

ANKARA ÜNİVERSİTESİ HASTANESİNDE 2002-2005 YILLARI ARASINDA KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARININ MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ*

MOLECULAR CHARACTERISTICS OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS ISOLATED FROM BLOOD CULTURES BETWEEN 2002-2005 IN ANKARA UNIVERSITY HOSPITAL

Alper TEKELİ¹, Esra KOYUNCU¹, Iştar DOLAPÇI¹, Özay ARIKAN AKAN², Zeynep Ceren KARAHAN¹

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. (atekeli@medicine.ankara.edu.tr)

² Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbn-i Sina Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Ankara.

ÖZET

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesinde 2002-2005 yılları arasında hastanede yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen 100 adet metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşunun antibiyotik duyarlılıkları, Panton-Valentine lökositidin (PVL) ve toksin (enterotoksin A-J ve toksik şok sendromu toksini) gen özellikleri, *agr* ve stafilokokal kaset kromozom (SCC*mec*) gen tipleri ve PFGE (pulsed field gel electrophoresis) profillerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri yarı-otomatize sistem (miniAPI-Biomerieux) ile; PVL, *mecA* ve toksin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *tst*) genlerinin araştırılması polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile, SCC*mec* ve *agr* tiplendirmesi ise multipleks PCR ile gerçekleştirilmiştir. İzolatlarda aminoglikozid ve tetrasikline %91, siprofloksasine %93, rifampine %92, eritromisine %79 ve trimetoprim-sülfametoksazole %8 oranında direnç saptanırken tüm izolatlar vankomisine duyarlı bulunmuştur. İzolatların tümünde *mecA* gen varlığı belirlenmiş; PVL pozitifliğine ise rastlanmamıştır. En sık saptanan enterotoksin geni *sea* (%77) olmuştur. SCC*mec* tiplendirmesinde 84 (%84) izolatın tip III ve *agr* tiplendirmesinde 91 (%91) izolatın tip I olduğu belirlenmiştir. PFGE tiplendirmesinde dört farklı profil (A, B, C, D) gözlenmiş ve izolatların %97'sinin A paternini oluşturduğu gözlenmiştir. Seçilen beş örnekten (patern A'dan iki suş, patern B, C ve D'den birer suş) MLST (Multilocus Sequence Typing) yöntemi ile yapılan dizi analizi sonucunda bu izolatların sekans tip (ST) 239 olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ile hastanemizde baskın olan MRSA klonunun özelliklerinin; SCC*mec* tip III, *agr* tip I, PVL negatif, *sea* pozitif ve ST 239 olduğu görülmüştür. Ancak hastanemize ait olan bu

* Çalışmanın PVL genlerinin araştırılması bölümü, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 20050809006HPPD).

bulgular ülke genelini yansıtmayacağından, Türkiye’de hakim olan hastane kaynaklı MRSA izolatlarının klonal özelliklerinin ortaya konulması için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, stafilokokal kaset kromozom *mec*, toksin genleri, moleküler epidemiyoloji.

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the antimicrobial susceptibility, Panton Valentine leucocidin (PVL) and toxin (enterotoxin A-J, staphylococcal toxic shock toxin) genes, *agr* types, staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) types and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) profiles of a total of 100 non-duplicate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bloodstream isolates collected between 2002-2005 at Ankara University İbn-i Sina Hospital. Antimicrobial susceptibilities were investigated by a semi-automated system (miniAPI, BioMerieux, France); PVL, *mecA* and toxin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *tst*) genes by polymerase chain reaction (PCR) and SCC*mec* and *agr* typing were performed by multiplex PCR. While all isolates were susceptible to vancomycin, aminoglycoside and tetracycline resistance was determined in 91%, ciprofloxacin in 93%, rifampin in 92%, erythromycin in 79% and trimethoprim-sulphamethoxazole in 8% of the isolates. *mecA* gene was detected in all of the isolates, however, PVL positive isolate was not detected. *sea* was the most frequently (77%) detected enterotoxin gene. SCC*mec* typing revealed type III in 84 (84%) and *agr* typing revealed type I in 91 (91%) of the isolates. Multilocus Sequence Typing (MLST) of five representative isolates (two isolates with pattern A, one isolate each from patterns B, C and D) revealed sequence type (ST) 239. This study documented that the dominant MRSA clone in our hospital had SCC*mec* type III, *agr* type 1, PVL negative, *sea* positive and of ST 239. Larger scale intercity and nation wide studies are needed to find out the clonal characteristics of hospital acquired MRSA in Turkey.

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, staphylococcal cassette chromosome *mec*, toxin gene, molecular epidemiology.

GİRİŞ

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), invaziv ya da toksin aracılı enfeksiyonlara yol açan bir patojendir^{1,2}. *S.aureus*, stafilokokal enterotoksinler (SE) A-J, K, L, M ve O, toksik şok sendromu toksini 1 (TSST-1), ekfoliyatif toksinler (ET) A, B ve D gibi çeşitli toksinlerin yanı sıra, hemolizinler (alfa, beta, gamma, teta) ve deri enfeksiyonları, nekrotizan pnömoni ve toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonları ile yakın ilişkili olan Panton-Valentine lökositini (PVL)’nin de dahil olduğu bazı lökositinler salgılamaktadır³⁻⁸. *S.aureus*’un birçok virülans faktörünün ekspresyonu, iki bileşenli sinyal yolunu kodlayan aksesuar gen regülatör (*agr*) lokusu tarafından kontrol edilir; iki bileşenli sinyal yolunun aktivatör ligandı olan yoğunluk duyarlı peptid de yine *agr* tarafından kodlanmaktadır⁷.

Dünyanın farklı bölgelerinde, MRSA enfeksiyonlarının yayılımından sorumlu az sayıda MRSA klonu bulunduğu, moleküler tiplendirme verileri ile ortaya konulmuştur^{1,2}. Bu çalışmanın amacı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesinde 2002-2005 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen MRSA suşlarının PFGE, SCC*mec* ve *agr* tiplendirmelerini yaparak hakim klonunun moleküler özelliklerini ortaya koymak ve PVL de dahil olmak üzere çeşitli toksinlerinin varlığını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteri İzolatları

2002-2005 yılları arasında, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesinin çeşitli kliniklerinde yatan hastaların kan örneklerinden izole edilen 100 adet MRSA izolatu çalışmaya alındı. Aynı hastaya ait tek örnek çalışmaya dahil edildi. Çalışmada pozitif kontrol olarak; HPV 107 (İber klonu), BK2464 (New York/Japonya klonu), HUSA 304 (Macar klonu), HSJ216 (Brezilya klonu), HDE288 (Pediatrik klon)⁹, GRE14 (PVL pozitif)¹⁰, NCTC 10442 (SCC*mec* tip I), N315 (SCC*mec* tip II), 8572082 (SCC*mec* tip III) ve JSCS 4744 (SCC*mec* tip IVA) suşları kullanıldı.

Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzolatların rifampin, eritromisin, trimetoprim-sülfametoksazol, siprofloksasin, aminoglikozid, tetrasiklin ve vankomisine karşı *in vitro* duyarlılıkları yarı-otomatize sistem ile (miniAPI-Biomerieux) araştırıldı.

PVL, *mecA* ve Toksin Genlerinin Saptanması

İzolatlarda PVL genleri Lina ve arkadaşları⁸, *mecA* geni Araj ve arkadaşları¹¹, stafilokokal enterotoksin A-J genleri (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei* ve *sej*) TSST-1 geni (*tst*) ise Monday ve arkadaşları¹² tarafından tarif edilen PCR yöntemleriyle gerçekleştirildi.

Tiplendirme

SCC*mec* tipleri (I, IA, II, III, IIIA, IIIB ve IV) Oliveira ve arkadaşları¹³ tarafından uygulanan multipleks PCR; *agr* tiplendirimi ise literatürde belirtildiği şekilde¹⁴ gruba özgül multipleks PCR yöntemiyle saptandı.

PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis)

Bu amaçla Mulvey ve arkadaşlarının¹⁵ uyguladıkları yöntem kullanıldı. DNA paternleri; %1.2'lik agaroz jelde, CHEF DR II (Bio-Rad Hercules, ABD) PFGE cihazında 6V/cm akım, 14°C sıcaklık ve 0.5X TBE içerisinde başlangıç ve final zamanları 5.3 ve 34.9 olacak şekilde 20 saat yürütülerek gösterildi. PFGE sonrasında oluşan DNA paternleri hem gözle hem de "Gene Directory Programme" (Syngene, UK) ile değerlendirildi. Benzerlik indeksi "Dice" katsayısı kullanılarak %1 tolerans değerinde oluşturuldu. İzolatlar arası kümelene ilişki UPGMA (unweighted pair group method of arithmetic averages) yöntemi kullanılarak gösterildi. İzolatlar arası genotipik ilişkinin göz ile değerlendirilmesinde Tenover ve arkadaşları¹⁶ tarafından belirlenen ilkeler benimsendi.

MLST (Multilocus Sequence Typing)

MLST, Enright ve arkadaşlarının¹ uyguladıkları yöntem ile gerçekleştirildi. Diziler, BigDye floresan kullanılarak ABI Prism 310 genetik analiz cihazı ile saptandı. Alel numaraları MLST web sitesi (<http://www.mlst.net>) kullanılarak ortaya konuldu. PFGE ile saptanan aynı klonal gruba ait izolatların, aynı veya benzer dizi tipine sahip olduğuna yönelik daha önce yapılan çalışmalar^{4,17-19} öngörülerek, MLST analizinde PFGE sonrası her grup için seçilen örnekler kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan izolatların beta-laktam olmayan 6 antibiyotik ile vankomisine karşı in vitro duyarlılık sonuçlarının yıllara göre dağılımı Tablo I'de, araştırılan genlerin varlığı ve dağılımı ise Tablo II'de gösterilmiştir. En sık saptanan toksin geni *sea* (%77) olmuş, 13 (%13) izolatta ise toksin geni saptanmamıştır (Tablo II) (Resim 1).

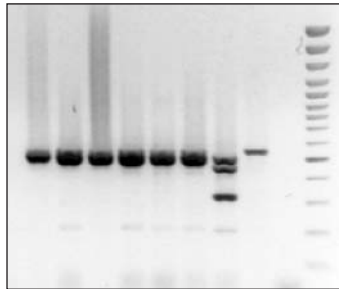
İzolatların SCCmec tiplendirmesi sonucu, en sık tip III'ün (%84) saptandığı izlenmiş, 10 izolat kullanılan yöntemle tiplendirilememiştir (Tablo III) (Resim 2). İzolatların *agr* tiplendirmesi sonunda ise, en sık tip I'e (%91) rastlanmış, 7 izolat ise tiplendirilememiştir (Tablo III) (Resim 3).

İzolatların 6 bant farklılığa kadar aynı tip içerisinde yer aldıkları görüşü doğrultusunda değerlendirilen 100 izolatın 97'sinin, 6 alt tip (A1-A6) ile birlikte A paternini oluşturduğu, kalan 3 izolatın ise A paterninden 6 bant farklılığı ile birbirleriyle ilişkisiz 3 farklı PFGE paterni (B, C, D) oluşturdukları gözlenmiştir (Tablo II) (Resim 4). Ana A paterni ile birlikte alt tipler ve diğer paternlerin uluslararası klonlar ile benzerlikleri gösterilmiştir (Resim 5). Gene Directory programında yapılan görsel değerlendirme ile de aynı sonuçlar elde edilmiştir. Patern A'dan 2; B, C ve D paternlerinden birer olmak üzere seçilen 5 izolatın MLST analizi sonucunda bu izolatların ST 239 klonunda yer aldıkları görülmüştür.

Tablo I. İzolatların Çalışılan Antibiyotiklere Karşı Yıllara Göre Direnç Oranlarının Dağılımı

Yıl (çalışılan izolat sayısı)	Antibiyotik Dirençli izolat sayısı (Direnç %)						
	Rif	E	SXT	Cip	AG	Tet	Van
2002 (23)	20 (86.9)	16 (69.5)	2 (8.6)	19 (82.6)	19 (82.6)	22 (95.6)	0
2003 (16)	16 (100)	14 (87.5)	0	16 (100)	14 (87.5)	14 (87.5)	0
2004 (34)	30 (88.2)	31 (91.1)	5 (14.7)	32 (94.1)	32 (94.1)	29 (85.2)	0
2005 (27)	26 (96.2)	18 (66.6)	1 (3.7)	26 (96.2)	26 (96.2)	26 (96.2)	0
Toplam (100)	92 (92)	79 (79)	8 (8)	93 (93)	91 (91)	91 (91)	0

Rif: Rifampin, E: Eritromisin, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol, Cip: Siprofloksasin, AG: Aminoglikozid (çoğunlukla gentamisin), Tet: Tetrasiklin, Van: Vankomisin.



Resim 1. MRSA izolatlarında toksin gen varlığı. Hat 1-6: Enterotoksin A; Hat 7: Enterotoksin A + G + I; Hat 8: TSST; Hat 9: Negatif kontrol; Hat 10: Moleküler büyüklük belirteci (Generuler 100bp DNA ladder plus, Fermentas).

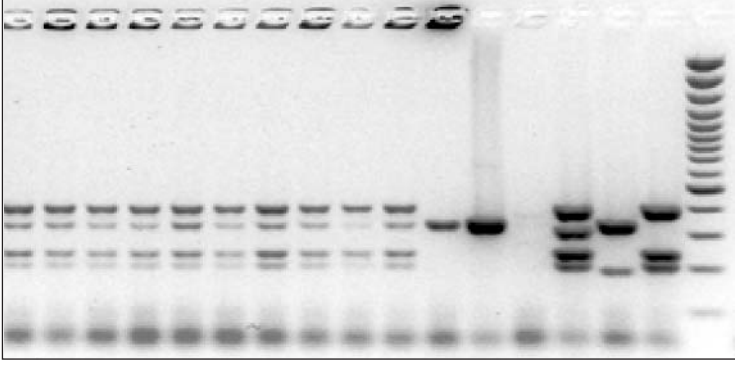
Tablo II. Yıllara Göre İzolatlarda Çalışılan Genlerin Varlığı ve PFGE Paternleri

Yıl (n)	mecA n (%)	PVL n (%)	Toksin genleri n (%)							PFGE	
			sea	sea + seg	sea + seg + sec	seg + sei	tsst	sea + seg + sei	Gen yok		
2002 (23)	23 (100)	0	19 (82.6)	2 (8.6)	1 (4.3)	0	0	0	0	1 (4.3)	A
2003 (16)	16 (100)	0	13 (81.2)	0	0	1 (6.2)	1 (6.2)	0	0	1 (6.2)	A + B
2004 (34)	34 (100)	0	25 (73.5)	2 (5.8)	0	0	0	1 (2.9)	1 (2.9)	5 (14.7)	A + C + D
2005 (27)	27 (100)	0	20 (74)	0	0	1 (3.7)	0	0	0	6 (22.2)	A
Toplam	100 (100)	0	77 (77)	4 (4)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	13 (13)	

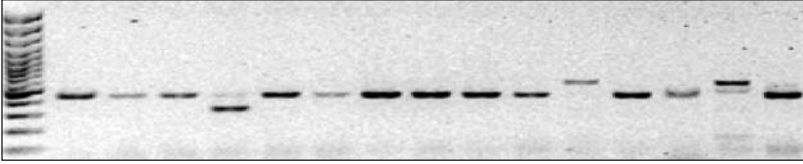
Tablo III. Yıllara Göre İzolatların SCCmec ve agr Tiplendirme Sonuçları

Yıl (n)	SCCmec tipi n (%)							agr tipi n (%)				
	IA	II	III	IIIA	IIIB	IIIC	NT	I	II	III	IV	NT
2002 (23)	0	0	21 (91.3)	0	1 (4.3)	1 (4.3)	0	22 (95.6)	1 (4.3)	0	0	0
2003 (16)	1 (6.2)	1 (6.2)	13 (81.2)	0	1 (6.2)	0	0	15 (93.7)	0	0	0	1 (6.2)
2004 (34)	0	0	24 (70.5)	1 (2.9)	1 (2.9)	8 (23.5)	0	27 (79.4)	0	1 (2.9)	0	6 (17.6)
2005 (27)	0	0	26 (96.2)	0	0	1 (3.7)	0	27 (100)	0	0	0	0
Toplam	1 (1)	1 (1)	84 (84)	1 (1)	3 (3)	10 (10)	91 (91)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0	7 (7)

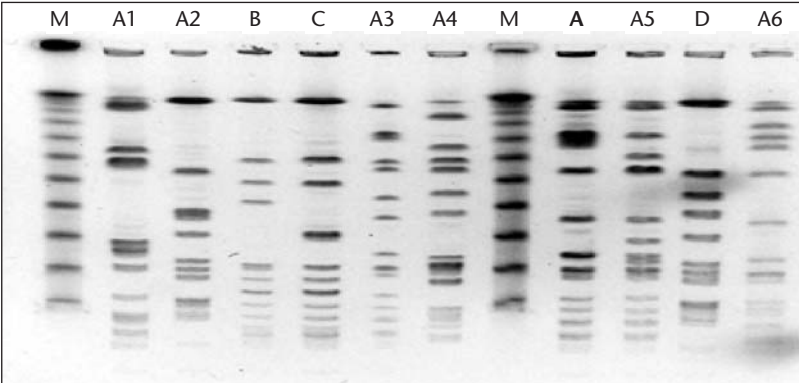
NT: Tiplendirilemeyen.



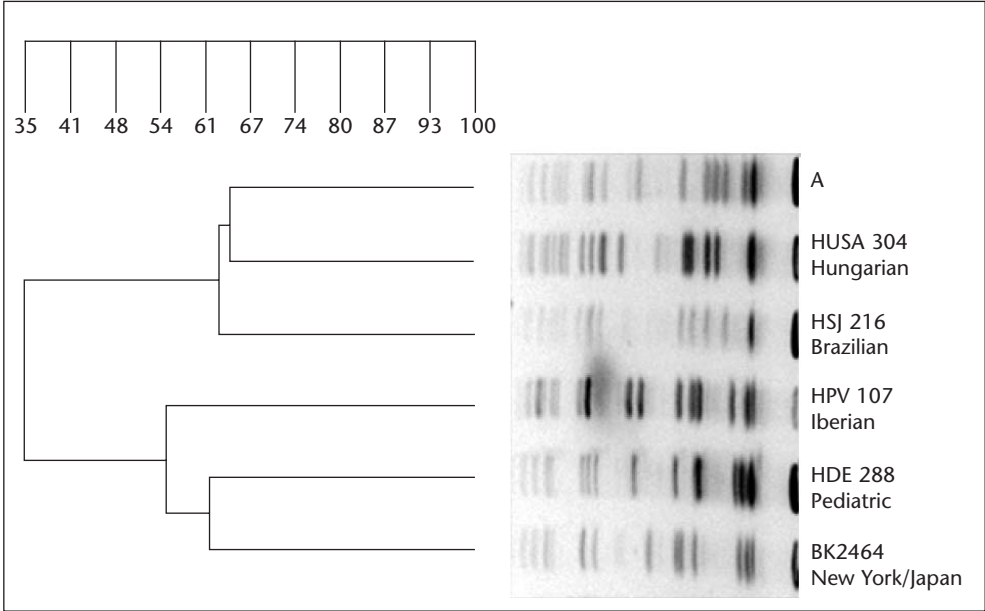
Resim 2. MRSA izolatlarında en sık görülen klon A izolatlarının kaset kromozom tipi. Hat 1-10: tip III; Hat 11: Pozitif kontrol (tip IV) GRE 14; Hat 12: Pozitif kontrol JSCS 4744 (tip IV); Hat 13: Negatif kontrol; Hat 14: Pozitif kontrol 85/2082 (tip III); Hat 15: Tiplendirilemeyen; Hat 16: Pozitif kontrol HSJ 216 (tip IIIA); Hat 17: Moleküler büyüklük belirteci (Generuler 100bp DNA ladder plus, Fermentas).



Resim 3. MRSA izolatlarında agr tipleri. Hat 1: Moleküler büyüklük belirteci (Generuler 100bp DNA ladder plus, Fermentas); Hat 2-4, 6-11, 13, 14: agr tip I; Hat 5: agr tip III; Hat 12 ve 15: agr tip II.



Resim 4. MRSA izolatlarının *Sma*I enzimi ile kesimi sonucu elde edilen PFGE paternleri. Soldan sağa; Hat 1 ve 8: Moleküler büyüklük belirteci (Lambda ladder PFG marker, New England Biolabs); Hat 9: Hakim MRSA klonu A; Hat 2, 3, 6, 7, 10 ve 12: A klonunun alt tipleri; Hat 4: B klonu; Hat 5: C klonu; Hat 11: D klonu.



Resim 5. MRSA izolatları içerisinde baskın klon A'nın çeşitli uluslararası klonlarla karşılaştırılması. A: Hastanemizdeki baskın olan klon; HUSA 304 (Hungarian); HSJ 216 (Brazilian); HPV 107 (Iberian); HDE 288 (Pediatric); BK2464 (New York/Japan). Dendogram; UPGMA aritmetik ortalama, Dice benzerlik katsayısı ve %1 tolerans kullanılarak oluşturulmuştur.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, hastanemizde 2002-2005 yılları arasında izole edilen hastane kaynaklı (HK) MRSA kan izolatlarının moleküler özellikleri ortaya konulmuştur. Önceki çalışmalarda, SCCmec tiplerinin MRSA izolatlarındaki dağılımı incelendiğinde, HK-MRSA izolatlarının büyük çoğunluğunun SCCmec tip I, II veya III, toplum kökenli MRSA izolatlarının ise SCCmec tip IV, V veya VI olarak bulunduğu görülmektedir^{6-8,20}. Bizim çalışmamızda da 100 adet HK-MRSA izolatından 84'ünün SCCmec tip III, birer suşun ise sırasıyla tip IA, tip II ve tip IIIA olduğu saptanmış, hastane izolatlarının hiçbirinin tip IV içermediği belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular diğer çalışmalarla benzer bulunmuştur^{21,22}.

Özellikle fronküloz gibi deri enfeksiyonları ile toplum kökenli nekrotizan pnömoni olgularından izole edilen MRSA suşlarında PVL pozitifliği bulunurken, travmatik deri enfeksiyonları, hastane kaynaklı pnömoni, enfektif endokardit ve bakteriyemi olgularına ait izolatlarda PVL negatif olarak saptanmaktadır. PVL pozitifliği, genellikle SCCmec tip IV eşliğinde toplum kökenli MRSA izolatlarında sık olarak tespit edilir^{5,8,23}. Literatürde nadir olarak HK izolatlarda PVL pozitifliğinden bahsedilmektedir. Chini ve arkadaşları²⁴ 2001-2003 yılları arasında iki hastaneden elde ettikleri izolatlarda, PVL pozitifliğini %23 olarak bulmuşlardır. Wannet ve arkadaşları²⁵ yaptıkları çalışmada, Hollanda hastanelerinden elde edilen suşlarda PVL pozitifliğini 2000-2002 yılları arasında %10 olarak bulurken, bu oranın 2003 yılında %8'e düştüğünü; 2003 yılında PVL pozitif bulunan suşların %65'inin

SCC*mec* tip IV olduğunu; tip III ve tip I izolatların ise sırasıyla %20 ve %15 oranında görüldüğünü belirlemişlerdir. Taneike ve arkadaşlarının²⁶ çalışmasında, 1985-1986, 1990-1992 ve 2000-2005 dönemlerinde Japonya'da hastanede yatan hastalarda PVL pozitifliği araştırılmış ve PVL pozitiflik oranları sırasıyla; %23.5 (4/17), %3.4 (2/59) ve 0 (0/379) olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda kan izolatlarının hiçbirisinde PVL pozitifliğine rastlanmamış olup, bulgularımız Budimir ve arkadaşlarının²⁷ verileriyle uyumludur. Bununla birlikte, gelecekte PVL pozitif, SCC*mec* tip IV dışı tiplerin hastane ortamına yerleşebilecekleri öngörüsü göz ardı edilmemelidir.

Bir "quorum-sensing" sistemi olan *agr*, bazı yüzey proteinleri ve hücre dışına salınan enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır¹⁴. Yapılan çalışmalarda *agr* tip I ve II'nin azalmış vankomisin duyarlılığı ile, tip IV'ün eksfoliyatin üretimi ile ve tip III'ün toksik şok sendromu ve PVL ile indüklenmiş nekrotizan pnömoni gelişimi ile ilişkisi gösterilmiştir²⁸. Bizim çalışmamızda izolatların %91'i *agr* tip I olarak bulunmuştur. İzolatlarımızın vankomisin duyarlılıkları yarı otomatik sistemle araştırılmış ve direnç görülmemiştir; ancak *agr* tip I içerisinde, muhtemel hetero-VISA izolatlarının olabileceği de göz ardı edilmemelidir.

MRSA sekans tip 239 (ST 239) dünyada yaygın olarak bulunur ve klonal kompleks 8'in (CC8) klinik olarak önemi olan bir dalıdır^{2,10,19,29,30}. Bu sekans tipi EMRSA 1, 4, 7, 9, 11, Brezilya, Portekiz ve Viyana gibi klonları içermektedir²⁹. Bu çalışmada aynı PFGE paterni gösteren A grubundan iki örnek ve B, C ve D gruplarından birer örneğin MLST incelemesi yapılmış ve hepsi ST 239 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda 87 izolat içeren PFGE A paterni, epidemik MRSA klonları ile birebir uygunluk göstermemektedir; ancak birçok ST 239 epidemik MRSA klonu farklı PFGE paternine sahip olabilmektedir^{4,31}.

Aires de Sousa ve arkadaşlarının³¹ yaptıkları çalışmada, 6 ana pandemik MRSA klonu (İber, Brezilya, Macar, New York/Japonya, pediatrik veya EMRSA 16) ile benzerlik göstermeyen 4 minör veya sporadik klonun varlığı bildirilmiştir. Bu 4 klon, 1995 ve 1996 yıllarında izole edilmiş, ST 239, CC8, SCC*mec* tip II ve PVL negatif klonlardır. Bizim çalışmamızda baskın olarak bulunan klon, bu çalışmada bahsedilen klonlarla benzer özellikler göstermektedir. Türkiye'de izole edilen MRSA suşlarının moleküler özelliklerini araştırarak az sayıda yayın bulunmaktadır. Öztöp ve arkadaşlarının³² çalışmasında, izolatların PFGE paternlerine göre İber ve Brezilya klonlarından farklı bir baskın klon bildirilmiştir. van Belkum ve arkadaşları³³, Ankara'dan 6, Bursa'dan 1 hastaneden elde edilen MRSA suşlarını ribotipleme, AP-PCR ve PFGE ile tiplendirmişler ve Ankara ve Bursa'da hakim ana klonun Polonya ve İber klonlarına benzer özellikler göstermediğini ortaya koymuşlardır. Gülay ve arkadaşları³⁴ ise, İzmir'de izole edilen hastane kaynaklı 9 adet suşu araştırmışlar ve bu suşların ST 239-MRSA-III özelliğinde olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak çalışmamızda, 2002-2005 yılları arasında hastanemizde hakim MRSA klonunun SCC*mec* tip III, *agr* tip I, PVL negatif, *sea* pozitif ve ST 239 özellikleri gösterdiği bulunmuştur. Bulgularımız Ankara'da İbn-i Sina Hastanesinde hakim olan klonu göstermektedir; ancak Türkiye'de baskın olan klonun belirlenmesi ve bu klonun özelliklerinin ortaya konulması için daha geniş katımlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan kontrol suşlarının sağlanmasındaki katkılarından dolayı H. de Lencastre (Laboratory of Molecular Genetics, ITQB-UNL, Lizbon-Portekiz) ve Teruyo Ito ile K. Hiramatsu'ya (Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo-Japonya) teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Enright MC, Day NPJ, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2000; 38: 1008-15.
2. Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen; molecular evolution of pandemic clones of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis 2002; 2: 180-9.
3. Echanis-Aviles G, Velazquez-Meza ME, Aires-de-Sousa M, et al. Molecular characterisation of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone in a Mexican hospital (1999-2003). Clin Microbiol Infect 2005; 12: 22-8.
4. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proct Natl Acad Sci 2002; 99: 7687-92.
5. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying the gene for the Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 2002; 359: 753-9.
6. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tstutsumimoto N, Tiensasitorn C. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1323-36.
7. Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. Infect Immun 2002; 70: 631-41.
8. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999; 29: 1128-32.
9. Oliveira D, Tomasz A, de Lencastre H. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated *mec* elements. Microb Drug Resist 2001; 7: 349-61.
10. Aires de Sousa M, Bartzavali C, Spiliopoulou I, Sanches I S, Crisostomo MI, de Lencastre H. Two international methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones endemic in a university hospital in Patras, Greece. J Clin Microbiol 2003; 41: 2027-32.
11. Araj GF, Talhouk RS, Siman CJ, Maasad MJ. Discrepancies between *mecA* PCR and conventional tests used for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents 1999; 11: 47-52.
12. Monday SR, Bonach GA. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. J Clin Microbiol 1999; 37: 3411-4.
13. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2155-61.
14. Gilot P, Lina G, Cochard T, Poutrel B. Analysis of the genetic variability of genes encoding the RNA III-activating components *agr* and *trap* in a population of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows and mastitis. J Clin Microbiol 2002; 40: 4060-7.
15. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol 2001; 39: 3481-5.
16. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33: 2233-9.

17. Perez-Roth E, Lorenzo-Diaz F, Batista N, Moreno A, Mendez-Alvarez S. Tracking methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clones during a 5-year period (1998 to 2002) in a Spanish hospital. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4649-56.
18. Coombs GW, Nimmo GR, Bell JM, et al. Genetic diversity among community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing outpatient infections in Australia. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4735-43.
19. Wisplinghoff H, Ewertz B, Wisplinghoff S, et al. Molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the metropolitan area of Cologne, Germany, from 1984 to 1998. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5445-51.
20. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States establishing a national database. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5113-29.
21. Arakere G, Savitha N, Göte S, Ragini M, Satish KA, Dasarathy R. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from two hospitals in Bangalore, South India. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3198-202.
22. Aires de Sousa M, Crisostomo MI, Sanches IS, et al. Frequent recovery of a single clonal type of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* from patients in two hospitals in Taiwan and China. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 159-63.
23. Dufour P, Gillet Y, Bes M, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Pantone-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 819-24.
24. Chini V, Petinaki E, Foka A, Paratiras S, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Spread of *Staphylococcus aureus* clinical isolates carrying Pantone-Valentine leukocidin genes during a 3-year period in Greece. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 29-34.
25. Wannet WJ, Heck ME, Pluister GN, et al. Pantone-Valentine leukocidin positive MRSA in 2003: the Dutch situation. *Euro Surveill* 2004; 9: 28-9.
26. Taneike I, Otsuka T, Dohmae S, et al. Molecular nature of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* derived from explosive nosocomial outbreaks of the 1980s in Japan. *Febs Letters* 2006; 580: 2323-34.
27. Budimir A, Deurenberg RH, Plecko V, Vink C, Kalenic S, Stobberingh EE. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates from Croatia. *J Antimicrob Chem* 2006; 57: 331-4.
28. Wright JS, Traber KE, Corrigan R, Benson SA, Musser JM, Novick RP. The *agr* radiation: an early event in the evolution of staphylococci. *J Bacteriol* 2005; 187: 5585-94.
29. Ruud HD, Cornelis V, Guy JO, et al. Different clonal complexes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* are disseminated in the Euregio Meuse-Rhine region. *Antimicrob Agents Chem* 2005; 49: 4263-71.
30. Aires de Sousa M, Crisostoma MI, Sanches S, et al. Frequent recovery of a single clonal type of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* from patients in two hospitals in Taiwan and China. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 159-63.
31. Aires de Sousa M, de Lencastre H. Evolution of sporadic isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals and their similarities to isolates of community-acquired MRSA. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3806-15.
32. Oztop AY, Pınarbası H, Kocagöz S, Bakıcı MZ, Bakır M. Molecular genotyping of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in a teaching hospital in Turkey. *Microb Drug Resist* 2004; 10: 154-9.
33. van Belkum A, van Leeuwen W, Verkooyen R, Sacilik SC, Cokmus C, Verbrugh H. Dissemination of a single clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among Turkish hospitals. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 978-81.
34. Gulay Z, Short B, Morrison D, Enright MC. Hastanemizdeki dominant metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşunun moleküler yöntemlerle tiplendirilmesi. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 12-16 Eylül 2006, Antalya. Kongre Kitabı, 2006:382.