

DISERTASI

**ANALISIS KEKERABATAN GEN *mecA* PENYANDI
METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus
(MRSA) YANG BERSUMBER DARI SAPI PERAH
DAN SWAB TANGAN PETERNAK DI PETERNAKAN
SAPI PERAH JAWA TIMUR**

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS



Oleh :

ASWIN RAFIF KHAIRULLAH
061917117301

**PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI SAINS VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**ANALISIS KEKERABATAN GEN *mecA* PENYANDI
METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus
(MRSA) YANG BERSUMBER DARI SAPI PERAH
DAN SWAB TANGAN PETERNAK DI PETERNAKAN
SAPI PERAH JAWA TIMUR**

Disertasi

untuk memperoleh gelar Doktor
dalam Program Studi Sains Veteriner
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya

Oleh :

ASWIN RAFIF KHAIRULLAH
061917117301

**PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI SAINS VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Disertasi berjudul:

ANALISIS KEKERABATAN GEN *mecA* PENYANDI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) YANG BERSUMBER DARI SAPI PERAH DAN SWAB TANGAN PETERNAK DI PETERNAKAN SAPI PERAH JAWA TIMUR

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Doktor di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 12 Juli 2022



ASWIN RAFIF KHAIRULLAH
061917117301

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI

Tanggal 12 Juli 2022

Oleh :

Promotor



Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D.

NIP. 195609041984031004

Ko-Promotor

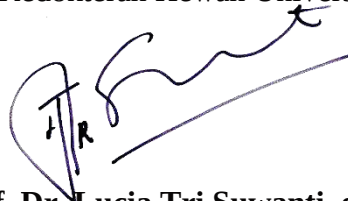


Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.

NIP. 196201151988031002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sains Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.

NIP. 196208281989032001

Tanggal 8 Juli 20221

PANITIA PENGUJI

Ketua : Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc.
Anggota : Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D.
Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH
Dr. Jola Rahmahani, drh., M.Kes.
Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.
Prof. Mochammad Yunus, drh., M.Kes., Ph.D.
Dr. Tarzan Purnomo, M.Si.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan Disertasi dengan judul **“ANALISIS KEKERABATAN GEN *mecA* PENYANDI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) YANG BERSUMBER DARI SAPI PERAH DAN SWAB TANGAN PETERNAK DI PETERNAKAN SAPI PERAH JAWA TIMUR”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan Disertasi ini, antara lain :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP. atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk dapat menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.

Dr. Rimayanti, drh., M.Kes. selaku Wakil Dekan I, Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M.Kes. selaku Wakil Dekan II, dan Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH selaku Wakil Dekan III atas bimbingannya kepada saya selama menjalani perkuliahan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.

Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D. selaku promotor atas saran dan bimbingannya hingga saya dapat menyelesaikan Disertasi ini dengan baik.

Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH selaku ko-promotor atas saran dan bimbingannya, serta mendanai penelitian dan publikasi ilmiah saya hingga saya dapat menyelesaikan Disertasi ini dengan baik.

Dr. Jola Rahmahani, drh., M.Kes., Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes., Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc., Prof. Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si., Prof. Mochammad Yunus, drh., M.Kes., Ph.D., Prof. Mas'ud Hariadi, drh., M.Phil., Ph.D., Dr. Tarzan Purnomo, M.Si., dan Alm. Dr. Nenny Harijani, drh., M.Si. selaku anggota penguji atas semua kritik dan saran yang diberikan kepada saya.

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP. Selaku Ketua Program Studi S3 Sains Veteriner yang selalu memberikan arahan dan bimbingan kepada saya selama menempuh pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh staf pengajar S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bimbingan, pendidikan, dan pengarahan selama saya mengikuti pendidikan Doktor.

Orang tua tercinta Drs. Gurendi Wiwoho, M.Pd. dan Dr. Dra. Karmanis Karolan, M.Si. yang telah membesarkan, mendidik, memberikan dukungan moral dan materil, menyayangi, mendo'akan, dan penuh pengorbanan sehingga saya bisa seperti sekarang ini. Saudara tercinta dr. Melda Angelin, dr. Melinda Angelin, Anni Fithrotin, SE., Ristaqul Husna Belgania, drh., M.Si., Ristaq Mutiasri Martavitri, ST., M.Ars., Ristag Hamida Hanisia, S.Si., M.Si., Ainun Ganisia, Bd., Hamdi Sukmana Ilmi, ST. yang telah memberikan dukungan dan motivasi kepada saya.

Bapak Suloso selaku manajer KUD Argopuro dan Bapak Gatot Suryadi selaku staf KUD Argopuro yang telah membantu dan mengurus saya selama kegiatan di wilayah KUD Argopuro, Kecamatan Krucil, Kabupaten Probolinggo.

Bapak Didik Isdiyanto, drh. selaku manajer KUD Tani Wilis, Bapak Sujadi selaku staf KUD Tani Wilis, Hudzaifah Abu Bakar dan Rangga Azel Devansyah selaku mahasiswa Paramedik Veteriner, Universitas Airlangga yang telah membantu dan mengurus saya selama kegiatan di wilayah KUD Tani Wilis, Kecamatan Sendang, Kabupaten Tulungagung.

Bapak Didik Setiawan selaku manajer KUD Semen dan Jefry Trian Masbuana selaku staf KUD Semen yang telah membantu dan mengurus saya selama kegiatan di wilayah KUD Semen, Kecamatan Gandusari, Kabupaten Blitar.

Bagus Winarto, A.Md., selaku analis di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner yang telah membantu dan mengarahkan saya selama menjalani kegiatan di laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.

Ana Setiyawati, A.Md., selaku analis di Biomolekuler yang telah membantu dan mengarahkan saya selama menjalani kegiatan di laboratorium Biomolekuler, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.

Nur Syamsiatul Fajar, A.Md., Wahyu Setyarini S.Si., dan Radita Yuniar Arizandy S.Si. selaku analis di laboratorium Tropical Disease Diagnostic Center (TDDC) dan Gastroenteritis yang telah membantu dan mengarahkan saya selama menjalani kegiatan di laboratorium Institut Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya.

Supatmi, S.T. selaku bibi saya dan Hadi Sukahono, S.T. selaku paman saya yang telah mengurus segala keperluan saya selama tinggal di kos Surabaya.

Roy Setya Nugraha, BSEE. selaku tentor kursus English Brigh Life atas ajaran dan bimbingan yang diberikan sehingga saya berhasil lulus ujian *English Language Proficiency Test (ELPT)* di Pusat Bahasa, Universitas Airlangga.

Teman-teman tercinta Dr. Agus Widodo, drh., M.Vet., Dhikri Lailatul Mufidah, drh., Maria Aega Gelolodo, drh., M.Si., Dyah Ayu Kurniawati, drh., M.Si., Dr. Katty Hendriana Priscilia Riwu, drh., M.Si., Kharisma Anditia Kurniawan, A.Md., Anggi Prabawa Pasaribu, S.KM., Priscolius Evrolino Jennes, S.Kom., I Gede Bhadra Pranaya, S.T., Muhammad Esa Erlang Samodra, drh., Dr. Amaq Fadholly, drh., M.Si., Dr. Naimah Putri, drh., M.Si., Dr. Arif Nur Muhammad Ansori, S.Si., M.Si., Sancaka Cashyer Ramandinianto, drh., M.Si., Shinta Levea Ni'matul Fadlillah, drh., M.Si., Akhmad Afifudin Al-Anshori, drh., M.Si., Azharuddin anshori, drh., M.Vet., Saiful Rizal, drh., Mahendra Pujiyanto, drh., M.Si., Erwan Budi Hartadi, drh., M.Si., Akvyan Rafi Hidayatullah, drh., M.Si., Akyun Rozaqi Syah Putra, drh., M.Si., Briantono Willy Rendragraha, drh., M.Si., Rachmad Yusuf Wiranata, drh., Muhammad Sirojul Ma'arif, drh., Nur Iskhak, S.KH., Dr. Hartanto Mulyo Raharjo, drh., M.Si., Dr. Annise Proboningrat, drh., M.Si., Dr. Muhammad Khaliim Jati Kusala, drh., M.Si., Dr. Saifur Rehman, drh., Sugeng Supranyoto, drh., Pendi Afif Fadhlullah, drh., Shendy Canadya Kurniawan, drh., Lita Purwita Sari, drh., Talitha Winadia, drh., Rachmad Dwi Febrianto, drh., Rizki Puji Samudra, drh., Dr. Otto Silaen, drh., M.Si., Desi Lailatul Hidayah Utomo, drh., Rinda Prafitri Widodo, drh., Rizki Amalia, drh., Aqmarina Artyadinda, drh., Citra Ayu Pramesti, drh., M.Sc.,

Deka Amalia, drh., Siska Nur Hidayah, drh., Wanda Lela Khoiria, drh., Wahyu Retno, drh., Deynara Septin Dwi Putri, drh., Fifi Mufida, drh., Igo Syaiful Ihsan, drh., M.Si., Dytta Ridwanda Gypsie, drh., Dewi Mariyam Samoed, drh., Ribby Ansharieta, drh., M.Si., Bayu Kinantoko, S.KH., Monica Christiani Hardy, drh., Farah Aidah Nurreza, drh., M.Kes., Erwin Nugroho Indhi, drh., Rendy Setiawan Budi, drh., Mitha Ardila, drh., M.Si., Dodit Hendrawan, drh., M.Si., Dhandy Koesoemo Wardhana, drh., M.Vet., Ph.D., Rahmat Ramadoni, drh., Gigih Iman Lesmana, drh., Nurzaynnarulita, drh., Ardhan Vedi Ersanta, drh., Galih Kurnia, drh., Dian Afika Sari, drh., M.Vet., Agesti Veva Kalista, drh., Siska Amalia, drh., M.Si., Dhimas Toni Angger Prambudi, drh., M.Si., Jen Riki Fanani, drh., Tridiganita Intan Solikhah, drh., M.Si., Siti Komariyah, drh., Daniah Ashri Afnani, drh., M.Si., Ahmad Najib, drh., Nadinda Ayu Belinda, drh., Muhammad Thoriq Ihza Farizqi, drh., Giovanni Dwi Syahni Putra, drh., Ajeng Rizki Ariati, drh., Farah Shafina Hanum, drh., Muhammad Reza Farhan, drh., Fauziah Anggraini, drh., Safira Ramadhani, drh., Saumi Kirey Millannia, drh., Yolla Rona Mustika, drh., M.Si., Nia Masita, drh., Amalia Rahmandini, drh., Daniar Ayu Rachmawati, drh., Nur Alia Faustin Kusumah, drh., dan Yusac Kristanto, drh. yang telah membantu, mendukung, dan mendo'akan saya hingga dapat menyelesaikan Disertasi ini.

Surabaya, 12 Juli 2022

Penulis

RINGKASAN

ANALISIS KEKERABATAN GEN *mecA* PENYANDI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) YANG BERSUMBER DARI SAPI PERAH DAN SWAB TANGAN PETERNAK DI PETERNAKAN SAPI PERAH JAWA TIMUR

Susu sapi merupakan bahan pangan asal hewan yang memiliki potensi untuk mentransmisikan berbagai bakteri patogen yang bisa berdampak terhadap sektor *public health* yang dikenal sebagai *milk borne disease* (MBD). Menurut Badan Pusat Statistik Tahun 2021 produksi susu sapi segar Provinsi Jawa Timur menempati posisi teratas di Indonesia. Beberapa Koperasi Unit Desa (KUD) yang menjadi sentra penghasil susu sapi segar terbesar di Jawa Timur yaitu KUD Argopuro Kabupaten Probolinggo, KUD Tani Wilis Kabupaten Tulungagung, dan KUD Semen Kabupaten Blitar. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang sering menjadi penyebab kasus mastitis banyak diketahui karena sifat *multidrug resistant* (MDR) dan sifat resistensi terhadap antibiotik golongan β -laktam yang biasa disebut dengan istilah *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pada strain *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dimediasi oleh gen *mecA* dan gen *mecC*. Kejadian infeksi *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dapat menjadi masalah kesehatan bagi masyarakat, untuk itu diperlukan pemeriksaan laboratorium, deteksi molekuler, dan analisis sekuens dari gen *mecA* untuk membuktikan bahwa sapi tersebut merupakan *reservoir* dari munculnya strain *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Sebanyak 457 sampel telah dikumpulkan dalam penelitian ini yang terdiri dari 332 sampel susu dan 125 sampel swab tangan peternak yang diambil dari peternakan sapi perah di wilayah KUD Argopuro, KUD Tani Wilis, dan KUD Semen. Hasil pemeriksaan *California Mastitis Test* (CMT) pada penelitian ini menunjukkan dari 332 sapi perah (1.328 kuartir) yang telah dilakukan pemeriksaan *California Mastitis Test* (CMT), 59 sapi perah diantaranya menunjukkan hasil positif mastitis subklinis (17,77 %). Sedangkan untuk hasil isolasi dan identifikasi pada penelitian ini menunjukkan dari total 457 sampel menunjukkan adanya 291 isolat positif *Staphylococcus aureus* (63,68%) dan 166 isolat lainnya terkonfirmasi *Coagulase-Negative Staphylococci* (36,32%).

Pada uji resistensi isolat *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik menunjukkan resisten terhadap oxacillin sebanyak 112 isolat, cefoxitin sebanyak 35 isolat, tetrasiklin sebanyak 100 isolat, eritromisin sebanyak 46 isolat, dan gentamisin sebanyak 16 isolat. Sedangkan pada uji resistensi isolat *Coagulase-Negative Staphylococci* (CoNS) terhadap antibiotik menunjukkan resisten terhadap oxacillin

sebanyak 64 isolat, cefoxitin sebanyak 8 isolat, tetrasiklin sebanyak 57 isolat, eritromisin sebanyak 18 isolat, dan gentamisin sebanyak 5 isolat. Pada profil *multidrug resistant* (MDR) isolat *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap ≥ 3 golongan antibiotik ditemukan sebanyak 15 isolat. Sedangkan pada profil *multidrug resistant* (MDR) isolat *Coagulase-Negative Staphylococci* (CoNS) yang resisten terhadap ≥ 3 golongan antibiotik ditemukan sebanyak 8 isolat.

Pada pemeriksaan *oxacillin resistance screening agar base* (ORSAB) ditemukan sebanyak 75 isolat *Staphylococcus aureus* yang bersifat *presumptive* MRSA. Pada pemeriksaan molekuler menggunakan PCR ditemukan 9 isolat MRSA yang terdeteksi memiliki gen *mecA*, namun tidak ditemukan isolat MRSA yang terdeteksi memiliki gen *mecC*. Pada analisis nukleotida terlihat bahwa sekuens isolat *EastJava/2022/HS/SA/mecA* dan *EastJava/2022/DC/SA/mecA* identik satu sama lain, tidak terlihat adanya variasi nukleotida pada kedua sekuens isolat asal Jawa Timur. Pada analisis homologi menunjukkan nilai homologi yang tinggi (100%) antara sekuens isolat *EastJava/2022/HS/SA/mecA* dan *EastJava/2022/DC/SA/mecA* dengan 7 sekuens *Staphylococcus aureus penicillin-binding protein 2A (mecA) gene partial cds* asal India, Mesir, dan Iran. Pada pohon filogenetik menunjukkan isolat *EastJava/2022/HS/SA/mecA* dan *EastJava/2022/DC/SA/mecA* berada satu kluster dengan 7 sekuens *Staphylococcus aureus penicillin-binding protein 2A (mecA) gene partial cds* asal India (MT084363.1, MT084364.1 dan MT745766.1), Mesir (MN938919.1 dan MN938920.1) dan Iran (MW052032.1 dan MW052037.1), selaras dengan nilai analisis homologi.

Pada hasil penelitian ini dengan ditemukannya isolat MRSA pembawa gen *mecA* pada susu sapi perah dan swab tangan peternak, maka perlu dilakukannya evaluasi secara komprehensif mengenai kebersihan pemerahan, penanganan susu dan produk susu, penggunaan antibiotik yang bijak, dan manajemen sanitasi untuk mengendalikan terjadinya transmisi penularan MRSA antar peternak dan sapi perah. Salah satu faktor resiko yaitu *unhygienic practices* selama proses pemerahan memiliki peran yang cukup besar dalam kejadian *food poisoning* oleh mikroorganisme seperti MRSA. Dalam penelitian ini juga terdapat prospek kebaruan yaitu untuk menemukan adanya kekerabatan genetik antara gen *mecA* penyandi MRSA dari susu sapi perah dengan gen *mecA* penyandi MRSA dari peternak melalui analisis pohon filogenetik.

SUMMARY

KINSHIP ANALYSIS OF THE *mecA* GENE ENCODING METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA) SOURCED FROM DAIRY COWS AND HAND SWABS OF FARMERS AT DAIRY FARMS IN EAST JAVA

Cow's milk is a food ingredient of animal origin that has the potential to transmit various pathogenic bacteria that can have an impact on the public health sector known as milk borne disease (MBD). According to the Central Statistics Agency, in 2021, the fresh milk production of East Java Province occupies the top position in Indonesia. Several Village Unit Cooperatives (KUD) which are the largest fresh cow milk producing centers in East Java are KUD Argopuro, Probolinggo Regency, KUD Tani Wilis, Tulungagung Regency, and KUD Semen, Blitar Regency. The bacterium *Staphylococcus aureus*, which is often the cause of mastitis cases, is widely known because of its multidrug resistant (MDR) nature and resistance to β -lactam antibiotics commonly known as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain is mediated by the *mecA* gene and the *mecC* gene. The incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection can be a public health problem, for this reason, laboratory tests, molecular detection, and sequence analysis of the *mecA* gene are needed to prove that the cow is a reservoir for the emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains.

A total of 457 samples were collected in this study consisting of 332 milk samples and 125 farmer hand swab samples taken from dairy farms in the KUD Argopuro, KUD Tani Wilis, and KUD Semen areas. The results of the California Mastitis Test (CMT) in this study showed that of the 332 dairy cows (1,328 quarters) that had been tested for the California Mastitis Test (CMT), 59 of them showed positive results for subclinical mastitis (17.77%). Meanwhile, the results of isolation and identification in this study showed that from a total of 457 samples, 291 isolates were positive for *Staphylococcus aureus* (63.68%) and 166 isolates were confirmed to be Coagulase-Negative Staphylococci (36.32%).

In the test of resistance of *Staphylococcus aureus* isolates to antibiotics, 112 isolates were shown to be resistant to oxacillin, 35 isolates to cefoxitin, 100 isolates to tetracycline, 46 isolates to erythromycin, and 16 isolates to gentamicin. Meanwhile, the resistance test of Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) isolates to antibiotics showed 64 isolates were resistant to oxacillin, 8 isolates to cefoxitin, 57 isolates to tetracycline, 18 isolates to erythromycin, and 5 isolates to gentamicin. In the multidrug resistant (MDR) profile, 15 isolates of *Staphylococcus aureus* were found that were resistant to 3 groups of antibiotics. Meanwhile, in the multidrug

resistant (MDR) profile, 8 isolates of Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) which were resistant to 3 antibiotics were found.

In the examination of oxacillin resistance screening agar base (ORSAB), 75 isolates of *Staphylococcus aureus* were found which were presumptive MRSA. On molecular examination using PCR, it was found that 9 MRSA isolates were detected to have the *mecA* gene, but no MRSA isolates were detected to have the *mecC* gene. The nucleotide analysis showed that the MRSA isolate sequences on the farmer's hand swabs (EastJava/2022/HS/SA/*mecA*) and the MRSA isolate sequences in milk (EastJava/2022/DC/SA/*mecA*) were identical to each other, there was no nucleotide variation. in both isolate sequences from East Java. Homology analysis showed a high homology value (100%) between the isolate sequences EastJava/2022/HS/SA/*mecA* and EastJava/2022/DC/SA/*mecA* with 7 sequences of *Staphylococcus aureus* penicillin-binding protein 2a (*mecA*) gene partial cds from India, Egypt, and Iran. The phylogenetic tree shows that the isolates EastJava/2022/HS/SA/*mecA* and EastJava/2022/DC/SA/*mecA* are in the same cluster with 7 sequences of *Staphylococcus aureus* penicillin-binding protein 2a (*mecA*) gene from India (MT084363.1, MT084364. 1 and MT745766.1), Egypt (MN938919.1 and MN938920.1) and Iran (MW052032.1 and MW052037.1), aligned with the homology analysis values.

In the results of this study, with the discovery of MRSA isolates carrying the *mecA* gene in dairy cow's milk and farmer's hand swabs, it is necessary to carry out a comprehensive evaluation of milking hygiene, handling of milk and dairy products, wise use of antibiotics, and sanitation management to control the transmission of MRSA transmission between farmers and dairy cows. One of the risk factors, namely unhygienic practices during the milking process, has a significant role in the incidence of food poisoning by microorganisms such as MRSA. In this study, there is also a novelty prospect, namely to find a genetic relationship between the *mecA* gene encoding MRSA from dairy cows and the *mecA* gene encoding MRSA from farmers through phylogenetic tree analysis.

ANALISIS KEKERABATAN GEN *mecA* PENYANDI METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA) YANG BERSUMBER DARI SAPI PERAH DAN SWAB TANGAN PETERNAK DI PETERNAKAN SAPI PERAH JAWA TIMUR

Aswin Rafif Khairullah

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang paling umum diisolasi dari susu sapi perah. Salah satu faktor resiko timbulnya kontaminasi *Staphylococcus aureus* pada susu yaitu karena tangan peternak yang kurang bersih saat melakukan pemerahan susu. *Staphylococcus aureus* yang memiliki sifat *multidrug resistant* (MDR) dapat disebut sebagai *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) jika bakteri tersebut resisten terhadap antibiotik β -laktam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis sekuen gen penyandi strain MRSA yang bersumber dari susu dan swab tangan peternak di peternakan sapi perah Jawa Timur. Sebanyak 332 sampel susu dan 125 sampel swab tangan peternak diambil dari peternakan sapi perah di wilayah KUD Argopuro, KUD Tani Wilis, dan KUD Semen. Hasil pemeriksaan isolasi dan identifikasi dari sampel ditemukan *Staphylococcus aureus* sebanyak 291 isolat dan *Coagulase-Negative Staphylococci* (CoNS) sebanyak 166 isolat. Hasil pemeriksaan resistensi ditemukan *Staphylococcus aureus* bersifat MDR sebanyak 15 isolat dan *Staphylococcus aureus* bersifat MRSA sebanyak 75 isolat. Hasil pemeriksaan molekuler pada isolat MRSA ditemukan 9 isolat membawa gen *mecA* namun tidak ditemukan isolat MRSA yang membawa gen *mecC*. Hasil sekuensing menunjukkan bahwa gen *mecA* dari isolat MRSA pada swab tangan peternak dan gen *mecA* dari isolat MRSA pada susu bersifat identik satu sama lain. Hasil pohon filogenetik menunjukkan gen *mecA* dari isolat MRSA pada swab tangan peternak dan gen *mecA* dari isolat MRSA pada susu berada satu kluster dengan 7 sekuens *Staphylococcus aureus penicillin-binding protein 2a (mecA)* gene asal India, Mesir, dan Iran. Pada hasil penelitian ini dengan ditemukannya isolat MRSA pembawa gen *mecA* pada susu sapi perah dan swab tangan peternak, maka perlu dilakukannya evaluasi secara komprehensif mengenai kebersihan pemerahan, penanganan susu dan produk susu, penggunaan antibiotik yang bijak, dan manajemen sanitasi untuk mengendalikan terjadinya transmisi penularan MRSA antar peternak dan sapi perah.

Kata kunci: Susu, swab tangan peternak, *Staphylococcus aureus*, MDR, MRSA, *mecA*, *mecC*

KINSHIP ANALYSIS OF THE *mecA* GENE ENCODING METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA) SOURCED FROM DAIRY COWS AND HAND SWABS OF FARMERS AT DAIRY FARMS IN EAST JAVA

Aswin Rafif Khairullah

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is the most common pathogenic bacteria isolated from dairy cow's milk. One of the risk factors for *Staphylococcus aureus* contamination in milk is because the hands of farmers are not clean when milking dairy cows. *Staphylococcus aureus* that is multidrug resistant (MDR) can be called methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) if the bacteria are resistant to β -lactam antibiotics. This study aims to identify and analyze gene sequences encoding MRSA strains sourced from milk and hand swabs of farmers in East Java dairy farms. A total of 332 milk samples and 125 farmer hand swab samples were taken from dairy farms in the areas of KUD Argopuro, KUD Tani Wilis, and KUD Semen. The results of the isolation and identification examination of the sample found 291 isolates of *Staphylococcus aureus* and 166 isolates of Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS). The results of the resistance examination found that 15 isolates of *Staphylococcus aureus* were MDR and 75 isolates of *Staphylococcus aureus* were MRSA. Molecular examination results on MRSA isolates found 9 isolates carrying the *mecA* gene but no MRSA isolates carrying the *mecC* gene were found. The results of the sequencing showed that the *mecA* gene from MRSA isolate in farmer's hand swabs and the *mecA* gene from MRSA isolate in milk were identical to each other. The results of the phylogenetic tree shows that the *mecA* gene from MRSA isolate on farmer's hand swabs and the *mecA* gene from MRSA isolate in milk is in a cluster with 7 sequences of *Staphylococcus aureus* penicillin-binding protein 2a (*mecA*) gene from India, Egypt, and Iran. In the results of this study, with the discovery of MRSA isolates carrying the *mecA* gene in dairy cow's milk and farmer's hand swabs, it is necessary to carry out a comprehensive evaluation of milking hygiene, handling of milk and dairy products, wise use of antibiotics, and sanitation management to control the transmission of MRSA transmission between farmers and dairy cows.

Keywords: Milk, farmer's hand swab, *Staphylococcus aureus*, MDR, MRSA, *mecA*, *mecC*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DALAM	i
PRASYARAT GELAR.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PANITIA PENGUJI	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN	xi
SUMMARY	xiii
ABSTRAK	xv
ABSTRACT.....	xvi
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR GAMBAR	xxii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiii
SINGKATAN ARTI DAN LAMBANG	xxiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.5.1 Manfaat Teori	7
1.5.2 Manfaat Praktis.....	8
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 9
2.1 Koperasi Unit Desa (KUD)	9
2.1.1 KUD Argopuro.....	9
2.1.2 KUD Tani Wilis	10
2.1.3 KUD Semen.....	11
2.2 Sapi Perah <i>Friesian holstein</i> (FH)	11
2.3 Susu.....	12
2.4 Mastitis Pada Sapi Perah.....	15
2.5 <i>Staphylococcus</i> sp	16
2.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.5.1.1 Taxonomi.....	19
2.5.1.2 Etiologi	19

2.5.1.3 Epidemiologi	20
2.5.1.4 Patogenitas.....	22
2.5.1.4.1 Hemolisin.....	22
2.5.1.4.2 Koagulase	23
2.5.1.4.3 <i>Panton-Valentine leukocidin (PVL)</i>	24
2.5.1.4.4 Protein A.....	26
2.5.1.4.5 Kapsul Polisakarida	27
2.5.2 <i>Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS)</i>	27
2.5.2.1 Taxonomi.....	28
2.5.2.2 Etiologi	29
2.5.2.3 Epidemiologi	30
2.5.2.4 Patogenitas.....	31
2.5.2.4.1 Plasmid dan Transposon.....	32
2.5.2.4.2 Bakteriofag	32
2.5.2.4.3 Protein Permukaan (<i>Surface Proteins</i>)	32
2.5.2.4.4 Kapsul Polisakarida	33
2.6 <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)</i>	35
2.6.1 Etiologi	37
2.6.2 Mekanisme Resistensi MRSA.....	37
2.6.3 Gen <i>mecA</i>	39
2.6.4 Gen <i>mecC</i>	41
2.6.5 Epidemiologi	43
2.6.6 Transmisi	45
2.6.6.1 Transmisi Pada Manusia.....	46
2.6.6.2 Transmisi Pada Hewan	47
2.6.7 Faktor Resiko.....	48
2.6.8 Dampak Pada Kesehatan Masyarakat	50
2.7 Antibiotik	52
2.7.1 Resistensi Antibiotik	53
2.7.2 Oxacillin	54
2.7.3 Cefoxitin.....	55
2.7.4 Tetrasiklin.....	56
2.7.5 Eritomisin	58
2.7.6 Gentamisin.....	60
2.8 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	61
2.8.1 Prinsip Kerja PCR	62
2.8.1.1 Denaturasi.....	62
2.8.1.2 Penempelan Primer (<i>Annealing</i>).....	62
2.8.1.3 Pemanjangan Primer (<i>Extention</i>).....	63
2.8.2 Komponen PCR.....	64
2.8.3 Prinsip Kerja Gel Elektroforesis.....	64
2.8.4 Signifikansi Klinis	66

2.9 Sekuensing	67
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	69
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	69
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian.....	70
BAB 4 MATERI DAN METODE	75
4.1 Rancangan Penelitian.....	75
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	76
4.2.1 Populasi Penelitian	76
4.2.2 Sampel Penelitian	76
4.3 Definisi Operasional Penelitian	77
4.4 Bahan Penelitian	79
4.5 Alat Penelitian.....	80
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	81
4.7 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	82
4.7.1 Persiapan dan Proses Pengambilan Sampel Susu.....	82
4.7.2 Persiapan dan Proses Pengambilan Sampel Swab Tangan.....	83
4.7.3 Uji Kualitas Susu Dengan <i>California Mastitis Test</i> (CMT).....	84
4.7.4 Isolasi dan Identifikasi Bakteri <i>S. aureus</i> dan CoNS	85
4.7.4.1 Identifikasi Mikroskopis Dengan Pewarnaan Gram	85
4.7.4.2 Uji Katalase	86
4.7.4.3 Uji Koagulase	87
4.7.4.4 Pembuatan Suspensi <i>S. aureus</i> dan CoNS.....	88
4.7.5 Uji Sensitivitas Bakteri <i>S. aureus</i> dan CoNS	88
4.7.6 Uji <i>Screening</i> MRSA.....	89
4.7.7 Ekstraksi DNA <i>Staphylococcus aureus</i>	90
4.7.4.1 Amplifikasi Gen <i>mecA</i> dan <i>mecC</i> <i>S. aureus</i>	90
4.7.4.2 Intepretasi Produk Amplifikasi Gen	91
4.7.8 Sekuensing.....	91
4.7.9 BLAST	92
4.7.10 Pohon Filogenetik	92
4.8 Analisis Data.....	93
4.9 Kerangka Operasional Penelitian.....	94
BAB 5 HASIL PENELITIAN	95
5.1 Hasil Pemeriksaan <i>California Mastitis Test</i> (CMT)	95
5.2 Hasil Isolasi dan Identifikasi.....	99
5.2.1 Uji Pewarnaan Gram	101
5.2.2 Uji Biokimia	103
5.2.2.1 Uji Katalase	103
5.2.2.2 Uji Koagulase	104

5.3	Profil Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik.....	108
5.3.1	Uji Resistensi Isolat <i>S. aureus</i> Terhadap Antibiotik	108
5.3.2	Uji Resistensi Isolat CoNS Terhadap Antibiotik.....	111
5.3.3	Profil MDR Isolat <i>S. aureus</i>	114
5.3.4	Profil MDR Isolat CoNS	116
5.4	Uji <i>Screening Presumptive</i> MRSA	118
5.5	Deteksi Molekuler Gen Penyandi Isolat MRSA	120
5.5.1	Deteksi Gen <i>mecA</i>	120
5.5.2	Deteksi Gen <i>mecC</i>	124
5.6	Pemeriksaan Sekuensing Isolat MRSA	127
5.6.1	Analisis Nukleotida Gen <i>mecA</i>	128
5.6.2	Analisis Homologi Gen <i>mecA</i>	132
5.6.3	Pohon Filogenetik Gen <i>mecA</i>	134
BAB 6	PEMBAHASAN	136
6.1	Pemeriksaan Susu Sapi Perah Dengan Uji CMT	136
6.2	Isolasi dan Identifikasi Bakteri	138
6.2.1	Uji Pewarnaan Gram	142
6.2.2	Uji Biokimia	143
6.2.2.1	Uji Katalase	143
6.2.2.2	Uji Koagulase	144
6.3	Profil Resistensi Isolat <i>S. aureus</i> dan CoNS Terhadap Antibiotik	146
6.3.1	Uji Resistensi <i>S. aureus</i> dan CoNS Terhadap Antibiotik.....	148
6.3.2	<i>Multidrug Resistant</i> (MDR) Isolat <i>S. aureus</i> dan CoNS	158
6.4	Uji <i>Screening</i> MRSA	160
6.5	Deteksi Molekuler Isolat MRSA	163
6.5.1	Deteksi Gen Penyandi <i>mecA</i> dan <i>mecC</i> Isolat MRSA.....	164
6.6	Analisis Hasil Sekuensing dan Filogenetik.....	167
6.7	Kebaruan Penelitian	172
BAB 7	KESIMPULAN.....	173
7.1	Kesimpulan	173
7.2	Saran	174
DAFTAR PUSTAKA		175
LAMPIRAN		249

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi susu sapi	13
2.2 Kandungan nutrisi susu sapi	15
2.3 Karakteristik biokimia <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.4 Karakteristik biokimia <i>Coagulase-Negative Staphylococci</i> (CoNS).....	29
4.1 Target gen beserta primer pada analisis gen <i>mecA</i> dan <i>mecC</i>	80
4.2 Interpretasi pengukuran zona hambat berdasarkan ketentuan CLSI	89
5.1 Hasil Penilaian Pemeriksaan <i>California Mastitis Test</i> (CMT).....	96
5.2 Tingkat kejadian mastitis subklinis	98
5.3 Jumlah sampel positif <i>presumptive Staphylococcus aureus</i>	100
5.4 Jumlah pewarnaan Gram	102
5.5 Jumlah sampel positif katalase	103
5.6 Jumlah sampel positif koagulase dan negatif koagulase	105
5.7 Hasil isolasi dan identifikasi konfirmasi bakteri secara keseluruhan	107
5.8 Hasil uji resistensi isolat <i>Staphylococcus aureus</i>	108
5.9 Hasil uji resistensi isolat <i>Coagulase-Negative Staphylococci</i>	111
5.10 Jumlah sampel positif <i>multidrug resistant</i> dari isolat <i>S. aureus</i>	114
5.11 Profil resistensi isolat <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotik.....	115
5.12 Jumlah sampel positif <i>multidrug resistant</i> dari isolat CoNS	116
5.13 Profil resistensi isolat CoNS terhadap antibiotik.....	117
5.14 Hasil konfirmasi MRSA dengan uji ORSA.....	118
5.15 Hasil deteksi gen <i>mecA</i> dari isolat MRSA	120
5.16 Hasil deteksi gen <i>mecC</i> dari isolat MRSA	124
5.17 Nilai homologi antara isolat.....	133

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Sapi perah <i>Friesian holstein</i>	12
2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> yang diamati melalui mikroskop.....	19
2.3 Penemuan gen <i>mecC</i> di wilayah Eropa.....	42
2.4 Struktur kimia antibiotik oxacillin	54
2.5 Struktur kimia antibiotik cefoxitin.....	55
2.6 Struktur kimia antibiotik tetrasiklin	56
2.7 Struktur kimia antibiotik eritromisin	58
2.8 Struktur kimia antibiotik gentamisin	60
3.1 Kerangka konseptual penelitian	69
4.1 Pengambilan sampel susu sapi perah.....	83
4.2 Media amies untuk pengambilan sampel swab tangan peternak	84
4.3 Kerangka operasional penelitian.....	94
5.1 Hasil pemeriksaan <i>California Mastitis Test</i> (CMT)	99
5.2 Hasil pemurnian koloni <i>presumptive S. aureus</i> pada media MSA	101
5.3 Gambaran uji pewarnaan Gram pada isolat <i>presumptive S. aureus</i>	102
5.4 Hasil uji katalase isolat <i>presumptive Staphylococcus aureus</i>	104
5.5 Hasil uji koagulase <i>microcentrifuge tube</i> isolat <i>presumptive S. aureus</i> .	106
5.6 Hasil uji koagulase TCT isolat <i>presumptive S. aureus</i>	106
5.7 Hasil uji resistensi isolat <i>Staphylococcus aureus</i>	109
5.8 Hasil uji resistensi <i>S. aureus</i> terhadap antibiotik pada media MHA	110
5.9 Hasil uji resistensi isolat <i>Coagulase Negative Staphylococci</i>	112
5.10 Hasil uji resistensi CoNS terhadap antibiotik pada media MHA	113
5.11 Hasil uji ORSAB pada isolat <i>presumptive MRSA</i>	119
5.12 Deteksi gen penyandi <i>mecA</i> isolat MRSA pada KUD Argopuro	121
5.13 Deteksi gen penyandi <i>mecA</i> isolat MRSA pada KUD Tani Wilis	122
5.14 Deteksi gen penyandi <i>mecA</i> isolat MRSA pada KUD Semen.....	123
5.15 Deteksi gen penyandi <i>mecC</i> isolat MRSA pada KUD Argopuro	125
5.16 Deteksi gen penyandi <i>mecC</i> isolat MRSA pada KUD Tani Wilis.....	126
5.17 Deteksi gen penyandi <i>mecC</i> isolat MRSA pada KUD Tani Semen	127
5.18 <i>Multiple alignment</i> susunan nukleotida dari isolat	129
5.19 Pohon filogenetik <i>Maximum Likelihood</i> dari sekuensing	135

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Data Populasi Sapi Perah, KUD Argopuro, per Januari 2022	249
2 Data Populasi Sapi Perah, KUD Tani Wilis, per Januari 2022	250
3 Data Populasi Sapi Perah, KUD Semen, per Januari 2022	252
4 Data Pemeriksaan CMT dan Kode Sampel, KUD Argopuro.....	253
5 Data Pemeriksaan CMT dan Kode Sampel, KUD Tani Wilis	257
6 Data Pemeriksaan CMT dan Kode Sampel, KUD Semen	261
7 Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri, KUD Argopuro	265
8 Hasil Uji Resistensi Bakteri, KUD Argopuro	271
9 Hasil Uji Konfirmasi MRSA, KUD Argopuro.....	278
10 Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri, KUD Tani Wilis.....	284
11 Hasil Uji Resistensi Bakteri, KUD Tani Wilis.....	291
12 Hasil Uji Konfirmasi MRSA, KUD Tani Wilis	298
13 Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri, KUD Semen.....	305
14 Hasil Uji Resistensi Bakteri, KUD Semen.....	311
15 Hasil Uji Konfirmasi MRSA, KUD Semen	318
16 Tabel Sekuens Konsensus A_mecA dan B_mecA	324
17 Daftar sekuens pembandingan yang digunakan dan informasinya	325
18 <i>Pairwise Alignment</i> Isolat <i>EastJava/2022/HS/SA/mecA</i>	327
19 <i>Pairwise Alignment</i> Isolat <i>EastJava/2022/DC/SA/mecA</i>	332
20 Dokumentasi Kegiatan Lapangan	337
21 Dokumentasi Pemeriksaan Sampel di Laboratorium Kesmavet	340
22 Dokumentasi Pemeriksaan Molekuler di Laboratorium Biomol	344
23 Daftar Publikasi Ilmiah	346

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

α	= Alfa
β	= Beta
δ	= Omega
γ	= Gama
%	= Persen
°C	= Celcius
μ l	= Mikroliter
μ m	= Mikrometer
bp	= Base pair
BLAST	= Basic local alignment search tool
BLASTN	= Basic local alignment search tool for nucleotide sequence
BLASTX	= Basic local alignment search tool for nucleotide to protein
BPW	= Buffer pepton water
CA-MRSA	= Community acquired methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
CC	= Clonal complex
<i>ccr</i>	= Cassette chromosome recombinase
<i>cds</i>	= Coding sequence
CFU/ml	= Colony Forming Unit's / milliliter
CLA	= Conjugated linoleic acid
CLSI	= Clinical and laboratory standards institute
CMT	= California mastitis test
CoNS	= Coagulase-Negative Staphylococci
CP	= Capsular polysaccharide
Cytc	= Cytochrome
Da	= Dalton
DNA	= Deoxyribonucleic acid
DNase	= Deoxyribonuclease

dNTP	= Deoksiribonukleotida trifosfat
EDTA	= Ethylene diamine tetra-acetic acid
ESBL	= Extended spectrum beta lactamase
FBD	= Food borne disease
FH	= <i>Friesian Holstein</i>
H ₂ O ₂	= Hydrogen peroxide
HA-MRSA	= Hospital acquired methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
HPDCAAS	= High protein digestibility-corrected amino acid score
IDNS	= Integrated database network system
IEC	= Immune evasion cluster
Ig	= Immunoglobulin
IL	= Interleukin
Kb	= Kilo bytes
kD	= Kilo dalton
KUD	= Koperasi Unit Desa
LA-MRSA	= Livestock associated methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
LDH	= Lactic dehydrogenase
LDL	= Low-density lipoprotein
mA	= Milliampere
MBD	= Milk borne disease
MDR	= Multidrug resistance
MEGA	= Molecular evolutionary genetics analysis
MFGM	= Milk fat globule membrane
mg	= Miligram
MHA	= Mueller Hinton Agar
MIC	= Minimum inhibitory concentration
ml	= Mililiter
mm	= Milimeter
mM	= Mikromolar

MSA	= Manitol Salt Agar
MSSA	= Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>
mRNA	= Messenger RNA
MRSA	= Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	= Sodium chloride
NB	= Nutrient Broth
NCBI	= National Center for Biotechnology Information
O ₂	= Oxygen
OS-MRSA	= Oxacillin-susceptible methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
ori	= Origin of replication
ORSAB	= Oxacillin Resistance Screening Agar Base
PBP	= Penicillin Binding Proteins
PCR	= Polymerase chain reaction
PFGE	= Pulsed Field Gel Electrophoresis
pH	= Power of hydrogen
PIA	= Polysaccharide intracellular adhesin
PMN	= Polimorfonuklear
PS/A	= Polysaccharide/adhesin
PVL	= Panton-Valentine leukocidin
RDP	= Ribosomal database project
RIDOM	= Ribosomal Differentiation of Medical Microorganisms
RNA	= Ribonucleic acid
rpm	= Revolutions per minute
RPP	= Ribosomal protection protein
rRNA	= Ribosome-ribonucleic acid
RTF	= Resistance transfer factor
SCC _{mec}	= Staphylococcal cassette chromosome <i>mec</i>
SE	= Staphylococcal enterotoxin
SFP	= Staphylococcus Food Poisoning

SHU	= Sistem Hasil Usaha
SNI	= Standar Nasional Indonesia
sp	= Species
spa	= Staphylococcal protein A
SSP	= Sistem saraf pusat
ST	= Sequence type
STR	= Short Tandem Repeats
TBE	= Tris-borate-EDTA
TCT	= Tube coagulase test
TE	= Tris-EDTA
TNF	= Tumor necrosis factor
TPC	= Total plate count
tRNA	= Transfer RNA
VISA	= Vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	= Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>