

Mekanisme Molekuler Resistensi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

Yuwono

Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang

Abstrak

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) atau mecDNA terintegrasi ke dalam kromosom *S. aureus* pada regio di dekat origin of replication (ori) kromosom. SCCmec selalu mengandung *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP 2a yang mendasari resistensi MRSA. Setidaknya terdapat satu insertion element IS431 atau IS257 pada sebelah hulu *mecA* yang memfasilitasi proses rekombinasi elemen genetik dari plasmid maupun transposon seperti Tn554. Resistensi MRSA terhadap metisilin dan terhadap semua antimikroba golongan betalaktam disebabkan perubahan struktur 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). Resistensi MRSA terhadap antimikroba nonbetalaktam sekalipun bakteri ini dibiakan pada medium mengandung konsentrasi tinggi antimikroba nonbetalaktam umumnya berupa mutasi pada protein sel (tumbuh). Resistensi dimaksudkan dan adanya active efflux yaitu pengeluaran obat secara aktif segera setelah obat tersebut masuk ke dalam sel bakteri.

Kata Kunci: MRSA, Antimikroba, Resistensi

Abstract

S. aureus mutated to resistant strain methicilline i.e. MRSA because of insertion of DNA element 20-100 kb named staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec). SCCmec or mecDNA was integrated to chromosome of *S. aureus* at regio near origin of replication (ori) chromosome. SCCmec always consisted of *mecA* gene coding for PBP2a which underlied mechanism of MRSA resistance. At least one of insertion element IS431 or IS257 located upstream of *mecA* gene which function as genetic recombination site of plasmid and transposon such as Tn554. Resistance of MRSA to methicillin and to all kind of betalactam was caused by mutation of normal protein binding penicillin (PBP) to mutant PBP 2a. PBP 2a has very low affinity to betalactams and the end result is survive of the bacteria eventhough in high concentration of antimicrobials. Resistance of MRSA to non betalactam antimicrobials particularly based on mutation of their receptor of the antimicrobials and active efflux, i.e. actively medicine excreting soon after the medicine entered into cells of bacteria.

Key Words: MRSA, Antimicrobial, Resistance

Sejarah Resistensi *S. aureus*

Sejarah resistensi *S. aureus* terhadap antimikroba telah diketahui sejak perang dunia kedua. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan akibat infeksi *S. aureus* adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak sampai infeksi osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak. Pada jaman itu masih dapat diatasi dengan antimikroba penisilin (*penicillin*). Tetapi dengan cepat terjadi resistensi *S. aureus* terhadap penisilin, bahkan akhir tahun 1950-1n telah resistensi mencapai 90% lebih.¹

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*).

Resistensi 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

menyebarkan dan menjadi salah satu penyebab utama infeksi nosokomial di seluruh rumah sakit di dunia.^{2,3}

Resistensi terhadap β -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.^{4,5}

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*.⁶

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 juga transglukosilasi dari PBP 2a ini.^{7,8} fungsi

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 oleh 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.⁷

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 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.⁸

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*, *fmbB*, *fmbA*, *fmbB*, *fmbC* dan sebagainya 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.⁸

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.⁷

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.⁸

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.⁹

Resistensi *MRSA* terhadap kelompok makrolida ditentukan oleh adanya gen *ermA* yang terkait dengan Tn554 yang terdapat pada SCC*mec*. 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*.¹⁰

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.¹¹ 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.¹²

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.⁷ Perubahan 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 ekstrakromosomal (plasmid).⁷

Resistensi *MRSA* terhadap kotrimoksazol terjadi karena adanya insersi Tn4003 yang akan menginterferensi fungsi enzim DHPS dan DHFR dalam biosintesa asam folat.¹³

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*.¹⁴

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*.⁷

Antimikroba yang digunakan untuk mengatasi infeksi *MRSA* yang belum menimbulkan resistensi hingga saat ini adalah oksazolidinon (linezolid) dan ketolida (telitromisin) serta mupirosin topikal.¹²

Daftar Pustaka

1. 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.
2. Chambers HF. 1997. Methicillin resistant in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 10:781-9.
3. Katayama Y., Zhang H.Z., and Henry F. Chambers. 2004. PBP 2a Mutations Producing Very-High-Level Resistance to Beta-Lactams. *Antimicrob Agents Chemother.* 48: 453-459.
4. Arai K.K., Kondo N., Hori S., Suzuki E.T., Hirantsu 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.
5. Parvez M.A., Shibata H., Nakano T., Niimi S., Fujii N., Arakaki N., Higuti T. 2008. No relationship exists between PBP 2a amounts expressed in different *MRSA* strains obtained clinically and their beta-lactam MIC values. *Journal Med Invest.* Aug;55(3-4):246-53.
6. Memmi G., Filipe S.R., Pinho M.G., Fu Z., Cheung A...2008. *Staphylococcus aureus* PBP4 is essential for beta-lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother.* Nov;52(11):3955-66.
7. Horne K.C., Howden B.P., Grabsch E.A., Graham M., Ward P.B., Xie S., Mayall B.C., Johnson P.D., Grayson M.L. 2009. Prospective comparison of the clinical impacts of heterogeneous vancomycin-intermediate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*MRSA*) and vancomycin-susceptible *MRSA*. *Antimicrob Agents Chemother.* Aug;53(8):3447-52.
8. Llarrull L.I., Fisher J.F., Mobashery S. 2009. Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and insights into new beta-lactams that meet the challenge. *Antimicrob Agents Chemother.* Oct;53(10):4051-63.
9. Antignac A., Tomasz A. 2009. 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.* Feb;53(2):435-41.

10. Wong H., Louie L., Watt C., Sy E., Lo R.Y., Mulvey M.R., Simor A.E. 2009. Characterization of *ermA* in macrolide-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* Aug;53(8):3602-3.
11. Kadlec K., Schwarz S. 2009. Identification of a novel trimethoprim resistance gene, *dfiK*, in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain and its physical linkage to the tetracycline resistance gene *tet(L)*. *Antimicrob Agents Chemother.* Feb;53(2):776-8.
12. Rohrer S., Bischoff M., Rossi J., and Bachi B.B. 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.
13. Schmitz F.J., Fluit A.C., 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.
14. Gul H.C., Kilic A., Guclu A.U., Bedir O., Orhon M., Basustaoglu A.C. 2008. 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.