO, TetS dsb yang akan melekat pada ribosom sehingga tetrasiklin akan terlepas dari ribosom dan menjadi tidak aktif⁽⁸⁾. Terhadap rifampisin, resistensi

MRSA terjadi bila ada mutasi pada gen *rpoB* sehingga terjadi perubahan struktur RNA polimerase subunit β yang mengakibatkan penurunan afinitas target obat tersebut terhadap rifampisin⁽⁹⁾.

Mutasi pada gen *fusA* dapat mengakibatkan penurunan afinitas reseptor terhadap asam fusidat sehingga resistensi terjadi. Selain itu, resistensi terhadap asam fusidat juga dapat terjadi karena pengeluaran asam fusidat dari sel akibat protein yang disandi plasmid pUB101 memiliki efek meningkatkan permeabilitas membran sel⁽⁴⁾. Pengubahan target obat (*modifying enzyme*) juga terjadi pada *MRSA* yang resisten terhadap aminoglikosida seperti gentamisin, tobramisin dan kanamisin. Beberapa gen yang berperan dalam hal ini seperti *aac6'* dan *ant4'*. Gen-gen ini dapat berinteraksi dengan komponen genetik kromosomal maupun ekstrakromosom (plasmid)⁽⁴⁾. Resistensi *MRSA* terhadap kotrimoksazol terjadi karena adanya insersi Tn4003 yang akan menginterferensi fungsi enzim DHPS dan DHFR dalam biosintesa asam folat⁽¹⁰⁾.

Antimikroba baru kelompok streptogramin yaitu quinupristin-dalfopristin digunakan untuk mengobati infeksi *MRSA* berat misalnya pada pasien-pasien di ruang perawatan intensif (ICU). Saat ini telah ditemukan galur *MRSA* resisten quinupristin-dalfopristin yang didasari inaktivasi obat dan *active efflux*. Gen *vatA*, *vatB* dan *vatC* menyandi enzim asiltransferase yang akan menonaktifkan streptogramin, sedangkan *efflux* dikendalikan gen *vgaA*⁽¹¹⁾.

Sejauh ini obat terpilih (*drug of choice*) untuk mengatasi infeksi *MRSA* adalah vankomisin. Pada akhir era tahun 1990-an telah dilaporkan adanya galur resisten terhadap vankomisin yang dimediasi oleh gen *vanA*. Gen *vanA* ini diduga berasal dari kelompok bakteri enterokokus seperti *E. faecalis*⁽⁴⁾.

Antimikroba yang digunakan untuk mengatasi infeksi *MRSA* yang belum menimbulkan resistensi hingga saat ini adalah oksazolidinon (linezolid) dan ketolida (telitromisin) serta mupirosin topikal⁽⁹⁾.

Daftar Rujukan

1. Arai KK, Kondo N, Hori S, Suzuki ET, Hiramtsu K. 1996. Suppression of methicillin resistance in a *mecA* containing pre methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain is caused by *mecI* mediated repression of *pbp 2'* production. *Antimicrob Agents Chemother.* 40:2680-2685.
2. Parvez MA, Shibata H, Nakano T, Niimi S, Fujii N, Arakaki N, Higuti T. No relationship exists between PBP 2a amounts expressed in different MRSA strains obtained clinically and their beta-lactam MIC values. *J Med Invest.* 2008 Aug;55(3-4):246-53.
3. Memmi G, Filipe SR, Pinho MG, Fu Z, Cheung A. *Staphylococcus aureus* PBP4 is essential for beta-lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Nov;52(11):3955-66.
4. Horne KC, Howden BP, Grabsch EA, Graham M, Ward PB, Xie S, Mayall BC, Johnson PD, Grayson ML. Prospective comparison of the clinical impacts of heterogeneous vancomycin-intermediate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-susceptible MRSA. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Aug;53(8):3447-52.
5. Llarrull LI, Fisher JF, Mobashery S. Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and insights into new beta-lactams that meet the challenge. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Oct;53(10):4051-63.
6. Antignac A, Tomasz A. Reconstruction of the phenotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by replacement of the staphylococcal cassette chromosome *mec* with a plasmid-borne copy of *Staphylococcus sciuri* *pbpD* gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Feb;53(2):435-41.
7. Wong H, Louie L, Watt C, Sy E, Lo RY, Mulvey MR, Simor AE. Characterization of *ermA* in macrolide-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Aug;53(8):3602-3.
8. Kadlec K, Schwarz S. Identification of a novel trimethoprim resistance gene, *dfrK*, in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain and its physical linkage to the tetracycline resistance gene *tet(L)*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Feb;53(2):776-8.
9. Rohrer S, Bischoff M, Rossi J, and Bachi BB. 2003. Mechanisms of methicillin resistance, p 31-54. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
10. Schmitz FJ, Fluit AC, Hafner D, Beeck A, Perdikouli M, Boos M, Scheuring S, Verhoef J, Kohrer K, and Von Eiff C. 2000. Development of resistance to ciprofloxacin, rifampin and mupirocin in methicillin susceptible and resistant *S. aureus* isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 44: 3229-3231.
11. Gul HC, Kilic A, Guclu AU, Bedir O, Orhon M, Basustaoglu AC. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistant phenotypes and genotypes for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. *Pol J Microbiol.* 2008;57(4):307-12.

EVOLUSI DAN GENETIKA

4.1. Evolusi

Sejauh ini telah diidentifikasi 8 tipe *SCCmec* yang semuanya mengandung gen *conserved* dan utuh yaitu *mecA*. *SCCmec* tipe I memiliki ukuran 39 kb, tipe II 52 kb dan tipe III 67 kb ditemukan pada galur *MRSA* nosokomial sedangkan tipe IV - VIII ditemukan pada galur *MRSA* komunitas. Antara *SCCmec* I II dan III terdapat perbedaan pada jenis gen *ccrcomplex*. *SCCmec* tipe I yang dominan pada era tahun 1960-an hanya membawa determinan resistensi metisilin (*mec complex*) tanpa gen resisten tambahan sebagaimana pada *SCCmec* tipe IV. *SCCmec* tipe II dan III dominan pada tahun 1980-an. *SCCmec* IV yang ditemukan pada akhir tahun 1999 dengan ukuran antara 20.9 -24.3 kb (lebih pendek) diduga lebih *mobile* dibandingkan dengan *SCCmec* lainnya, sedangkan *SCCmec* V-VIII baru ditemukan setelah itu yang merupakan varian *SCCmec* IV ^(1,2,3).

Secara umum keempat macam *SCCmec* sangat bervariasi baik dalam ukuran maupun sekuen nukleotida. Beberapa gen/sekuen yang *conserved* dan sama ditemukan pada keempatnya yaitu sekuen pada bagian ujung *SCCmec* di dekat situs integrasi ke kromosom berupa *inverted repeat sequence*, gen rekombinase (*ccrA* dan *ccrB*) untuk integrasi dan eksisi dan gen *mecA* serta gen-gen disekitarnya. Selain membawa gen resisten terhadap berbagai antimikroba *SCCmec* juga mengandung gen lain yang terlibat dalam patogenesis seperti gen *pls* yang berfungsi mencegah perlekatan *S. aureus* ke protein inang sehingga memudahkan terjadinya bakteriemia dan gen *SCCcap1* yang menyandi toksin. Berdasarkan perbedaan kandungan basa guanin dan sitosin (*GC content*) pada *SCCmec* dan pada kromosom *S. aureus*, para ahli menduga bahwa *SCCmec* berasal dari spesies selain *S. aureus*. Bukti paling akurat menyatakan bahwa *SCCmec* berasal dari CoNS seperti *S. epidermidis* dan *S. haemolyticus* karena pada bakteri ini pun dapat ditemukan *SCCmec* yang dapat ditransfer secara *in vitro* maupun *in vivo*. Pakar lain berpendapat bahwa *SCCmec* berasal dari *Staphylococcus sciuri* karena terdapat bukti homologi sekuen asam nukleat lebih dari 80% antara *mecA* *MRSA* dengan gen *sscA* pada *S. sciuri* ^(4,5,6).

SCC*mec* terintegrasi kedalam kromosom pada posisi sekitar 15 bp sebelah hulu (*upstream*) dari *open reading frame orfX*. Integrasi dan eksisi SCC*mec* memerlukan peran gen *cassette chromosome recombinase ccrA* dan *ccrB*. Integrasi secara *in vitro* sudah dibuktikan dengan percobaan transfer SCC*mec* dari *S. epidermidis* ke *S. aureus*. Eksisi spontan meskipun jarang, dapat terjadi selama pembiakan atau karena penyimpanan (pendinginan) untuk waktu yang lama, secara *in vivo* pernah ditemukan eksisi SCC*mec* pada penderita infeksi MRSA⁽⁷⁾.

Seperti diketahui bahwa transfer materi genetik antar bakteri terjadi dengan tiga cara yaitu transformasi, transduksi dan konjugasi. Transformasi adalah perpindahan *naked DNA* dari bakteri mati ke bakteri hidup dan hanya berupa sekuen kecil (beberapa *base pair/bp* saja). Transduksi adalah transfer materi genetik yang diperantarai faga dan inipun memuat sekuen yang tidak terlalu besar misalnya transduksi gen penyandi toksin difteri. Konjugasi adalah transfer materi genetik yang paling lazim terjadi pada bakteri dan diperantarai plasmid, materi genetik yang dibawa biasanya berukuran cukup besar hingga beberapa kilo base (kb). Para ahli masih belum mengetahui dengan cara apa materi genetik sebesar SCC*mec* ini ditransfer, karena transfer secara transformasi tidak mungkin, secara konjugasi tidak mungkin karena konjugasi mensyaratkan bakteri satu galur dan memerlukan pili seks sedangkan *S. aureus* tidak memiliki pili seks. Kemungkinan dengan cara transduksi dapat terjadi tetapi sejauh ini belum ada bukti bahwa transduksi dapat membawa materi genetik sebesar SCC*mec* tersebut. Transfer bagian tertentu dari SCC*mec* seperti regulator *mecA*, gen resisten tambahan masih mungkin terjadi secara transduksi dan mungkin konjugasi⁽⁸⁾.

SCC*mec* diduga merupakan elemen genetik dengan fungsi biologi tertentu bukan sekedar pembawa gen *mecA*. Asumsi ini didasari dua temuan yaitu adanya SCC*mec* fungsional tanpa *mecA* pada *methicillin sensitive S. aureus* (MSSA) dan pada *Staphylococcus hominis*. Kedua galur ini peka terhadap beta laktam⁽⁹⁾.

Gen *mec complex* adalah kumpulan gen yang terdiri dari gen *mecA* gen regulatornya (gen *mecR1* dan gen *mecI*). Gen *mecI* menyandi suatu protein repressor transkripsi sedangkan gen *mecR1* menyandi protein transduksi sinyal.

Gen *mecR1* akan merespon keberadaan beta laktam di lingkungannya dan mengaktifkan domain metalloprotease sitoplasmik miliknya dengan cara *cleavage* autolitik. Metalloprotease aktif ini akan memotong protein repressor *mecI* dan memindahkannya ke regio operator gen *mecA* sehingga represi transkripsi berakhir dan dimulailah transkripsi gen *mecA* kemudian translasi protein PBP 2a. Sejauh ini telah ditemukan 4 macam gen *mec complex* yaitu kelas A berisi lengkap *mecA*, *mecI* dan *mecR1*. *S. aureus* yang mengandung gen *mec complex* kelas A tetapi tidak resisten terhadap metisilin disebut pre-MRSA. Bakteri ini tidak resisten karena adanya represi pada *mecI*. Represi *mecI* pada MRSA juga dapat terjadi bila *mecI* atau regio promoter *mecA* mengalami mutasi. Pada gen *mec complex* kelas B terjadi delesi *mecI* sempurna dan digantikan oleh IS1272. Pada *mec complex* kelas C dan D juga terjadi delesi *mecI* dan variasi potongan (*truncated*) *mecR1*. SCC*mec* tipe IV unik karena merupakan kombinasi *mec complex* kelas B dan gen *ccr complex* tipe 2. Masing-masing bagian pada *mec complex* dan juga gen-gen lain di dalam SCC*mec* memiliki peran dalam resistensi MRSA. Kebanyakan elemen tersebut terlibat dalam regulasi sintesa dinding sel dan sebagian lagi dalam ekspresi resistensi ⁽⁹⁾.

Asal-usul atau evolusi *mecA* menjadi kajian yang menarik dan belum tuntas hingga kini. Seperti disebutkan di atas bahwa *GC content* SCC*mec* sangat bervariasi dan berbeda dengan *GC content* kromosom *S. aureus*. Kenyataan ini menimbulkan spekulasi bahwa SCC*mec* berasal dari spesies selain *S. aureus*. Selain itu terbukti bahwa *mecA* tidak berasal dari *S. aureus* tetapi dari spesies lain. Sejauh ini sudah 13 spesies *Staphylococcus* teridentifikasi memiliki *mecA*. Salah satu hipotesa menyebutkan bahwa *mecA* berasal dari *Enterococcus hirae* yang mengandung *mecA* dan IS1272. Gen *mecA* dan IS1272 ini ditransfer dari *Enterococcus hirae* ke CoNS yaitu *Staphylococcus haemolyticus* atau *S. epidermidis* kemudian ditransfer ke *S. aureus*. Studi filogenetik menunjukkan bahwa *Staphylococcus sciuri* yaitu bakteri yang biasa menginfeksi hewan (kadang-kadang dapat menginfeksi manusia) merupakan spesies *Staphylococcus* tua yang kemungkinan menjadi asal gen *mecA*. Gen *mecA* pada *S. sciuri* juga menyandi PBP 2a yang homologinya mencapai 88% dengan PBP 2a MRSA. Selain itu secara *in vitro* terbukti bahwa paparan beta laktam terhadap *S. sciuri*

dapat menginduksi timbulnya resistensi dan ekspresi PBP 2a. Secara molekuler ditemukan mutasi pada -10 bp promoter *mecA* sehingga aktivitas transkripsi *mecA* pada *S. sciuri* meningkat. Transfer *mecA* dari *S. sciuri* ke *S. aureus* kemudian diinduksi dengan beta laktam menghasilkan resistensi yang identik dengan *S. sciuri* resisten metisilin^(10, 11).

Asal mula galur *MRSA* pun menjadi bahan kajian yang hingga kini masih kontroversi. Satu hipotesa menyebutkan *MRSA* terbentuk akibat transfer *SCCmec* secara klonal (integral) sedangkan hipotesa lainnya menyebutkan bahwa transfer *SCCmec* terjadi secara horizontal. Hipotesa pertama melahirkan *single clone theory* sedangkan hipotesa kedua melahirkan *multi clone theory*. Kedua teori ini masih berlaku hingga saat ini⁽¹²⁾.

Single clone theory diungkapkan oleh Lacey dan Grinsted tahun 1973 berdasarkan kesamaan fenotip sejumlah galur *MRSA* yang mereka teliti. Teori *single clone* atau monoklonal ini menyebutkan bahwa semua galur *MRSA* berasal dari satu sel progenitor sensitif metisilin (MSSA) yang mendapat sisipan *mecA* pada suatu waktu. Berdasarkan teori ini, semua sel *MRSA* baru merupakan hasil diseminasi klonal dari sel *MRSA* sebelumnya. Studi isolat *MRSA* dengan *restriction fragment length polymorphism* (RLFP) dan *southern blot analysis* pada *mecA* dan Tn554 menunjukkan bahwa dari 29 varian Tn544 semuanya berkorelasi dengan satu macam *mecA*. Disimpulkan bahwa sisipan *mecA* dan Tn554 adalah proses yang independen, asosiasi keduanya hanya dapat terjadi secara evolusi klonal dan bukan secara transfer horizontal. Berdasarkan data ini berarti *mecA* hanya didapat sekali waktu, variasi pada galur *MRSA* yang terjadi selanjutnya dikarenakan pengambilan dan *rearrangement* DNA dalam lokus *mecA*. Teori ini juga diperkuat data mutakhir tentang perbandingan profil MSSA dan *MRSA* yang diambil dari isolat tahun 1960-an yang menunjukkan bahwa keduanya memiliki pola antibiogram, tipe faga, PFGE, MLST dan gen penyandi protein A yang identik⁽¹³⁾.

Musser dan Kapur menggunakan metode *multilocus enzyme electrophoresis* untuk mengestimasi hubungan kromosomal diantara galur *MRSA* dari 4 benua yang dikoleksi sejak tahun 1961 hingga 1992 termasuk galur yang dianalisa para pengikut teori monoklonal. Diantara 254 isolat *MRSA* ditemukan

15 macam pola elektroforesis yang mengindikasikan adanya diversitas yang demikian tinggi dari galur tersebut. Demikian pula asosiasi *mecA* dengan tipe kromosom sangat beragam yang berarti tidak mungkin terjadi secara klonal yang sekedar mengalami *rearrangement*. Ribotyping dengan *pulse field gel electrophoresis* (PFGE) memperlihatkan setidaknya terdapat 5 macam genotip *MRSA* yang sangat variatif perbedaannya dan tidak mungkin berasal dari induk yang sama (tunggal). Sehingga tidak diragukan lagi bahwa transfer horizontal *mecA* dan gen-gen yang terkait dengannya terjadi pada populasi *S. aureus*. Kelemahan dari teori ini bahwa ternyata variasi *SCCmec* tidak seluas variasi *mecA*. Para penganut teori multiklonal berpendapat bahwa terbatasnya variasi *SCCmec* dapat dijelaskan dengan dua hal, pertama ukuran yang demikian besar (puluhan kb) dari *SCCmec* tidak memungkinkannya dengan mudah untuk ditransduksi. Alasan ini lemah karena terbukti ada varian *SCCmec* yang tidak terlalu besar pun tidak ditemukan pada *S. aureus*. Kemungkinan kedua bahwa transfer *mecA* terjadi dalam frekuensi tinggi tetapi jarang menghasilkan galur patogenik⁽¹⁴⁾.

Pembahasan tentang asal-usul *MRSA* semakin menarik dengan ditemukannya galur *MRSA* komunitas (*CAMRSA*). Galur ini berbeda dengan galur *MRSA* rumah sakit baik secara fenotip maupun genotip. *CAMRSA* hanya resisten terhadap golongan beta laktam. Berdasarkan analisa PFGE galur *CAMRSA* merupakan klon yang sama sekali tidak berkorelasi dengan galur *MRSA* rumah sakit. Ditemukannya tipe IV - VIII *SCCmec* pada *CAMRSA* menunjukkan bahwa *mecA* didapat dari komunitas. Akan tetapi temuan lain menyebutkan adanya kemiripan genotip *CAMRSA* dengan *MRSA* rumah sakit yang kemungkinan *mecA* didapat dari galur rumah sakit. Studi terkini memperlihatkan adanya variasi *SCCmec* tipe IV yang kemungkinan didasari transfer genetik secara horizontal⁽¹⁵⁾.

4.2 Genetika

Pada awalnya *MRSA* hanyalah merupakan problem lokal kemudian dengan cepat menjadi wabah yang menembus batas negara, benua bahkan

menjadi kasus global (pandemi). Penyebaran yang demikian cepat ini disebabkan penularan secara klonal antar pasien dan kunjungan (wisata) antar negara ⁽¹⁾.

Contoh tersebarnya *MRSA* secara nasional adalah data tentang *MRSA* di Polandia. Dalam rentang waktu antara tahun 1990-1996 terkumpul 158 isolat *MRSA* dari 18 rumah sakit. Isolat dibagi berdasarkan resistensi terhadap metisilin menjadi grup resisten homogen 97 isolat dan resisten heterogen 61 isolat. Analisa DNA dilakukan dengan PFGE menggunakan enzim *ClaI* kemudian dilanjutkan hibridisasi menggunakan probe spesifik terhadap *mecA* dan Tn554. Pada isolat homogen didapatkan tiga macam tipe PFGE masing-masing 75 isolat, 10 isolat dan 12 isolat. Pada isolat heterogen sekitar 51 isolat memiliki termasuk PFGE varian sedangkan 10 sisanya memiliki pola PFGE identik (satu klon). Berdasarkan studi ini jelas bahwa lebih dari setengah isolat memiliki kesamaan pola PFGE yang berarti *single clone* lebih dominan. Studi dengan hasil yang serupa juga ditemukan di Hungaria, Jerman, Denmark dan Inggris⁽¹⁾.

Penelitian yang dipusatkan di Belgia mengumpulkan 171 isolat dari Belgia dan 102 isolat dari Perancis, Jerman dan Belanda antara tahun 1981-1994. Pada studi ini ditemukan 32 tipe PFGE dimana 82% isolat dari Belgia dan 51% dari luar Belgia merupakan satu tipe PFGE. Empat tipe PFGE ditemukan di lebih satu negara tetapi tidak pada keempatnya yang disebarkan oleh pasien yang dirujuk ke salah satu rumah sakit di Belanda. Temuan ini sekali lagi mempertegas tentang penyebaran galur epidemik klonal yang diperantarai pasien. Tipe penyebaran secara klonal juga ditemukan di Spanyol. Klon *MRSA* dengan tipe PFGE yang sama dan dominan ditemukan di Eropa Timur disebut *Iberian clone*. Penyebaran *MRSA* secara klonal ini juga ditemukan di New York dan Jepang dimana sekitar 70% galur dari kedua tempat memiliki pola PFGE yang sama dan SCC*mec* yang identik. Tipe klon lainnya adalah *Brazilian clone* yang pada awalnya tersebar di Brazil tetapi kemudian ditemukan pula di Eropa. Penyebaran antar negara juga terjadi pada galur *MRSA* resisten vankomisin yang pertama kali dilaporkan di Jepang pada tahun 1997. Galur ini kemudian menyebar secara klonal ke berbagai negara. Antara tahun 1996-1998 di Amerika Serikat baik di perkotaan maupun pedesaan dilaporkan adanya galur *MRSA* komunitas yang mayoritas memiliki pola PFGE yang sama ⁽²⁾.

Berdasarkan uraian tersebut jelas bahwa sebagian tipe PFGE secara masif dapat menyebar antar rumah sakit, antar kota, antar negara bahkan antar benua dan menjadi kasus pandemi. Penyebarannya pun tidak terbatas di rumah sakit tetapi juga di komunitas. Sementara itu ditemukan pula beberapa tipe PFGE yang tersebar secara sporadik.

Informasi tentang distribusi genotip *MRSA* dapat diperoleh dengan mengetahui pola penyebaran *MRSA* dan struktur *SCCmec* yang ditemukan di berbagai area tersebut. *SCCmec* dapat dianalisa dengan berbagai metode molekuler seperti *southern blot* dan sekuensing, tetapi yang paling sering adalah dengan PFGE menggunakan enzim *ClaI* kemudian dilanjutkan hibridisasi menggunakan probe spesifik terhadap *mecA* dan *Tn554*. Gen *mecR1* dan *mecI* dapat dikarakterisasi dengan enzim *EcoR1* dan *HindIII*⁽³⁾.

Data pertama tentang sekuen lengkap *SCCmec* dipublikasi oleh grup Hiramatsu dari Jepang yang mengungkapkan bahwa *SCCmec S. aureus N315* memiliki panjang 51669 bp dan memiliki 27bp *inverted repeat* dan gen rekombinase *ccrA*, *ccrB*. Gen *mecA* berada di sebelah hilir gen *mecI* dan *mecR1* diapit (flanked) oleh *IS431*. Selain resisten terhadap metisilin galur N315 ini juga resisten terhadap spektinomisin dan makrolida (disandi *Tn554*), bleomisin dan aminoglikosida (disandi plasmid integral pUB110). *SCCmec* memiliki banyak *open reading frame* (orf) tetapi sebagian besar tidak fungsional karena mutasi dan delesi⁽⁴⁾.

Analisa *MRSA* dari seluruh dunia menggunakan *probe* turunan *SCCmec* galur N315 menunjukkan bahwa hampir semua isolat terbagi dalam tiga pola hibridisasi. Semua *integration site* isolat tersebut adalah *orfX* yang serupa dengan milik N315 (homologi 99%). Ditemukan ukuran *SCCmec* baru yaitu galur NCTC 10442 dengan 34364 bp dan galur NCTC 85/2082 dengan 66896 bp⁽⁴⁾.

Pada regio sekitar *mecA* yaitu *mec complex* ditemukan perbedaan yang diberi nama *mec complex* kelas A dan kelas B. *Mec complex* kelas A memiliki susunan *mecI-mecR1-mecA-IS431*. Sedangkan *mec complex* kelas B tidak memiliki *mecI* dan sebagian *mecR1* tetapi mendapat tambahan *insertion sequence* sehingga komposisinya *IS1272-ΔmecR1-mecA-IS431*. Organisasi *ccrA* dan *ccrB* (*ccr complex*) juga berbeda antara ketiga galur. Galur NCTC 10442 memiliki

SCC*mec* tipe I, N315 memiliki SCC*mec* tipe II dan NCTC 85/2082 memiliki SCC*mec* tipe III. Grup Hiramatsu juga menemukan SCC*mec* tipe IV pada CAMRSA dengan dua varian IVa dan IVb yang diisolasi dari galur Ca05 dan 8/6-3P. SCC*mec* tipe IVa memiliki panjang 24248 bp sedangkan tipe IVb 20920 bp, keduanya lebih pendek dari SCC*mec* tipe I-III dan memiliki *ccr complex* tipe 2 dan *mec complex* tipe B, tidak ada integrasi plasmid atau transposon, sehingga tampaknya SCC*mec* IV hanya membawa gen resisten metisilin dan gen rekombinase^(5,6).

Variasi intra SCC*mec* yang ditemukan pada berbagai galur di dunia ternyata lebih banyak dari yang digambarkan tersebut. Di Eropa dan Amerika beberapa isolat yang ditemukan sebelum tahun 1970 memperlihatkan ketiadaan *mecI* dan *mecR1*. Isolat yang ditemukan mulai dari tahun 1981 memiliki *mecI* dan *mecR1* lengkap sedangkan isolat yang diperoleh pada awal tahun 1990-an tidak memiliki *mecI* dan sebagian *mecR1*. Analisa tentang munculnya SCC*mec* menyebutkan bahwa tipe I muncul pada fase awal yaitu pada tahun 1960-an, tipe II pada akhir tahun 1970-an atau tahun 1980-an kemudian menyebar ke seluruh dunia, tipe III pada tahun 1980-an dan tipe IV pada tahun 1990-an. Para ahli pun telah menemukan bahwa bakteri kelompok CoNS juga memiliki SCC*mec* tipe I-IV meskipun temporer⁽⁷⁾.

Bagaimana mekanisme transfer genetik (integrasi dan insisi) SCC*mec* hingga kini masih belum jelas. Data yang ada menunjukkan bahwa secara *in vitro* dan *in vivo* SCC*mec* didapat dari CoNS, tetapi mengapa *S.aureus* harus menerima SCC*mec* dari CoNS dulu baru kemudian menjadi MRSA juga belum terjawab. Gen rekombinase *ccr complex* dan situs integrasi *orfX* telah diketahui, tetapi bagaimana dan kapan elemen ini berperan mengintegrasikan atau mengeluarkan SCC*mec* dari kromosom juga belum terjawab. Transfer genetik yang terjadi pada MRSA tampaknya jauh lebih rumit dibanding yang kita bayangkan (ketahui)⁽⁸⁾.

Kesimpulan yang dapat diambil dari gambaran di atas bahwa pada *S. aureus* resisten metisilin (MRSA) dapat ditemukan 1 diantara 4 macam SCC*mec*. Pada satu SCC*mec* dapat ditemukan variasi genetik yang mengindikasikan adanya pengaruh antimikroba yang menginduksinya. Masing-masing tipe SCC*mec* bertanggungjawab atau menjadi penentu pada suatu masa epidemi tertentu.

Segera setelah metisilin dipasarkan, muncul galur *MRSA* di Inggris dan Afrika pada tahun 1962. Sepuluh tahun kemudian telah terjadi wabah *MRSA* di negara-negara Eropa seperti Inggris, Denmark, Perancis, Polandia dan Swis. Pada saat yang sama juga ditemukan *MRSA* di Turki, India dan Australia. *MRSA* pertama kali dilaporkan di Amerika Serikat pada tahun 1968 dan menjadi wabah 10 tahun kemudian. Sebagian besar galur awal *MRSA* yang ditemukan di seluruh dunia menunjukkan fenomena multiresisten terhadap beta laktam, tetrasiklin, streptomisin, eritromisin, linkomisin, neomisin, tobramisin dan novobisin sedangkan sebagian kecil hanya resisten terhadap beta laktam. Selama kurun waktu tahun 1970-an prevalensi *MRSA* di Eropa menurun, hal ini kemungkinan disebabkan kebijakan pemakaian antimikroba terutama pengurangan penggunaan tetrasiklin dan diterapkannya standard higiene. Tetapi pada saat yang sama di Amerika Serikat dan Australia justru terjadi peningkatan prevalensi *MRSA* yang terus meningkat hingga tahun 1990-an⁽¹⁶⁾.

Data terkini menyebutkan bahwa rata-rata 30% *S. aureus* di Amerika, Eropa dan Australia adalah *MRSA*, sedangkan di Asia mencapai 50%. Variasi prevalensi antar negara demikian besar misalnya di Portugal prevalensi *MRSA* mencapai 50% sedangkan di Belanda dan negara-negara Skandinavia prevalensinya kurang dari 2%⁽¹⁷⁾.

Teori penyebaran monoklonal terutama didukung data dari fase awal wabah *MRSA* yaitu pada tahun 1960-an yang menunjukkan pola MLEE tunggal. Akan tetapi sebagian ahli mempertanyakan keabsahan teori ini karena hingga saat ini belum ditemukan progenitor MSSA yang dimaksud, bagaimana hubungan galur penyebab wabah antar negara secara genetik dan analisa tentang kemunculan *SCCmec* tipe I dan II. Pola MLEE 254 isolat dari 4 benua menunjukkan setidaknya terdapat 6 jalur filogenetik yang berarti terjadi penyebaran secara multiklonal. Analisa tentang waktu munculnya *SCCmec* I dan II juga menjadi bahan pertanyaan teori monoklonal⁽¹²⁾.

Data menyebutkan bahwa *SCCmec* I yang tidak memiliki *mecI* dan *mecR1* muncul pada tahun 1960 dan dominan hingga akhir tahun 1970-an. Pada tahun 1980-an muncul galur *SCCmec* dengan *mecI* dan *mecR1* lengkap dan juga galur *SCCmec* tanpa *mecI* dan sebagian *mecR1*. Sisipan dua gen sekaligus dan

delesi *mecI* serta sebagian *mecR1* sungguh sulit dijelaskan terjadi secara klonal. Kemungkinan yang ada bahwa kedua tipe SCC*mec* setidaknya diperoleh dalam dua waktu atau dari dua spesies berbeda sebagaimana diperlihatkan bahwa CoNS juga memiliki SCC*mec*. Pengambilan (akuisisi) SCC*mec* dalam dua waktu berbeda dan dari dua spesies yang berbeda disokong data varian *ribotyping*. Secara keseluruhan penyebaran secara multiklonal didukung data tentang variasi genetik *MRSA* antara berbagai benua, berbagai negara, dalam satu negara bahkan dalam satu wilayah dan juga data tentang CAM*MRSA* yang memiliki tipe SCC*mec* baru (tipe IV)⁽¹⁰⁾.

Daftar Pustaka

1. Hiramatsu K, Kondo N, Ito T. 1996. Genetic basis for molecular epidemiology of *MRSA*. *J Infect Chemother.* 2:117-129.
2. 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.
3. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Conly JM. Novel staphylococcal cassette chromosome *mec* type, tentatively designated type VIII, harboring class A *mec* and type 4 *ccr* gene complexes in a Canadian epidemic strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Feb;53(2):531-40.
4. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, and Hiramatsu K. 2001. Structural Comparison of Three Types of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Integrated in the Chromosome in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 45: 1323-1336.
5. Ma, X. X., T. Ito, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, P. Chongtrakool, S. Boyle-Vavra, R. S. Daum, and K. Hiramatsu. 2002. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 46:1147-1152.
6. Shang Wei Wu, Herminia de Lencastre, and Alexander Tomasz. 2001. Recruitment of the *mecA* Gene Homologue of *Staphylococcus sciuri* into a Resistance Determinant and Expression of the Resistant Phenotype in *Staphylococcus aureus* *J Bacteriol.* 183: 2417-2424.
7. Reischl U, Frick J, Hoermansdorfer S, Melzl H, Bollwein M, Linde HJ, Becker K, Köck R, Tuschak C, Busch U, Sing A. Single-nucleotide polymorphism in the SCC*mec*-orfX junction distinguishes between

- livestock-associated MRSA CC398 and human epidemic MRSA strains. *Euro Surveill.* ;14(49).
8. Fey P. D, Saïd-Salim B, Rupp M. E, Hinrichs S. H, Boxrud D. J, Davis C. C, Kreiswirth B. N, and Schlievert P. M. 2003. Comparative Molecular Analysis of Community- or Hospital-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Antimicrob Agents Chemother. 47: 196-203.
 9. Yuki Katayama, Fumihiko Takeuchi, Teruyo Ito, Xiao Xue Ma, Yoko Uimizutani, Ichizo Kobayashi, and Keiichi Hiramatsu. 2003. 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.* 185: 2711-2722.
 10. Enright, M. C., D. A. Robinson, G. Randle, E. J. Feil, H. Grundmann, and B. G. Spratt. 2002. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci. USA* 99:7687-7692
 11. Guardabassi L, O'Donoghue M, Moodley A, Ho J, Boost M. Novel lineage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Hong Kong. *Emerg Infect Dis.* 2009 Dec;15(12):1998-2000.
 12. Edward J. Feil, Jessica E. Cooper, Hajo Grundmann, D. Ashley Robinson, Mark C. Enright, Tony Berendt, Sharon J. Peacock, John Maynard Smith, Michael Murphy, Brian G. Spratt, Catrin E. Moore, and Nicholas P. J. Day. 2003. How Clonal Is *Staphylococcus aureus*? *J Bacteriol.* 185:3307-3316.
 13. Conceição T, Tavares A, Miragaia M, Hyde K, Aires-de-Sousa M, de Lencastre H. Prevalence and clonality of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the Atlantic Azores islands: predominance of SCCmec types IV, V and VI. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010 May;29(5):543-50.
 14. Li M, Diep BA, Villaruz AE, Braughton KR, Jiang X, DeLeo FR, Chambers HF, Lu Y, Otto M. Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Apr 7;106(14):5883-8.
 15. Nübel U, Roumagnac P, Feldkamp M, Song JH, Ko KS, Huang YC, Coombs G, Ip M, Westh H, Skov R, Struelens MJ, Goering RV, Strommenger B, Weller A, Witte W, Achtman M. Frequent emergence and limited geographic dispersal of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Sep 16;105(37):14130-5.
 16. Fluit AC, and Schmitz FJ. 2003. Population structure of MRSA, p 159-186. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
 17. Keiko Okuma, Kozue Iwakawa, John D. Turnidge, Warren B. Grubb, Jan M. Bell, Frances G. O'Brien, Geoffrey W. Coombs, John W. Pearman, Fred C. Tenover, Maria Kapi, Chuntima Tiensasitorn, Teruyo Ito, and Keiichi Hiramatsu. 2002. Dissemination of New Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in the Community. *J Clin Microbiol.* 40: 4289-4294.

PATOGENESIS INFEKSI

S. aureus merupakan contoh patogen yang sukses beradaptasi. Hal ini diperlihatkan dengan kemampuan mengkoloni dan mengambil atau mentransfer materi genetik yang membawa berbagai faktor virulensi. Faktor virulensi *S. aureus* dikelompokkan menjadi dua yaitu *surface associated factor* yang bertanggung jawab terhadap pengenalan reseptor, perlekatan dan penghindaran dari sistem imun. Faktor kedua adalah *secreted factor* yang dapat berinteraksi dengan zat/substansi milik inang (*host*) dan menyebabkan kerusakan jaringan. Sebagian mekanisme faktor virulen telah berhasil dijelaskan sedangkan sebagian lagi masih tetap menjadi misteri, yang pasti bahwa keseluruhan faktor virulen tersebut bekerja dalam suatu sistem jaringan (*network*) yang demikian kompleks. Pada bab ini akan dibicarakan patogenesis infeksi MRSA sebagai salah satu galur *S. aureus* dan hubungan factor resistensi MRSA dengan peningkatan virulensi⁽¹⁾.

Kemampuan *S. aureus* menimbulkan penyakit ditentukan kemampuannya menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung dan kemampuan untuk tumbuh serta menghindar dari imunitas inang. Faktor-faktor yang terlibat dalam patogenesis yang mengakibatkan kerusakan jaringan meliputi *surface associated factor*, *extracellular enzyme* dan toksin. Ketiga macam faktor ini terlibat dalam perlekatan, penetrasi dan degradasi jaringan serta toksisitas.

Kelompok protein permukaan bakteri memediasi perlekatan dengan permukaan sel inang atau dengan benda mati (*inert*) misalnya kateter. *S. aureus* memiliki sekelompok protein permukaan yang disebut *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules* (MSCRAMMS). Pada keadaan tertentu baik *in vitro* maupun *in vivo* anggota MSCRAMMS dapat saling menggantikan (*compensate*). Hampir semua protein permukaan *Staphylococcus* secara kovalen tertanam pada dinding sel dikatalisa enzim sortase A (*Srt A*). Galur *Srt A* mutan mengalami defektif protein permukaan dan mengalami pengurangan virulensi. Sortase jenis lainnya adalah *Srt B* yang berperan dalam regulasi zat besi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri^(2,3).

Protein A (*Spa*) merupakan protein permukaan *Staphylococcus* yang telah diketahui dengan rinci. *Spa* berperan dalam menghindari sistem imunitas alami

yang terjadi di awal infeksi pada saat jumlah bakteri masih sangat sedikit. Protein A terdiri dari 5 domain α heliks A, B, C, D, E masing-masing mengandung 60 asam amino dan masing-masing dapat berikatan dengan region Fc immunoglobulin G (IgG). Jadi bakteri akan dilapisi oleh IgG dan mengakibatkan hambatan fagositosis serta aktivasi opsonisasi *complement cascade*. Protein A dapat berperan sebagai penyerap (*sponge*) antibodi yaitu melenyapkan antibodi yang dapat membahayakan bakteri pada awal infeksi. Protein A dapat berikatan dengan platelet dan mengganggu fungsinya via reseptor gC1qR/p33 dan *von Willebrand factor*. Selain itu protein A dapat berikatan dengan bagian Fab antibodi menyebabkan ekspansi klonal dan stimulasi sel limfosit B untuk mengaktifkan sel limfosit Th1 dengan cara serupa dengan aksi superantigen pada sel T^(4,5).

S. aureus memproduksi dua macam *fibronectin binding protein (Fnb)* yaitu *FnbA* dan *FnbB* yang memediasi perlekatan *S. aureus* dengan fibronektin. *FnbA* juga dapat berikatan dengan fibrinogen. Gen yang menyandi *FnbA* dan *FnbB* adalah gen homolog pada lokus yang berlainan yang memiliki repeat region panjang sebagai penentu situs pengikatan. Fibronektin dan fibrinogen banyak terdapat pada permukaan sel inang yang berfungsi untuk penyembuhan luka dan menyerap berbagai zat asing seperti dari peralatan medis (kateter, prostetik dsb). *Fnb* memegang peran penting dalam invasi *S. aureus* ke jaringan subkutan atau melekat pada benda asing seperti kateter intravena. Kedua *Fnb* membentuk struktur tetramer kompleks dengan fibronektin dan $\alpha 5\beta 1$ integrin memediasi perlekatan dan invasi epitel, endotel dan fibroblas. Mediasi invasi oleh tetramer ini juga dibantu aktivitas tirosin kinase inang^(6,7).

S. aureus memiliki dua macam *fibrinogen binding protein* yang dikenal sebagai *clumping factor ClfA* dan *ClfB* karena dengan protein ini bakteri akan menggumpal jika berada dalam plasma darah. Secara struktur *ClfA* dan *ClfB* identik tetapi situs pengikatan terhadap molekul fibrinogen berbeda. *ClfA* lebih poten dan diekspresikan sepanjang pertumbuhan bakteri sedangkan *ClfB* hanya diekspresikan pasca fase eksponensial. *Clf* dapat pula mengikat biomateri yang terikat fibrinogen. *ClfA* juga dapat mengikat platelet dan menjadi competitor poten terhadap pengikatan dan agregasi platelet-fibrinogen. Proses ini berperan

pada patogenesis endokarditis. Pengikatan *ClfA* dengan fibrinogen dapat dihambat oleh ion Ca^{2+} (6,7).

Suatu *collagen binding protein* tunggal yang disebut *Can* telah diidentifikasi dari *S. aureus*, sebagai faktor virulen pada osteomielitis, keratitis dan artritis septik dengan cara berikatan secara langsung dengan kolagen. Kolagen juga dapat berikatan dengan fibronektin sehingga galur *S. aureus* yang memproduksi *Can* dapat berikatan dengan kolagen secara tidak langsung yaitu via *Fnb-fibronectin bridge* (6,7).

Selain protein yang telah disebutkan di atas, beberapa protein lainnya yang termasuk MSCRAMMS menjembatani ikatan dengan elastin, laminin, sialoprotein tulang, trmbospondin dan vitronektin. Suatu protein permukaan *S. aureus* yang disebut *Map* memiliki struktur homolog dengan MHC II dapat berikatan dengan berbagai peptide dan protein inang dan menghambat rekrutmen leukosit⁽⁸⁾.

Pembentukan biofilm membutuhkan dua macam syarat yaitu suatu adhesion yang memediasi perlekatan substrat dan *intracellular aggregation substance* yang berperan membentuk struktur *multilayer*. *S. aureus* membentuk biofilm dengan *Fnb* dan protein permukaan lain seperti *biofilm associated protein (Bap)* dan polisakarida adhesion (*PIA*) yang identik dengan yang dimiliki *S. epidermidis*. *PIA* disandi oleh *ica locus* (tetapi tidak termasuk faktor virulen) disintesa hanya pada waktu *S. aureus* telah mengikat protein yang melekat pada benda asing dalam tubuh pasien. *Bap* merupakan adhesion berukuran besar yang hanya diproduksi oleh *S. aureus* yang diisolasi dari sapi⁽⁸⁾.

Lebih dari 90% isolate *S. aureus* klinis membentuk kapsul sangat tipis kurang dari $0.05\mu\text{m}$ yang disebut mikrokapsul. Kadang-kadang bakteri ini mampu membentuk makrokapsul sehingga tampak mukoid dan tumbuh difus dalam agar darah (serum). Sejauh ini telah diketahui 11 serotipe mikrokapsul dan yang terpenting adalah serotipe 5 dan 8. Makrokapsul berperan mencegah fagositosis dan meningkatkan virulensi bakteri melalui ikatan dengan beberapa protein seperti *Can* dan faktor komplemen C3b. Peran mikrokapsul dalam patogenesis masih kontroversi. Sejauh ini baru diketahui bahwa mikrokapsul berperan pada pembentukan abses pada hewan dengan cara mengurangi adhesi

terhadap epitel dan mencegah perlekatan protein permukaan. Vaksin berbasis kapsul pada hewan coba telah terbukti mencegah infeksi *S. aureus* pada ginjal, pada manusia tengah dalam uji klinis⁽⁸⁾.

Diantara genus *Staphylococcus* hanya *S. aureus* (dan sebagian galur *S. intermedius*) yang memproduksi koagulase (*Coa*) dan secara praktis dapat digunakan untuk membedakan *S. aureus* dari spesies *Staphylococcus* lainnya. Koagulase termasuk protein sekretori meskipun sebagian berhubungan dengan dinding sel. Ujung N koagulase yang memiliki sekuen bervariasi mengikat protrombin membentuk stafilotrombin yang dapat mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin melalui mekanisme non proteolitik (aktivasi trombin secara fisiologis dengan cara proteolytic cleavage). Ujung C koagulase mengikat fibrinogen. Konversi fibrinogen menjadi fibrin penting bagi bakteri untuk meningkatkan pembentukan kantong abses dan membatasi rekrutmen sel imun atau membentuk lapisan pelindung fibrin disekitar bakteri. Peran koagulase dalam patogenesis belum jelas karena pada *S. aureus* yang tidak memiliki koagulase tidak mengalami kehilangan virulensi^(9,10).

Stafilokinase (*Sak*) adalah aktivator plasminogen dan trombolitik yang kuat (poten). Sebagaimana *Coa*, *Sak* bukanlah enzim melainkan aktivator plasminogen kuat yang membentuk rasio ikatan 1:1 dengan plasmin. *Sak* juga mengikat plasminogen tetapi kompleks ini ternyata tidak aktif. Berbeda dengan aktivator plasminogen Streptokokus (streptokinase), *Sak* hanya menimbulkan trombosis lokal karena kompleks *Sak*-plasmin dapat dihambat oleh $\alpha 2$ antiplasmin. Hal yang menarik bahwa kompleks *Sak*-plasmin-fibrin 100 kali kurang peka terhadap $\alpha 2$ antiplasmin dibandingkan dengan kompleks *Sak*-plasmin. *Coa* dan *Sak* diproduksi secara resiprok dimana *Coa* diproduksi pada awal siklus pertumbuhan sedangkan *Sak* diproduksi pasca fase eksponensial. Fenomena resiprokal ini kemungkinan digunakan oleh bakteri untuk mengatur tahap infeksi. Pada mencit yang kehilangan aktivator plasminogen yaitu urokinase akan memudahkan terjadinya infeksi *S. aureus* yang mengisyaratkan bahwa baik inang maupun faktor anti pembekuan (anti *clotting factor*) bakteri memegang peran penting pada patogenesis meskipun pada bakteri mutan tanpa *Coa* dan *Sak* tidak terjadi pengurangan virulensi⁽¹¹⁾.

S. aureus mampu memproduksi *extracellular evasion factor* yaitu protein yang disebut *chemotaxis inhibitory protein* (CHIP) yang mengganggu mobilisasi PMN dan mencegah aktivasi kaskade komplemen *C5a*. Protein ini disandi oleh faga. Kelompok protein *S. aureus* lainnya yang berfungsi untuk menghindar (*evasion*) dari imunitas inang adalah protease. Protease mampu mendegradasi matriks sehingga bakteri dapat menginvasi jaringan dan mampu mengubah protein inang menjadi asam amino untuk kebutuhan metabolismenya. Salah satu protease *S. aureus* yang terpenting adalah protease serin yang disebut *SspA* atau protease V8 yang mampu memotong asam glutamat. Protease bersifat letal bila berada intrasel karena itu didalam sel bakteri berupa proenzim inaktif yang akan diaktifkan setelah disekresi misalnya *SspA* diaktifkan oleh *zinc dependent endopeptidase*. *SspA* mampu memotong *Fbp* dan adhesi *Staphylococcus* lainnya sehingga mengakibatkan bakteri lepas dari perlekatan dan menyebar ke berbagai organ. Selain ini *SspA* mampu memotong rantai berat (*heavy chain*) semua jenis immunoglobulin sehingga menjadi inaktif⁽¹¹⁾.

S. aureus mampu memproduksi sedikitnya tiga esterase lipid dengan spesifisitas substrat yang berbeda dan juga *fatty acid esterifying enzyme* (FAME). Dua macam esterase lipid yang telah diketahui adalah *Geh lipase* yaitu suatu esterase serin yang dapat menghidrolisa rantai panjang trigliserol dan *Lip* yang mampu memotong rantai pendek trigliserol. Kerja esterase lipase ini adalah menghilangkan aktivitas bakterisidal dari lipase inang. Lipase penting untuk penyebaran dan nutrisi bakteri. Dua macam fosfolipase yang disekresi *S. aureus* adalah soingomielinase yang disebut hemolisin β (*Hib*) dan fosfatidil inositol yang disebut *Plc*. *Plc* mampu mendegradasi membran sel dan merusak protein membran sel sehingga fungsi adhesi dan penghantaran sinyal pada sel inang terganggu/rusak. Lebih dari 90% galur *S. aureus* memproduksi hialuronat liase (*HysA*) yang bekerja mendegradasi asam hialuronat inang. Selain itu *S. aureus* juga mampu memproduksi nuclease yang dapat mengkatalisa ujung 5' fosfodiester DNA atau RNA baik rantai tunggal maupun ganda⁽¹¹⁾.

Berbagai toksin juga disekresi oleh *S. aureus* seperti toksin alfa, beta dan gamma. Toksin alfa hemolisin (*Hla*) memiliki dua macam afinitas. *Hla* afinitas rendah dapat merusak liposome sedangkan *Hla* afinitas tinggi diduga mengganggu

fungsi membrane sel inang. Secara *in vitro* dan *in vivo* (hewan coba) terbukti bahwa Hla bersifat hemolitik, sitotoksik, dermonekrotik dan letal terhadap sel sehingga dapat mematikan sel eritrosit, epitel, endotel, platelet dan sel mononuklear. Efek letal ini diduga karena *Hla* merangsang prostaglandin dan atau leukotrin sehingga terjadi gangguan osmosis dan apoptosis^(1,11).

Hemolisin beta (*Hib*) adalah suatu spingomielinase yang dapat merusak membran berbagai jenis sel inang terutama eritrosit. Enzim ini disebut *hot-cold* karena akan berkerja dengan baik pada suhu 4°C setelah awalnya terpapar eritrosit pada suhu 37°C. Hemolisin delta (*Hld*) dapat merusak membran berbagai macam sel karena toksin ini memiliki surfaktan. Hemolisin gamma dan leukosidin (*Panton Valentin Leukocidin*) yang dapat melisis netrofil dan makrofag. ADP ribosiltransferase dapat merusak arsitektur sel dengan cara merusak sitoskeleton aktin^(1, 11).

S. aureus mampu memproduksi sejumlah besar eksotoksin yang disebut superantigen (*SAg*) yang dapat menimbulkan *toxic shock syndrome (TSS)*, *staphylococcal scarlet fever*, *exfoliative dermatitis* dan *food poisoning*. *SAg* adalah suatu mitogen sel limfosit T yang sangat kuat, berikatan dengan MHC II dan menstabilkan ikatan MHC II dengan CD4 T *cell receptor β chain* sehingga sel Th1 berproliferasi dan mensekresi berbagai interleukin dan sitokin seperti TBF dan IFN γ . Selanjutnya proses ini akan menghasilkan keadaan khas yang yaitu penyakit sistemik akut yang disebut TSS. Selain *overexpression* berbagai sitokin tersebut, *toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1)* berikatan dengan makrofag terutama sel Kuffper dihati, melumpuhkannya sehingga tidak mampu menghilangkan substansi asing terutama endotoksin Gram negatif. Gejala hipotensi pada TSS merupakan konsekuensi dari endotoksin. TSS terutama berhubungan dengan pemakaian tampon pada wanita menstruasi karena TSST-1 merupakan satu-satunya *SAg* yang mampu menembus membrane epitel yang utuh (intact). TSS ekstrasvaginal terutama keracunan makanan (*food poisoning*) disebabkan oleh *SAg* lainnya seperti enterotoksin A, b dan D. Keracunan makanan tidak terjadi karena aktivitas (fungsi) *SAg* melainkan karena interaksi struktur loop pada enterotoksin yang disebut *emesis loop* dengan ujung saraf parasimpatik pada saluran pencernaan. Hampir semua *SAg* diproduksi hanya oleh

S. aureus kecuali *exfoliative toxin* A dan B (*ETA* dan *ETB*) suatu protease sistein yang dapat merusak *dermal-epidermal junction*, diketahui juga diproduksi oleh *S. aureus*^(1,11).

S. aureus dikenal sangat efisien dalam invasi dan bertahan hidup (*survival*) dalam sel inang. Pada sel epitel, *S. aureus* dapat menghindari fagositosis dan menginduksi apoptosis dengan cara memproduksi protease. Kemampuan *survival* *S. aureus* ini diduga disebabkan peningkatan ekspresi protein permukaan sehingga terjadi peningkatan masuknya *S. aureus* ke dalam sel inang. *S. aureus* mengkodekan berbagai protein seperti protease, protein A, kapsul dsb untuk menghindari fagositosis. Keberadaan *S. aureus* intrasel dapat disebabkan karena berhasil menghindari imunitas inang atau karena invasi sebagaimana tersebut. *S. aureus* intra PMN dapat ditransmisikan ke individu sehat dan menimbulkan infeksi. Persisten intrasel disebabkan *S. aureus* mengalami mutasi yang mempengaruhi sistem transport elektron pada rantai pernafasannya sehingga bakteri ini tumbuh dengan lambat dan menjadi resisten terhadap aminoglikosida. Pada biakan, mutan *S. aureus* ini membentuk koloni yang disebut *small colony variant (SCV)*. Kemampuan *SCV* hidup persisten dalam sel inang seperti pada kasus osteomyelitis kronis disebabkan karena bakteri mewariskan gen resistensi tetapi tidak memiliki/kehilangan kemampuan memproduksi eksotoksin dan berbagai faktor virulen lainnya⁽¹²⁾.

Penyakit yang ditimbulkan oleh *S. aureus* kecuali intoksikasi, disebabkan oleh kerja berbagai faktor virulen (multifaktor), oleh karena itu regulasinya pun kompleks yaitu dalam hal pengaturan ekspresi gen yang menyandi berbagai faktor virulen tersebut. Regulasi faktor virulen *S. aureus* sejauh ini baru diketahui secara *in vitro*, oleh karena itu diasumsikan bahwa kejadian *in vivo* sama atau lebih rumit dibandingkan proses *in vitro*. Pada riset *in vitro* diperlihatkan bahwa kebanyakan gen yang menyandi faktor virulen protein permukaan akan berekspresi pada tahap awal fase eksponensial dan berhenti pada fase mid eksponensial sedangkan kebanyakan gen yang menyandi protein yang disekresi akan berekspresi selama fase pascaeksponensial. Ekspresi protein permukaan pada fase awal dimaksudkan agar *S. aureus* sukses dalam perlekatan, invasi dan menghindari dari imunitas sedangkan ekspresi protein sekretoris pada tahap

berikutnya diperlukan untuk penyebaran, akuisisi nutrisi dan mematikan fagosit⁽¹²⁾.

Regulasi ekspresi yang bersifat temporal ini dikendalikan oleh *agr locus* yang menyandi *quorum sensing signal transduction* yang diaktivasi oleh *agr-encoded autoinducing peptide (AIP)* yaitu suatu ligan reseptor sistem sinyal. *Agr* mengendalikan transkripsi gen penyandi faktor virulen dan secara independen juga diketahui mengatur translasi toksin alfa dan protein A. *Agr* akan menurunkan/menghentikan (*downregulate*) gen penyandi protein permukaan pada fase mid eksponensial dan menimbulkan/meningkatkan (*up regulate*) gen penyandi protein sekretoris pascaeksponensial. Bagaimana mekanisme pengaturan ini berlangsung belum diketahui. Berbagai faktor transkripsi, mediator dan faktor lingkungan seperti temperatur, oksigen, karbon dioksida dsb diperkirakan terlibat dalam mekanisme regulasi ini. Gen pembawa faktor virulen dikenal dengan sebutan *staphylococcal virulon*. Gen-gen ini terbagi menjadi dua kelompok yaitu yang berada di kromosom dan yang berupa *variable genetic elemen* yang dibawa plasmid, faga atau *insertion sequence* yang umumnya bersifat *mobile*⁽¹²⁾.

Telah diketahui bahwa PBP 2a merupakan protein yang mendasari resistensi MRSA. Resistensi yang hanya disebabkan PBP 2a umumnya moderat-bakteri berhasil membuat dinding sel meskipun tidak seluruhnya sebagaimana dinding sel normal. Bila ditemukan mutasi tambahan pada gen *fem* maka resistensi akan bersifat berat karena gen ini mampu mempengaruhi berbagai tahap sintesa peptidoglikan. Sejauh ini gen *mecA* menyandi PBP 2a dan gen *fem* tidak terbukti mempengaruhi (menaikkan atau menurunkan) aktivitas faktor virulen demikian pula *SCCmec*. Pendapat ini mulai bergeser sejak ditemukan CAMRSA dimana bakteri ini menyandi *Panton Velentine leukocidin (PVL)* yang merupakan faktor virulen yang menyebabkan *necrotizing pneumonia fulminant* yang bersifat fatal (mematikan). Gen *mecA* dan gen penyandi *PVL* terdapat di segmen *SCCmec* dan ekspresinya dalam mempengaruhi patogenesis/virulensi diperkirakan dikendalikan *agr* grup III^(11,12).

S. aureus diketahui memodulasi ekspresi faktor virulen selama terpapar antimikroba pada dosis *subinhibitory*. Pada percobaan hewan terbukti inhibitor

ribosom dan girase (antimikroba) dapat menekan ekspresi protein sekretori sehingga memperingan penyakit. Antimikroba yang bekerja pada dinding sel seperti beta laktam dan glikopeptida ternyata merangsang sintesa protein sekretoris tetapi meningkatkan produksinya dan tidak merangsang atau tidak memiliki pengaruh terhadap sintesa/ekspresi protein permukaan. Peningkatan virulensi MRSA pada pasien yang mendapat beta laktam diperkirakan salah satunya disebabkan bakteri terpapar antimikroba tersebut dalam kadar *subinhibitory*. Peningkatan virulensi ini tidak diatur oleh agr tetapi oleh *sigma factor* σ^B . Secara alami paparan kadar antimikroba dalam dosis *subinhibitory* terjadi di tanah dimana bakteri harus bertahan hidup dari berbagai zat termasuk antimikroba. Secara *in vivo* pada pasien terinfeksi *S. aureus*, kadar *subinhibitory* terjadi pada keadaan terbentuknya biofilm yang mengkoloni alat medis misalnya kateter, pembentukan kapsul dan pembentukan abses⁽¹¹⁾.

Pembahasan yang belum tuntas hingga kini adalah apakah *S. aureus* merupakan patogen murni atau pathogen oportunist? Berbagai data memperlihatkan bahwa *S. aureus* mampu menimbulkan berbagai penyakit mulai dari infeksi superfisial hingga sepsis. Di lain pihak terdapat bukti bahwa kolonisasi temporer *S. aureus* pada rongga hidung orang sehat mencapai angka 30-90% dari populasi. Kolonisasi orang sehat (*carrier*) ini sangat cocok dengan pola penyebaran MRSA dimana penularan sering terjadi oleh *carrier* di rumah sakit misalnya perawat. Bagaimana *S. aureus* termasuk MRSA dapat menghindari dari imunitas alami dan dari imunitas lokal di mukosa hidung serta faktor apa yang memicu bakteri tersebut menginvasi ke jaringan yang lebih dalam sehingga menimbulkan infeksi belum diketahui dengan pasti. Sejauh ini baru diketahui bahwa kerusakan mukosa dan penurunan daya tahan (imunitas) inang serta ketersediaan nutrisi yang melimpah pada jaringan yang lebih dalam, diduga menjadi faktor yang melandasi bakteri *carrier* ini menimbulkan infeksi. Pada orang-orang dengan kondisi tertentu seperti pengguna obat intravena dan pasien diabetes, umumnya infeksi berasal dari kolonisasi pada orang tersebut ketika masih sehat⁽¹³⁾.

Isu lain yang masih menjadi misteri tentang hubungan MRSA dengan patogenesis adalah apakah *SCCmec* diakuisisi oleh galur yang secara intrinsik

(bawaan) lebih virulen atau kurang virulen dibandingkan galur yang tidak mendapat *SCCmec*. Data menunjukkan bahwa galur MSSA yang mengambil (akuisisi) *SCCmec* dan menjadi galur MRSA akan menjadi lebih virulen, tetapi data lain sebagaimana dibahas di atas menyebutkan bahwa *SCCmec* tidak mempengaruhi virulensi. Sejauh ini belum ada riset yang mampu menjawab apakah *SCCmec* benar-benar berpengaruh terhadap virulensi⁽¹⁴⁾.

Daftar Pustaka

1. Wright III JS, and Novick RP. 2003. Virulence mechanisms in *MRSA* pathogenesis, p 213-252. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
2. Plata K, Rosato AE, Wegrzyn G. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochim Pol*. 2009;56(4):597-612.
3. Crawford SE, David MZ, Glikman D, King KJ, Boyle-Vavra S, Daum RS. Clinical importance of purulence in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. *J Am Board Fam Med*. 2009 Nov-Dec;22(6):647-54.
4. Sila J, Sauer P, Kolar M. Comparison of the prevalence of genes coding for enterotoxins, exfoliatins, panton-valentine leukocidin and *tsst-1* between methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus* at the university hospital in Olomouc. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2009 Sep;153(3):215-8.
5. Argudín MA, Mendoza MC, Méndez FJ, Martín MC, Guerra B, Rodicio MR. Clonal complexes and diversity of exotoxin gene profiles in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from patients in a Spanish hospital. *J Clin Microbiol*. 2009 Jul;47(7):2097-105.
6. O'Neill E, Humphreys H, O'Gara JP. Carriage of both the *fnbA* and *fnbB* genes and growth at 37 degrees C promote FnBP-mediated biofilm development in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Med Microbiol*. 2009 Apr;58(Pt 4):399-402.
7. Nagao M, Okamoto A, Yamada K, Hasegawa T, Hasegawa Y, Ohta M. Variations in amount of TSST-1 produced by clinical methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates and allelic variation in accessory gene regulator (*agr*) locus. *BMC Microbiol*. 2009 Mar 10;9:52.
8. Montgomery CP, Daum RS. Transcription of inflammatory genes in the lung after infection with community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a role for panton-valentine leukocidin? *Infect Immun*. 2009 May;77(5):2159-67.

9. DeLeo FR, Diep BA, Otto M. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2009 Mar;23(1):17-34.
10. Loughman JA, Fritz SA, Storch GA, Hunstad DA. Virulence gene expression in human community-acquired *Staphylococcus aureus* infection. *J Infect Dis*. 2009 Feb 1;199(3):294-301.
11. Nakaminami H, Noguchi N, Ikeda M, Hasui M, Sato M, Yamamoto S, Yoshida T, Asano T, Senoue M, Sasatsu M. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibilities of 273 exfoliative toxin-encoding-gene-positive *Staphylococcus aureus* isolates from patients with impetigo in Japan. *J Med Microbiol*. 2008 Oct;57(Pt 10):1251-8.
12. Karauzum H, Ferry T, de Bentzmann S, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Schmalzer M, Berger-Bächi B, Etienne J, Landmann R. Comparison of adhesion and virulence of two predominant hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones and clonal methicillin-susceptible *S. aureus* isolates. *Infect Immun*. 2008 Nov;76(11):5133-8.
13. Hu DL, Omoe K, Inoue F, Kasai T, Yasujima M, Shinagawa K, Nakane A. Comparative prevalence of superantigenic toxin genes in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *J Med Microbiol*. 2008 Sep;57(Pt 9):1106-12.
14. Sauer P, Síla J, Stosová T, Vecerová R, Hejnar P, Vágnerová I, Kolár M, Raclavský V, Petrzalová J, Lovecková Y, Koukalová D. Prevalence of genes encoding extracellular virulence factors among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the University Hospital, Olomouc, Czech Republic. *J Med Microbiol*. 2008 Apr;57(Pt 4):403-10.

TERAPI DAN PENCEGAHAN INFEKSI

6.1. Antimikroba Untuk Terapi *MRSA*

Hingga kini belum ada terapi infeksi *MRSA* yang benar-benar efektif. Glikopeptida vankomisin yang merupakan *drug of choice* untuk infeksi *MRSA* ternyata memiliki efek bakterisidal yang lambat dan sering menimbulkan kegagalan terapi. Masalah menjadi semakin rumit dengan ditemukannya galur *MRSA* yang menurun kepekaannya terhadap vankomisin dan *MRSA* yang resisten vankomisin. Antimikroba lain seperti asam fusidat, rifampin, fosfomisin, quinolon dan trimetoprim-sulfametoksazol memiliki kemanjuran yang lebih rendah dibandingkan dengan vankomisin. Juga telah terbukti adanya galur *MRSA* yang resisten terhadap antimikroba tersebut. Antimikroba baru sebagai alternatif terapi infeksi *MRSA* adalah streptogramin, oksazolidinon, daptomisin, glisilsiklin, oritavansin dan peptida. Selain itu direkomendasikan pula terapi infeksi *MRSA* dengan antimikroba kombinasi⁽¹⁾.

MRSA merupakan galur multiresisten (*multidrug resistant*) yaitu bakteri yang resisten terhadap lebih dari satu golongan antimikroba yaitu golongan beta laktam dan golongan lainnya. Suatu surveilans tentang galur resisten *MRSA* menunjukkan bahwa di wilayah Amerika Latin, *MRSA* resisten terhadap 6 golongan antimikroba, di Amerika Serikat dan Kanada terhadap 3 golongan antimikroba. Selain terhadap beta laktam, resistensi tertinggi terjadi terhadap eritromisin (95%) dan klindamisin (88%). Di semua wilayah tersebut secara umum vankomisin masih peka (efektif)⁽²⁾.

Glikopeptida vankomisin dan teikoplanin masih merupakan obat pilihan (*drug of choice*) untuk terapi infeksi *MRSA*. Glikopeptida adalah molekul berukuran besar yang bekerja menghambat tahap akhir sintesa peptidoglikan dan anyamannya (*cross linked*). Galur *MRSA* yang menurun kepekaannya terhadap glikopeptida pertama kali dilaporkan di Jepang pada tahun 1996 dan kemudian juga di negara-negara lain termasuk adanya galur *MRSA* resisten glikopeptida. Secara umum diketahui bahwa glikopeptida mencegah reaksi transglikosilasi dan transpeptidasi sehingga terjadi kegagalan sintesa dinding sel. Terdapat dua macam target pengikatan pada dinding sel *S. aureus* yaitu residu D-alanil-D-

alanin pada lapisan peptidoglikan dan monomer murein pada membran sitoplasma yang menjadi substrat untuk reaksi glikosiltransferase. Ikatan glikopeptida pada D-alanil-D-alanin tidak menghambat sintesa peptidoglikan tetapi hanya mengganggu formasi *cross bridge* yang dimediasi PBP. Ikatan glikopeptida pada murein menyebabkan hambatan total sintesa peptidoglikan sehingga sel menjadi ruptur dan mati. Untuk dapat mencapai target murein tersebut, molekul glikopeptida harus mampu menembus sekitar 20 lapis peptidoglikan, jika terjebak pada target pertama yaitu D-alanil-D-alanin maka obat ini tidak akan efektif⁽³⁾.

Vankomisin adalah prototipe glikopeptida yang disisolasi pertama kali pada tahun 1956 dari jamur golongan *Actinoycetes* yaitu *Streptomyces orientalis* dari sample tanah di Kalimantan. Zat ini mulai dipakai sebagai antimikroba pada tahun 1958 dan terus meningkat penggunaannya setelah menyebarnya *MRSA*. Secara *in vitro*, vankomisin aktif terhadap bakteri Gram positif aerob dan bakteri anaerob seperti *Staphylococcus*, streptokokus, enterokokus, *Clostridium spp* dan *Corynebacterium spp*. Menurut NCCLS, vankomisin dikatakan peka/aktif terhadap *Staphylococcus* bila mampu mematikan pada konsentrasi 4µg/mL, intermediat antara 8-16 µg/mL dan resisten pada konsentrasi 32 µg/mL. Vankomisin bersifat *slow bactericidal* terhadap *S. aureus* dan *S. epidermidis*. Secara *in vitro* juga dilaporkan adanya efek sinergi pada campuran vankomisin dengan aminoglikosida terhadap *S. aureus*. Sedangkan campuran vankomisin dengan rifampin masih diragukan efektivitasnya karena beberapa studi memperlihatkan hasil antagonistik. Vankomisin merupakan obat pilihan infeksi *MRSA* seperti bakteremia, endokarditis, pneumonia dan komplikasi pascabedah⁽³⁾.

Vankomisin hanya dapat diberikan secara intravena, tidak dapat diberikan secara intramuskuler (IM) karena akan menimbulkan nyeri dan absorpsi yang buruk, juga tidak dapat digunakan per oral karena sangat buruk absorpsinya pada saluran pencernaan. Satu-satunya penggunaan oral adalah untuk terapi *clostridial enterocolitis*. Vankomisin tidak mengalami modifikasi pada metabolisme hati dan dikeluarkan melalui ginjal dalam bentuk aktif. Waktu paruhnya antara 6-8 jam pada pasien dengan fungsi ginjal normal. Vankomisin berada dalam konsentrasi

tinggi dan mencapai level terapi di darah, pleura, perikardial, sinovial dan cairan asites tetapi tidak dapat mencapai kadar terapi di cairan serebrospinal dan di *vitreous* serta *aqueous humor* di mata. Sebagaimana beta laktam, aktivitas antibakteri vankomisin bersifat *time dependent* oleh karena itu harus dipertahankan konsentrasi di atas nilai MIC. Aktivitas vankomisin masih berlangsung selama 2 jam setelah konsentrasi di bawah nilai MIC karena pengaruh *post antibiotic effect* ⁽³⁾.

Dosis vankomisin pada pasien dengan fungsi ginjal yang normal adalah 15 mg/kg berat badan (BB) selama 12 jam atau 8 mg/ kgBB selama 6-8 jam. Pada fungsi ginjal yang tidak normal, pada luka bakar, kelebihan cairan atau obesitas penambahan/pengurangan dosis dapat dilakukan. Kadar puncak dan konsentrasi dalam serum harus terus dipantau untuk mencapai dosis efektif dan untuk menghindari ototoksisitas dan nefrotoksisitas. Umumnya kadar puncak sekitar 20-40 µg/mL dicapai 1 jam setelah infus selesai, kadar efektif di serum sekitar 5-10 µg/mL. Untuk mengurangi toksisitas dilakukan pembuatan sediaan vankomisin dengan *high pressure liquid chromatography* tetapi tetap tidak mengurangi efek alergeniknya. Efek samping yang paling sering timbul adalah demam, menggigil, dan plebitis pada tempat tempat infus yang sering dikenal dengan sebutan *red man* karena lepasnya histamin. Efek ini berkurang bila infus diperlambat dengan volume lebih besar. Obat yang digunakan pada tahun 1960-an sebelum dimurnikan dengan kromatografi sering menimbulkan nefrotoksisitas dan ototoksisitas tetapi saat ini dengan sediaan baru kedua efek tersebut sangat jarang terjadi. Kombinasi dengan aminoglikosida dapat meningkatkan toksisitas vankomisin ⁽³⁾.

Teikoplanin adalah glikopeptida yang diproduksi oleh *Actinoplanes teichomyceticus*, aktif terhadap Gram positif termasuk *MRSA*. Teikoplanin kurang alergenik, tidak membutuhkan monitoring ketat dan lebih mudah diberikan dibandingkan vankomisin. Di Amerika Serikat obat ini tidak disetujui *Food and Drug Administration* (FDA) sedangkan di Eropa obat ini digunakan secara luas. Spektrum antibakterinya sama dengan vankomisin dengan kadar penghambatan 0.025-3.1 mg/L. Secara *in vitro* juga terbukti bahwa kombinasi teikoplanin dengan aminoglikosida bersifat sinergis. Teikoplanin sangat sedikit diserap

saluran pencernaan karena itu diberikan secara IV dan IM (terkadang menimbulkan nyeri). Obat bersifat *highly protein bound* sehingga membutuhkan kadar terapi yang tinggi dan lambat diekskresi dari ginjal. Waktu paruhnya lebih panjang dari vankomisin sehingga dapat diberikan 1 kali sehari. Seperti vankomisin, teikoplanin sedikit/tidak mengalami metabolisme dan dikeluarkan oleh ginjal dalam bentuk utuh. Dosis terapi berkisar antara 6-15 mg/kgBB/hari, untuk endokarditis *MRSA* diperlukan dosis 12 mg/kgBB/hari. Secara umum efek samping teikoplanin lebih ringan dan lebih jarang dibandingkan dengan efek samping vankomisin, *red man* tidak/sangat jarang terjadi pada pemberian teikoplanin. Kemanjuran (*efficacy*) teikoplanin setara dengan *efficacy* vankomisin sehingga obat ini digunakan untuk menggantikan vankomisin jika terjadi alergi pada pemberian vankomisin⁽⁴⁾.

Sebagaimana telah disebutkan bahwa kelemahan glikopeptida untuk terapi infeksi *MRSA* adalah efek bakterisidalnya yang lambat sehingga diperkirakan tidak begitu manjur secara *in vivo* karena memerlukan pemberian berulang, lama mencapai sterilisasi darah dan sangat tinggi kejadian infeksi berulang (*relapse*). Selain itu antimikroba ini kurang efektif untuk infeksi yang terletak pada jaringan/organ dalam sehingga membutuhkan antimikroba tambahan. Sebagai ilustrasi penyembuhan bakteremia oleh glikopeptida memerlukan waktu 9 hari lebih lama dibandingkan oleh beta laktam⁽⁴⁾.

Trimetoprim pertama kali digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri pada manusia pada tahun 1962 dan dikombinasikan dengan sulfonamid menjadi kotrimoksazol pada tahun 1968. Kombinasi kedua obat inhibitor sintesa asam folat ini bersifat sinergistik. Trimetoprim aktif terhadap *S. aureus in vitro* pada nilai MIC antara 0.05-1.0 mg/L dan sulfametoksazol 0.4-8.0 mg/L. Kotrimoksazol memiliki kemampuan bakterisidal yang cepat pada konsentrasi 4 kali MIC. Pada beberapa tahun terakhir dilaporkan peningkatan resistensi *MRSA* terhadap kotrimoksazol. Pada uji klinis komparatif terkontrol terbukti bahwa *efficacy* kotrimoksazol sama dengan vankomisin tetapi pada mencit endokarditis kotrimoksazol kurang efektif dibandingkan vankomisin. Karena itu para ahli tidak merekomendasikan kotrimoksazol untuk terapi infeksi berat *MRSA* seperti endokarditis dan pneumonia⁽⁵⁾.

Rifampin adalah senyawa semisintetik derivat dari rifamisin B yaitu antimikroba makrolida yang diproduksi oleh jamur *Streptomyces mediterranei*. Rifampin lebih kuat dan mudah larut dibandingkan dengan rifamisin B dan bersifat bakterisidal baik terhadap bakteri yang sedang membelah maupun bakteri pada fase stasioner dengan spektrum luas. Rifampin bekerja menghambat *DNA dependent RNA polymerase* pada subunit β sehingga menggagalkan pembentukan rantai inisiasi transkripsi. Rifampin aktif terhadap *MRSA* dan *MSSA* dengan MIC antara 0.003-0.3 mg/L. Resistensi terhadap rifampin cepat terjadi karena mutasi titik pada subunit β *DNA dependent RNA polymerase*. Resistensi alami pada *Staphylococcus* terjadi dengan frekuensi 1 per 10^7 *colony forming unit* (cfu)⁽⁶⁾.

Pemberian rifampin per oral akan diabsorpsi secara lengkap dan cepat. Selain per oral obat ini dapat pula diberikan per IV. *Plasma clearance* melalui hepar, de-asetilasi dan ekskresi melalui empedu, karena itu tidak boleh digunakan pada pasien dengan kegagalan hati. Penyesuaian dosis diperlukan untuk penderita gagal ginjal. Rifampin mampu memasuki hampir semua bagian tubuh seperti jaringan ikat, tulang, rongga abses, katup jantung dan sel PMN sehingga mematikan sel fagosit tersebut. Rifampin tidak dapat diberikan sebagai monoterapi untuk *MRSA* karena sangat cepat timbul resistensi. Obat ini harus dikombinasikan dengan obat lain yang memiliki profil farmakokinetik serupa, sebab pernah dicoba dikombinasi dengan vankomisin ternyata resistensi tidak bisa dicegah karena penetrasi vankomisin ke jaringan buruk⁽⁶⁾.

Asam fusidat suatu senyawa produk jamur *Fusidum coccineum* memiliki spectrum sempit hanya terhadap Gram positif bekerja menghambat sintesa protein dengan cara mengganggu *elongation factor G* (EF-G). Pada dosis terapi bersifat bakteriostatik sedangkan pada konsentrasi tinggi dapat bersifat bakterisid. Asam fusidat dapat diberikan IV atau per oral, aktif terhadap *MRSA* dengan MIC antara 0.03-0.25 mg/L. Sejauh ini asam fusidat tidak banyak digunakan untuk mengatasi infeksi *MRSA* sistemik/pada jaringan dalam seperti endokarditis, osteomielitis karena tingkat kegagalannya tinggi. Asam fusidat terikat protein plasma tetapi penetrasi ke berbagai jaringan cukup baik. Senyawa ini dimetabolisme di hati dan diekskresi melalui saluran empedu. Efek samping yang

dapat timbul pada pemberian per oral adalah diare dan sakit kepala sedangkan pada pemberian IV dapat menimbulkan tromboflebitis dan ikterus⁽⁷⁾.

Meskipun potensinya kuat, penggunaan kuinolon untuk terapi *MRSA* sangat terbatas karena cepat menimbulkan resistensi. Oleh karena itu untuk terapi *MRSA*, kuinolon harus dikombinasikan dengan antimikroba lain. Kombinasi dengan rifampin ternyata efektif untuk mengatasi infeksi *MRSA* pada pasien implan ortopedi. Demikian pula terapi dengan aminoglikosida seperti gentamisin dan tobramisin sering menimbulkan resistensi karena obat dinonaktifkan oleh enzim (aminoglycosida modifying enzyme). Selain itu monoterapi dengan aminoglikosida juga tidak dianjurkan karena angka mortalitasnya tinggi, terapi terhadap *MRSA* hanya diberikan apabila dikombinasi dengan vankomisin atau teikoplanin⁽⁸⁾.

Fosfomisin adalah produk fermentasi *Streptomyces spp.*, tetapi saat ini sudah dapat dibuat secara sintesis. Fosfomisin masuk ke dalam sel bakteri via mekanisme transport aktif, setelah berikatan dengan reseptor, ikatan oksigen terbuka membentuk intermediat reaktif yang akan meng-alkilasi situs aktif enzim fosfoenolpiruvat transferase bakteri, akibatnya sintesa *building block* polimer peptidoglikan yaitu asetil muramat pentapeptida terhenti. Fosfomisin memiliki spektrum luas baik terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Kadar MIC efektif terhadap *MRSA* antara 32-200 mg/L. Kombinasi dengan beta laktam atau aminoglikosida diberikan parenteral untuk kasus *MRSA* sistemik (berat). Obat ini diberikan per oral dosis tunggal 3 gram dengan kadar puncak 22-32 mg/L dicapai dalam 2 jam. Fosfomisin tidak terikat protein plasma dan diekskresi dalam bentuk utuh (tidak dimetabolisir) melalui filtrasi glomerulus. Antimikroba ini dapat menembus cairan serebro spinal dan plasenta⁽⁹⁾.

Linezolid suatu antimikroba baru golongan oksazolidinon efektif untuk berbagai bakteri Gram negatif seperti *MRSA*, *vancomycin resistant enterococcus* dan *Streptococcus pneumoniae resistant penisilin*. Obat ini bersifat bakteriostatik dengan cara menghambat *initiation factor* IF2, IF3 dan fMet-tRNA pada fase awal translasi. Selain itu linezolid terbukti mampu menghambat produksi faktor virulen hemolisin α . Obat oral ini memiliki batas kepekaan terhadap *MRSA* ≤ 4 $\mu\text{g/mL}$, waktu paruh 5.5 jam, 32% terikat protein plasma dan diekskresi dalam

bentuk metabolit non aktif. Dosis untuk infeksi *MRSA* tanpa komplikasi 400 mg dan untuk infeksi berat 600 mg per 12 jam. Pada uji klinis terbukti obat ini aman, efek samping yang mungkin terjadi adalah diare, sakit kepala, mual dan muntah. Secara umum potensi linezolid untuk mengatasi infeksi *MRSA* setara dengan vankomisin⁽¹⁰⁾.

Quinupristin-dalfopristin adalah golongan streptogramin yang diisolasi dari *Streptomyces pristinaespiralis*. Dalfopristin mengikat ribosom subunit 50S sehingga meningkatkan daya ikat ribosom terhadap quinupristin. Kedua obat kan mencegah formasi rantai peptida, pembentukan peptida baru dan akhirnya sel menjadi lisis. Untuk terapi *MRSA* batas peka MIC adalah $< 1 \mu\text{g/mL}$ dan resisten pada $\text{MIC} > 4 \mu\text{g/mL}$. Gabungan dalfopristin-quinupristin dengan perbandingan komposisi 30:70 diberikan 7.5 mg/ kgBB secara IV tiap 8-12 jam. Efek samping yang dapat terjadi adalah nyeri, edema, tromboflebitis dan gejala umum seperti mual, muntah, diare dan sakit kepala. Obat ini diberikan hanya bila tidak tersedia obat lain atau obat lain tidak dapat digunakan seperti bakteri telah resisten terhadap antimikroba yang lain atau alergi terhadap vankomisin⁽¹¹⁾.

Lipopeptida siklik daptomisin merupakan hasil fermentasi *Streptomyces roseosporus* ditemukan sekitar tahun 1980-an. Berdasarkan uji pada hewan terbukti bahwa obat ini mampu mengobati infeksi lokal dan sistemik oleh bakteri Gram positif multiresisten seperti *MRSA*, saat ini daptomisin tengah dalam uji klinik. Obat yang diberikan IV ini diduga bekerja menghambat sintesa peptidoglikan, sintesa asam lipotekoat dan mengubah potensial membrane sehingga mengakibatkan kerusakan membran bakteri⁽¹²⁾.

Glisilsiklin merupakan turunan tetrasiklin yang dibuat untuk mengatasi resistensi terhadap tetrasiklin. Pada uji hewan terbukti efektif untuk mengatasi infeksi *MRSA* sistemik. Obat ini tengah dalam uji klinis. Sementara itu oritavansin (LY333328) suatu glikopeptida semisintetik dan peptide kationik suatu golongan antimikroba baru tengah diteliti dan masih pada fase uji *in vitro*⁽¹⁾.

6.2. Pencegahan (Preventif)

Sudah lebih 40 tahun *MRSA* menjadi salah satu masalah infeksi nosokomial, bahkan dalam 10 tahun terakhir telah terjadi wabah *CAMRSA* di berbagai negara. Sebagaimana disebutkan di atas bahwa terapi terhadap infeksi *MRSA* belum sepenuhnya berhasil. Oleh karena itu tindakan pencegahan merupakan strategi yang tepat dan berguna untuk mengatasi masalah ini. Setidaknya terdapat empat hal berkenaan dengan program pencegahan dan pengendalian infeksi *MRSA* bahwa *MRSA* tidak lebih virulen dibandingkan dengan *S. aureus* sensitif, reservoir (sumber penularan) utama adalah nasofaring, *MRSA* terutama ditularkan via tangan dan terbukti higiene tangan dapat mencegah penularan dan kolonisasi pada rongga hidung (nasal)⁽¹³⁾.

Keberhasilan program pencegahan dan pengendalian infeksi *MRSA* dapat ditentukan dengan mengukur parameter umum dan spesifik. Parameter umum berupa pedoman/panduan pengendalian *MRSA*, program pengendalian infeksi, deteksi dini MSA, higiene tangan (hand hygiene), manajemen pasien rawat inap (komunikasi dan penyuluhan), standard pengamanan (cuci tangan, baju steril, sarung tangan, masker, peralatan medis steril dan pencucian/laundry yang tepat) dan surveilans mikrobiologi, penggunaan antimikroba yang rasional serta terapi untuk penderita *carrier*. Parameter khusus berupa pencegahan kontak dengan pasien misalnya dengan isolasi/ruangan tunggal, pemakaian *barrier* seperti baju steril, sarung tangan dan masker dan desinfeksi-sterilisasi ruangan⁽¹⁴⁾.

Daftar Pustaka

1. David DB, and Rubinstein E. 2003. Treatment of *MRSA* infection, p 275-316. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
2. Frank U. 2003. Prevention and control of *MRSA*, p 317-336. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.
3. Teri Capriotti. 2003. Preventing Nosocomial Spread of *MRSA* is in Your Hands. *Dermatol Nurs*. 15:535-538.
4. Schmitz FJ, Fluit AC, Hafner D, Beeck A, Perdikouli M, Boos M, Scheuring S, Verhoef J, Kohrer K, and Von Eiff C. 2000. Development of resistance to ciprofloxacin, rifampin and mupirocin in methicillin susceptible and resistant *S. aureus* isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 44: 3229-3231.
5. De Gorgolas M, Aviles P, Verdejo C, and Fernandez Guerrero ML. 1995. Treatment of experimental endocarditis due to methicillin-susceptible or methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with trimethoprim-sulfamethoxazole and antibiotics that inhibit cell wall synthesis. *Antimicrob Agents Chemother*. 39: 953-957.
6. Kenneth H. Rand and Herbert J. Houck. 2004. Synergy of Daptomycin with Oxacillin and Other β -Lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 48: 2871-2875.
7. Dailey CF, Christine L. Dileto-Fang, Lewis V. Buchanan, Martha P. Oramas-Shirey, Donald H. Batts, Charles W. Ford, and John K. Gibson. 2001. Efficacy of Linezolid in Treatment of Experimental Endocarditis Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 45: 2304-2308.
8. Mick V, Domínguez MA, Tubau F, Liñares J, Pujol M, Martín R. Molecular characterization of resistance to Rifampicin in an emerging hospital-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST228, Spain. *BMC Microbiol*. 2010 Mar 4;10:68.
9. Sader HS, Fey PD, Fish DN, Limaye AP, Pankey G, Rahal J, Rybak MJ, Snyderman DR, Steed LL, Waites K, Jones RN. Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC creep) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in nine U.S. medical centers from 2002 to 2006. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Oct;53(10):4127-32.
10. Singh SR, Bacon AE 3rd, Young DC, Couch KA. In vitro 24-hour time-kill studies of vancomycin and linezolid in combination versus methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Oct;53(10):4495-7. Epub 2009 Jul 27.
11. Kadlec K, Schwarz S. Identification of a novel trimethoprim resistance gene, *dfrK*, in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain and its physical linkage to the tetracycline resistance gene *tet(L)*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Feb;53(2):776-8.

12. Leonard SN, Rybak MJ. Evaluation of vancomycin and daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and heterogeneously vancomycin-intermediate *S. aureus* in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Jan;63(1):155-60.
13. Leonard SN, Kaatz GW, Rucker LR, Rybak MJ. Synergy between gemifloxacin and trimethoprim/sulfamethoxazole against community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Dec;62(6):1305-10.
14. Rehm SJ, Boucher H, Levine D, Champion M, Eisenstein BI, Vigliani GA, Corey GR, Abrutyn E. Daptomycin versus vancomycin plus gentamicin for treatment of bacteraemia and endocarditis due to *Staphylococcus aureus*: subset analysis of patients infected with methicillin-resistant isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Dec;62(6):1413-21.
15. Perlroth J, Kuo M, Tan J, Bayer AS, Miller LG. Adjunctive use of rifampin for the treatment of *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review of the literature. *Arch Intern Med.* 2008 Apr 28;168(8):805-19.
16. Nathwani D, Morgan M, Masterton RG, Dryden M, Cookson BD, French G, Lewis D; British Society for Antimicrobial Chemotherapy Working Party on Community-onset MRSA Infections. Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community. *J Antimicrob Chemother.* 2008 May;61(5):976-94.
17. Farley JE. Epidemiology, clinical manifestations, and treatment options for skin and soft tissue infection caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Acad Nurse Pract.* 2008 Feb;20(2):85-92.

SEKILAS PENULIS



Dr. H. Yuwono, dr., M.Biomed.

Jl. Raya Palembang-OI Km 14 Sekolahalam Palembang (SaPa)

Mobile Phone: 08127115678

E-mail: yuwono71@yahoo.com

Pribadi

Tanggal Lahir 10 Oktober 1971
Tempat Lahir Trenggalek Jawa Timur
NIP 197110101998021001
Pangkat/Golongan Lektor Kepala/III-d
Unit Kerja Departemen Mikrobiologi FK Unsri
Jabatan Ketua Laboratorium Mikrobiologi FKUnsri
Keluarga Istri : Nurbaiti Ekasari, S.Si.
Anak : M. Jawad Yuwono (12 tahun)
Imadul Aqil Yuwono (11 tahun)
Mamduh Widad Yuwono (9 tahun)
Afaf Nihlah Yuwono (6 tahun)

Pendidikan

2009 Doktor Bidang Ilmu Kedokteran
Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas
Padjadjaran, Bandung
Promotor: Prof. Dr. Imam Supardi, dr., SpMK. ; Prof. Dr.
Sunarjati, dr., SpMK.; Dr. Sadeli Masria dr., SpMK.,

2002 Master Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta
Pembimbing: Prof. dr. Sangkot Marzuki, PhD.; Prof. dr.
Irawan Yusuf, PhD. ; Prof. dr. Herawati, PhD

1996 Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang

Kursus- Kursus

Maret 2004	Certificate in Clinical Microbiology Department of Microbiology, Faculty of Medicine University of Diponegoro, Semarang Indonesia colaboration with Erasmus Medical Center Amsterdam Supervisor: Prof. Dr. henry Verbrugh
Maret 2008	Certificate in Infectious deseases & molecular biology Department of Microbiology Faculty of Medicine University of Syahkuala Aceh Indoensia colaboration with University of Gottingen Germany Supervisor: Prof. Dr. Uwe Gross
2006- 2008	Kursus tentang KBK dan Assessment Proyek HWS-Dikti Jakarta
Maret 2009	Certificate in Infectious deseases & molecular biology University Medical Center of Gottingen Germany Supervisor: Prof. Dr. Uwe Gross

Pengalaman Kerja

1997 – 1998	Kepala Puskesmas, Muntok , Bangka, Indonesia
1998 – skrg	Kepala Laboratorium Mikrobiologi FK Unsri/ Rumah Sakit Mohammad Hoesin Palembang
2006 – 2008	Ketua Komisi Student Assessment Affairs, FK Unsri
2007 – 2009	Ketua Quality Assurance Unit, FK Unsri
2009 – 2011	Ketua Unit Program Pendidikan Sarjana Kedokteran (P2SK) FK Unsri

Thesis

Doktoral	Comparative study of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (<i>SCC_{mec}</i>) type from MRSA Isolates from Bandung & Palembang Indonesia
Magister	Resistance of Southeast Asian Ovalocytosis to Malaria related to ethnic and geography

Penghargaan

2010	Peneliti Terbaik Unsri
2007	Dosen Teladan I FK Unsri
2003-2006	Beasiswa BPPS Dikti
1992 – 1994	Beasiswa Stanvac Oil Company South Sumatera
1991	Beasiswa Supersemar

Pengalaman Riset dan Publikasi

Riset di bidang biomembran (1999 - 2002), Bakteriologi (2002 – sekarang), Biologi Molekul pada Penyakit Kardiovaskuler (2007 – sekarang), Biologi Molekul Kanker (2009 – sekarang), Infeksiologi (2007 – sekarang). Telah mempublikasi sekitar 20 karya ilmiah dan 10 publikasi populer di koran terutama tentang pendidikan.

Keanggotaan Organisasi

1. Ikatan Dokter Indonesia (IDI)
2. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (Permi)
3. Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia (Pamki)
4. Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekul Indonesia (PBBMI)
5. Pendiri Sekolahalam Palembang-suatu sekolah inklusif

