

# Toplumdan Kazanılmış ve Nozokomiyal *Staphylococcus aureus* Suşlarında SCC*mec* Tiplerinin ve Panton-Valentine Lökosidin Varlığının Araştırılması: Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları ile Diğer Enfeksiyonların Karşılaştırılması\*

## Investigation of SCC*mec* Types and Panton-Valentine Leukocidin in Community-Acquired and Nosocomial *Staphylococcus aureus* Strains: Comparing Skin and Soft Tissue Infections to the Other Infections

Dolunay GÜLMEZ<sup>1</sup>, Banu SANCAK<sup>1</sup>, Serpil ERCİS<sup>1</sup>, Jale KARAKAYA<sup>2</sup>, Gülşen HASÇELİK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>1</sup> Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup> Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Ankara, Turkey.

\* Bu çalışmanın bölümleri, "American Society for Microbiology General 107<sup>th</sup> Meeting (May 21-25, 2007, Toronto)" ve "American Society for Microbiology General 109<sup>th</sup> Meeting (May 17-21, 2009, Pennsylvania)"da sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 23.03.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 16.06.2012

### ÖZET

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a bağlı enfeksiyonlar tüm dünyada yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır. MRSA daha çok nozokomiyal enfeksiyonlardan izole edilmekle birlikte toplumdan kazanılmış MRSA enfeksiyonları da görülmektedir. Metisilin direnci, SCC*mec* gen kasetiyle taşınan *mecA* geni varlığı ile kazanılmaktadır. Bu gen kasetinin farklı tipleri bulunmaktadır. Hastaneden kazanılmış ve toplumdan kazanılmış (TK-) MRSA suşlarında farklı SCC*mec* tipleri saptanabilmektedir. TK-MRSA suşları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları için önemli bir virülans faktörü olan Panton-Valentine lökosidini (PVL)'ni de taşıyabilirler. PVL taşıyan suşlar sağlam deriden penetre olabilmekte ve ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, bir üniversite hastanesinde deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen *S.aureus* suşlarında SCC*mec* tiplerinin ve PVL geni varlığının belirlenmesi ve diğer en-

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Dolunay Gülmez, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, 06100 Ankara, Türkiye. Tel (Phone): +90 312 305 1562, E-posta (E-mail): dolunay@hacettepe.edu.tr

feksiyonlardan izole edilen *S.aureus* suşlarıyla karşılaştırılmasıdır. Çalışmaya, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen 285 ve diğer örneklerden (53 kan, 48 alt solunum yolu örneği, 30 steril vücut sıvısı, 30 genitoüriner sistem örneği) tabakalandırma ve rastgele seçim yöntemiyle kontrol grubu olarak seçilen 161 *S.aureus* suşu alınmıştır. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından elde edilen suşların %46.7'si yatan hastalardan, %48.4'ü kadınlardan izole edilmiş, hastaların ortalama yaşı 45.5 yıl olarak saptanmıştır. Kontrol grubundaki suşların ise %60.9'u yatan hastalardan, %41.6'sı kadınlardan seçilmiş; ortalama yaş 50.2 yıl olarak hesaplanmıştır. İzolatların tanımlanması Phoenix sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile yapılmış ve tüpte koagülaz testiyle doğrulanmıştır. Metisilin direnci oksasilin ve sefoksitin minimum inhibitör konsantrasyonlarını belirleyen Phoenix sistemine ek olarak oksasilin agar tarama yöntemi ve/veya disk difüzyon yöntemiyle sefoksitin zon çapının belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. *mecA* varlığı, SCC*mec* tipi ve PVL geni, özgül primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla belirlenmiştir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının 58 (%20.3)'ünde ve seçilen kontrol grubunun 39 (%24.2)'unda izolatların metisiline dirençli olduğu saptanmıştır. İzole edilen 97 MRSA suşundan 85'i ek bir *dcs* bölgesi içeren SCC*mec* tip III-benzeri bir patern, üçü tip IV, üçü tip IIIa, biri tip IIIb, biri tip II bulunmuş; dördü ise tiplendirilememiştir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları grubu ile diğer enfeksiyonlar (kontrol) grubu arasında SCC*mec* tiplerinin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Saptanan üç SCC*mec* tip IV suşunun ikisinin tip IVa olduğu görülmüştür. Üçü kontrol grubunda olmak üzere 10 (%2.2) PVL pozitif suş saptanmış ve hepsinin metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) olduğu izlenmiştir. Çalışılan suşlarda PVL pozitif MRSA bulunmamış olmasına karşın, TK-MRSA için bir belirteç olan SCC*mec* tip IVa'nın ve PVL pozitif MRSA için rezervuar olabildiği bilinen PVL pozitif MSSA'nın görülmesi, süreyans çalışmalarının önemine işaret etmektedir.

**Anahtar sözcükler:** MRSA; Panton-Valentine lökosidin; SCC*mec*; deri ve yumuşak doku enfeksiyonu; *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

Infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are important health care problems since they are usually multidrug resistant. Although MRSA is isolated especially from nosocomial infections, community-acquired MRSA infections are increasing. Methicillin resistance is due to the expression of *mecA* gene, which is located on SCC*mec* gene cassette. Different SCC*mec* types can be detected in hospital-acquired and community-acquired (CA-) MRSA strains. CA-MRSA strains might harbour Pantone-Valentine leukocidin (PVL), an important virulence factor in skin and soft tissue infections. Strains carrying PVL has the ability to penetrate undamaged skin and cause more severe infections. The aim of this study was to detect SCC*mec* types and PVL gene in *S.aureus* strains isolated from skin and soft tissue infections and to compare with strains isolated from other infections in a university hospital in Ankara, Turkey. *S.aureus* strains isolated from skin and soft tissue infections (n= 285) and a control group consisting of 161 strains isolated from other infections (53 blood, 48 lower respiratory tract samples, 30 sterile body fluids, 30 genitourinary tract samples) chosen by stratification and random selection method, were included in the study. Among skin and soft tissue infection strains 46.7% were from the hospitalized patients and 48.4% of skin and soft tissue infection strains were from female patients. The mean age of the skin and soft tissue infection patients was 45.5 years. Among the control strains 60.9% were from the hospitalized patients and 41.6% of the control patients were female. The mean age of the control patients was 50.2 years. Strains were identified by the Phoenix system (Becton Dickinson, USA) and identification was confirmed by tube coagulase test. Methicillin resistance was determined by the Phoenix system which determines both oxacillin and cefoxitin minimum inhibitor concentrations and, confirmed by oxacillin agar screening and/or cefoxitin disk diffusion test. All isolates were screened for the presence of *mecA* and PVL genes and SCC*mec* types were determined by PCR. MRSA constituted 20.3% (n= 58) of skin and soft tissue infection isolates and 24.2% (n= 39) of the control group. Of the 97 MRSA, 85 had a SCC*mec* type III-like pattern with an additional *dcs* region, three had type IV, three had type IIIa, one had type IIIb, one had type II and four could not be typed. The difference between

SCC*mec* type distribution in skin and soft tissue infection and other infections' (control) groups was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). Two of the three SCC*mec* type IV strains were type IVa. Ten (2.2%) PVL positive strains, three of which were from the control group; were all methicillin susceptible *S.aureus* (MSSA). Although PVL positive MRSA was not common, detection of SCC*mec* type IVa, a marker for CA-MRSA, and PVL positive MSSA strains which might act as a reservoir for PVL positive MRSA, indicated the importance of ongoing surveillance for MRSA.

**Key words:** MRSA; Panton-Valentine leukocidin; SCC*mec*; skin and soft tissue infection; *Staphylococcus aureus*.

## GİRİŞ

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), tüm beta-laktam antibiyotiklere dirençli olması nedeniyle önemli bir enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. MRSA daha çok nozokomiyal enfeksiyonlardan izole edilmekle birlikte, toplumdan kazanılmış MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonları artış göstermektedir. Hastanın yakın zamanda hastaneye yatmış ya da halen yatıyor olması, bakım merkezlerinde uzun süreli kalması, cerrahi operasyon geçirmesi, diyalize girmesi ve hastada perkütan medikal alet veya kateter varlığı hastaneden kazanılmış MRSA (HK-MRSA) enfeksiyonları için risk faktörü olarak bildirilmiştir<sup>1</sup>. TK-MRSA enfeksiyonları için ise antibiyotik kullanımı risk faktörü olabilmektedir<sup>2</sup>.

Metisilin direncini kodlayan 2.1 kilobazlık *mecA* geni, stafilokokal kaset kromozomun *mec* (SCC*mec*) adı verilen bir mobil genetik elemanı üzerinde yerleşmiştir<sup>3</sup>. SCC*mec*'in *mec*, *ccr* (rekombinaz geni) kompleksi ve J (*junk* veya *joining*) bölgelerine göre ayrılan sekiz tipi bulunmaktadır. SCC*mec* II, III ve IV'ün alttıpleri de bildirilmiştir<sup>4,5</sup>. Toplumdan kazanılmış enfeksiyonlardan izole edilen MRSA suşlarının hem genotipik hem de fenotipik olarak farklı olabildiği gözlenmiştir<sup>5,6</sup>. HK-MRSA suşları genellikle SCC*mec* tip II ve III, TK-MRSA suşları ise tip IV ve V, özellikle tip IVa içermektedir<sup>1,5,7,8</sup>. Bu SCC*mec* tipi daha küçüktür ve kazanılmış direnç genleri taşıyan çoğu bakteride olduğu gibi bakterinin çevreye uyumunu zorlaştırmamaktadır<sup>5,6,9</sup>. Bu özellik, SCC*mec* tip IVa taşıyan suşların ortamda yayılmasında ve kalıcı olmasında avantaj sağlar. TK-MRSA suşları, Panton-Valentine lökositini (PVL) gibi virülans faktörleri de üretebilmeleri nedeniyle HK-MRSA suşlarından daha virülan olabilmektedir<sup>1,10</sup>. PVL, nekrotizan pnömonide ve deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında önemli bir virülans faktörüdür<sup>11,12</sup>. PVL taşıyan suşlar sağlam deriden penetre olabilmekte, ayrıca PVL taşıyan *S.aureus* enfeksiyonları daha yüksek mortalite ve daha sık komplikasyonlarla seyretmektedir<sup>8,13</sup>. SCC*mec* IVa ve PVL pozitif izolatlar sağlıklı kişileri etkileyen salgınlarda etken olarak saptanabilmektedir<sup>5,14</sup>.

*S.aureus*'ta metisilin direncinin saptanabilmesi için fenotipik yöntemler kullanılsa da, dirence neden olan *mecA* geninin varlığının gösterilmesi altın standart kabul edilmektedir<sup>3</sup>. Ayrıca moleküler yöntemler, toplumdan kazanılmış ve nozokomiyal suşların arasında farklı olan SCC*mec* gen kasetinin ayırt edilebilmesini de sağlayabilir<sup>6,15,16</sup>. PVL varlığının belirlenmesi için de PVL kodlayan gen bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile gösterilmesi kabul görmüş bir yöntemdir<sup>11</sup>.

Bu çalışmanın amacı, hastanemizdeki deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen *S.aureus* suşlarında metisilin direnç oranlarının, SCC*mec* tiplerinin ve PVL geni varlığının saptanması ve diğer vücut bölgelerinde enfeksiyon etkeni olan *S.aureus* suşlarıyla karşılaştırılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya 01 Ağustos 2004-31 Temmuz 2005 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* suşları alındı. Bu suşlardan deri ve yumuşak doku enfeksiyonu etkeni olan suşların hepsi çalışılırken, SCC*mec* tipi ve PVL varlığı verilerinin karşılaştırılabilmesi amacıyla diğer örneklerden tabakalandırma ve rastgele seçim yöntemiyle bir kontrol grubu oluşturuldu. Tabakalandırma sırasında suşun metisiline dirençli olup olmaması, suşun izole edildiği örnek türü, hastanın servis veya poliklinik hastası olması, yaşı, cinsiyeti ve immüno-süpresyon durumu göz önüne alındı. Ayrıca, hastaların altta yatan hastalıkları, geçirdikleri cerrahi operasyonlar, idrar ve kan kateteri varlığıyla ilgili bilgiler toplandı ve suşların nozokomiyal enfeksiyon kriterlerine uygun olup olmadıkları belirlendi. Bir hastadan birden fazla suş izole edilmişse, yalnızca biri çalışmaya dahil edildi. Elde edilen izolatların tanımlanması Phoenix sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile yapıldı ve tüpte koagülaz testiyle doğrulandı. Metisilin direnci, oksasilin ve sefoksitin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerini belirleyen Phoenix sistemine ek olarak oksasilin agar tarama yöntemi ve/veya disk difüzyon yöntemi ile sefoksitin zon çapının belirlenmesiyle değerlendirildi<sup>17</sup>.

Bakteriyel DNA, suşların lizostafin ve proteinaz K ile inkübasyonu sonrası, kaynatma yöntemiyle ekstrakte edildi<sup>18</sup>. Metisilin direnci saptanan suşlarda, daha önceden bildirilen primerlerle multipleks PCR yöntemiyle *mecA* geni varlığı ve SCC*mec* tipleri belirlendi<sup>15</sup>. Böylece Locus A, B, C, D, E, F, G, H ve *mecA* için sırasıyla 495, 284, 209, 342, 243, 414, 381, 303 ve 162 baz çifti (bç) büyüklüğünde amplikonlar elde edildi. Multipleks PCR'nin optimizasyonu için ve pozitif kontrol olarak COL (tip I), PER34 (tip Ia), BK2464 (tip II), HU25 (tip IIIa) ve HDE288 (tip IV) suşları kullanıldı.

Multipleks PCR ile SCC*mec* tip IV saptandığında, Okuma ve arkadaşlarının<sup>6</sup> bildirdikleri primerler ile SCC*mec* subtip IVa arandı. Pozitif reaksiyon için beklenen amplikon büyüklüğü 450 bç olarak belirlendi. Metisiline dirençli ve duyarlı suşlarda PVL genleri varlığının gösterilmesi için *lukS-PV* ve *lukF-PV* genlerini hedefleyen primerler kullanıldı<sup>11</sup>. Her deneyde pozitif kontrol olarak *S.aureus* ATCC 49775 suşu kullanıldı ve 433 bç'lik amplikon büyüklüğü pozitif kabul edildi. Amplifikasyon ürünleri Tris-Asetat-EDTA (TAE) tamponu içinde iki saatlik %2'lik agaroz jel elektroforeziyle (100 V) ayrıldı; etidyum bromürle boyanarak ultraviyole altında görüntülendi.

İstatistiksel değerlendirmede Fisher kesin ki-kare testi kullanıldı.

## BULGULAR

Çalışma süresi boyunca deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından 285 *S.aureus* suşu izole edilmiştir. Bu suşların 133 (%46.7)'ü yatan hastalardan, 138 (%48.4)'i kadınlardan

izole edilmiş, ortalama yaş 45.5 yıl olarak bulunmuştur. Önceden belirtilen kriterler kullanılarak, aynı dönemde diğer örneklerden izole edilen *S.aureus* suşları arasından 161 adet seçilmiş ve kontrol grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki suşlar, kan (53; %33), alt solunum yolu örnekleri (48; %29.8), steril vücut sıvıları (30; %18.6) ve genitoüriner sistem örneklerinden (30; %18.6) izole edilmiştir. Kontrol grubundaki suşların 98 (%60.9)'i yatan hastalardan, 67 (%41.6)'si kadınlardan seçilmiş; ortalama yaş 50.2 yıl olarak hesaplanmıştır.

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu izolatlarının 58 (%20.3)'ünde, kontrol grubunun ise 39 (%24.2)'unda metisilin direnci saptanmıştır. Metisilin direncinin her iki grupta yatan hastalar ve poliklinik hastaları arasındaki dağılımı Tablo I'de verilmiştir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları grubunda tip II, IIIa, IIIb, IV ve tip III-benzeri bir patern gözlenirken, kontrol grubunda SCCmec tip III-benzeri patern ve IIIa gözlenmiştir. Dört suş, bu yöntemle tiplendirilememiştir (Tablo II). İki grup arasında SCCmec tiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Her iki grupta da tip III-benzeri paternin baskın olduğu gözlenmiştir. Bu patternde locus H'ye (IS431 ve pT181 arasındaki bağlantı bölgesi) karşılık gelen 303 bç'lik bant yerine locus D'ye (*dcs* bölgesi) karşılık gelen 342 bç'lik bir bant görülmüştür. Farklı SCCmec tiplerinin amplifikasyon paternleri Resim 1'de verilmiştir. Kontrol grubunda SCCmec tiplerinin örnek türlerine göre dağılımı ise Tablo III'te gösterilmiştir. Tüm örnek tiplerinde tip III-benzeri paternin baskın olduğu izlenmiştir. Gruplar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

SCCmec tip IV taşıyan üç suş deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilmiştir. Bu üç suştan ikisinde SCCmec tip IVa varlığı gösterilmiştir. Bunlardan ilki, submandibular apse nedeniyle serviste tedavi alan bir hastadan yatışının ilk günü alınan örnekten izole edilmiştir. Bu hastanın kayıtlarında, servise yatışından önceki son bir yıl içinde hastane veya uzun süreli bakım kurumlarında bulunmadığı görülmektedir. Bu nedenle, izolat TK-MRSA olarak kabul edilmiştir. İkinci suş ise pemfigus vulgaris tanısıyla dermatoloji servisinde tedavi alan bir hastadan izole edilmiştir. Bu hastadan, yatışından sonraki ilk iki gün içinde kültür için örnek alınmadığından, izole edilen suşun toplumdan veya hastaneden kazanılmış olması durumu ayırt edilememiştir.

**Tablo I.** *Staphylococcus aureus* Suşlarının Metisilin Direnci ve Hastaların Hastaneye Yatış Durumlarına Göre Dağılımı

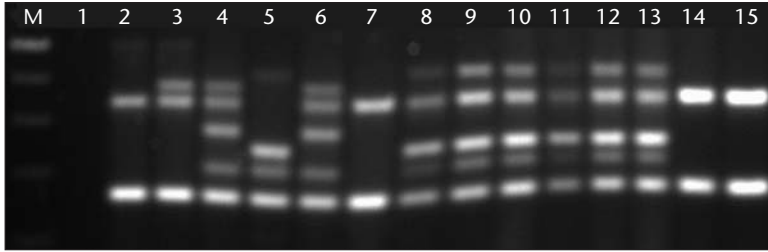
	DYDE izolatları		Kontrol grubu		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
MSSA, poliklinik	144	50.5	58	36	202	45.3
MSSA, servis	83	29.1	64	39.8	147	33
MRSA, poliklinik	8	2.8	5	3.1	13	2.9
MRSA, servis	50	17.6	34	21.1	84	18.8
Toplam	285	100	161	100	446	100

DYDE: Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu; MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*; MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*.

**Tablo II.** SCCmec Tiplerinin Poliklinik ve Servis Hastalarında Dağılımı

		DYDE grubu Sayı (%)	Kontrol grubu Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
Servis	SCCmec tip I	0	0	0
	SCCmec tip Ia	0	0	0
	SCCmec tip II	1 (2)	0	1 (1.2)
	SCCmec tip III-benzeri	44 (88)	32 (94.2)	76 (90.4)
	SCCmec tip IIIa	1 (2)	1 (2.9)	2 (2.4)
	SCCmec tip IIIb	1 (2)	0	1 (1.2)
	SCCmec tip IV	2 (4)	0	2 (2.4)
	Tiplendirilemeyen	1 (2)	1 (2.9)	2 (2.4)
	Toplam	50 (100)	34 (100)	84 (100)
Poliklinik	SCCmec tip I	0	0	0
	SCCmec tip Ia	0	0	0
	SCCmec tip II	0	0	0
	SCCmec tip III-benzeri	5 (62.5)	4 (80)	9 (69.2)
	SCCmec tip IIIa	1 (12.5)	0	1 (7.7)
	SCCmec tip IIIb	0	0	0
	SCCmec tip IV	1 (12.5)	0	1 (7.7)
	Tiplendirilemeyen	1 (12.5)	1 (20)	2 (15.4)
	Toplam	8 (100)	5 (100)	13 (100)

DYDE: Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu.



**Resim 1.** Farklı SCCmec tiplerinin amplifikasyon paternleri [M: Moleküler ağırlık belirteci (Gene Ruler 100 bç Ladder Plus); Hat 1: Negatif kontrol; Hat 2: Tip I; Hat 3: Tip Ia; Hat 4 ve 6: Tip II; Hat 5: Tip IIIa, Hat 7, 14 ve 15: Tip IV; Hat 8, 9, 10, 11, 12 ve 13: Tip III-benzeri patern (Hat 8-15: Klinik *S.aureus* suşları)].

**Tablo III.** Kontrol Grubunda SCCmec Tiplerinin Örnek Türüne Göre Dağılımı

	Solunum yolu Sayı (%)	Kan Sayı (%)	Steril vücut bölgeleri Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
SCCmec tip III-benzeri	17 (94.4)	13 (92.9)	6 (85.7)	36 (90)
SCCmec tip IIIa	0	1 (7.1)	0	1 (2.5)
Tiplendirilemeyen	1 (5.6)	0	1 (14.3)	2 (5)

**Tablo IV. PVL Pozitif Suşlarla Enfekte Olan Hastaların Özellikleri**

Hasta no	DYDE <sup>a</sup>	Yatan hasta	İmmün baskılanma	Altta yatan hastalık
1	Evet	Hayır	Evet	Kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus
2	Evet	Hayır	Evet	Böbrek transplantasyonu
3	Evet	Hayır	Evet	Akciğer kanseri, diabetes mellitus
4	Evet	Hayır	Hayır	Yok
5	Evet	Hayır	Hayır	Yok
6	Evet	Hayır	Hayır	Yok
7	Evet	Evet <sup>b</sup>	Hayır	Yok
8	Hayır*	Evet	Evet	Hodgkin-dışı lenfoma, kronik obstrüktif akciğer hastalığı
9	Hayır*	Evet	Hayır	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
10	Hayır**	Evet <sup>c</sup>	Evet	Kortikosteroid tedavisi

<sup>a</sup> Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu.  
<sup>b</sup> Suş, hastane yatışın birinci gününde izole edilmiştir.  
<sup>c</sup> Yoğun bakım ünitesinde yatış.  
\* Örnek türü kan.  
\*\* Örnek türü trakeal aspirat.

Tüm suşlarda PVL geni aranmış ve üçü kontrol grubunda olmak üzere 10 (%22)'ü pozitif bulunmuştur. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Tüm PVL pozitif suşların metisiline duyarlı olduğu gözlenmiştir. PVL pozitif suşlarla enfekte olan hastaların özellikleri Tablo IV'te özetlenmiştir. Kontrol grubunda PVL geni pozitif bulunan üç suş da hastaneye yatıştan en az iki gün sonra alınan örneklerden izole edildiklerinden nozokomiyal enfeksiyonla uyumlu bulunmuştur. Bu üç suştan biri yoğun bakımda trakeal aspirasyon örneğinden, diğer ikisi ise dahiliye servislerinde kandan izole edilmişlerdir. Her üç durumda da hastalarda invazif hastalığa yol açmışlardır.

## TARTIŞMA

MRSA, sıklıkla nozokomiyal enfeksiyonlardan izole edilmekle birlikte, son yıllarda TK-MRSA enfeksiyonlarında da kayda değer artış gözlenmektedir<sup>1,5,6,8</sup>. TK-MRSA suşlarının, MSSA suşlarının yanında varlığını sürdürebilmek için seçici antibiyotik baskısına gerek duymaması nedeniyle, hem toplumda hem de hastanelerde, yayılım ve kalıcılık açısından daha fazla avantajı vardır<sup>5,19</sup>.

Farklı coğrafi bölgelerde farklı SCCmec tiplerinin baskın oldukları ve farklı antibiyotiplere sahip olabildikleri bildirilmiştir<sup>5</sup>. Bu çalışmada, tip II, IIIa, IIIb, IV, IVa gibi farklı SCCmec tipleri gözlenmiştir. İlginç olarak, hem HK-MRSA hem de TK-MRSA suşlarının %86.7'sinin, ek bir *dcs* bölgesi (locus D) içeren SCCmec tip III-benzeri bir patern gösterdiği saptanmıştır. Bu patern, hem Türkiye'den hem de diğer ülkelerden daha önce de bildirilmiştir. Ergon ve arkadaşları<sup>20</sup>, Türkiye'de bir üniversite hastanesinde kan izolatlarında bir tip III-benzeri patern saptamışlardır. Deurenberg ve arkadaşları<sup>21</sup>, SCCmec tip

III olarak sınıflandırılan ancak *pls* geni ve *dcs* bölgesi içeren bir suş bulmuşlardır. Budimir ve arkadaşları<sup>22</sup>, Hırvatistan'da kandan izole edilen MRSA suşlarının %11'inde *dcs* bölgesi içeren bir modifiye SCC*mec* tip III rapor etmişlerdir. Türkiye'den yapılan diğer çalışmalarda tip III'ün baskın olduğu görülmektedir<sup>23-26</sup>. Akoğlu ve arkadaşları<sup>23</sup>, HK-MRSA suşlarında %61.8 tip III, %34.5 tip IIIb ve %2.7 tip IV bildirmişlerdir. Tekeli ve arkadaşları<sup>24</sup>, kan HK-MRSA suşlarının %84'ünde SCC*mec* tip III bulmuşlardır. Karahan ve arkadaşları<sup>25</sup>, HK-MRSA suşlarında SCC*mec* tip III (%93.8)'ün; TK-MRSA suşlarında ise SCC*mec* tip IIIb (%41.2)'nin baskın olduğunu bildirmişlerdir. Kılıç ve arkadaşları<sup>26</sup>, bir üçüncü basamak sağlık kurumunda, dört yıllık bir süreçte SCC*mec* tip III'ün baskın (%82.1) olduğunu göstermişlerdir. MRSA suşlarında SCC*mec* tipleri ülkeden ülkeye ve hatta aynı ülkede farklı merkezlerde ve farklı hasta gruplarında değişebilmektedir.

Saptanan tip III-benzeri paternin, SCC*mec* tip III'ten tek farkının, tip III'teki 303 bç (left junction between IS431 and pT181) yerine 342 bç (*dcs* region) taşıması olduğu saptanmıştır. Elimizdeki veriler, tip III ve tip III-benzeri paternin ayrımının önemini anlamak için yeterli olmadığından, bunu netleştirebilmek için yeni çalışmalar gereklidir. Bu çalışmada kullanılan yöntem<sup>15</sup> önerildikten sonra, ek dizi analizi verilerine dayanarak SCC*mec* tip III yapısında değişiklikler ortaya çıkmıştır<sup>4,27</sup>. Bu paternin özelliklerinin belirlenmesi için *ccr* ve *mecA* gen komplekslerinin belirlendiği ek testlere gerek duyulmaktadır.

Son yıllarda yalnızca HK-MRSA suşları değil, TK-MRSA klonları da nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak rol alabilmektedir<sup>5</sup>. Gonzalez ve arkadaşları<sup>19</sup> kandan izole edilen HK-MRSA suşlarının %60'ında SCC*mec* tip IV saptamışlardır. Bu çalışmada, SCC*mec* tip IV, MRSA suşlarının yalnızca %3.1'inde ve yalnızca deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda görülmüştür. SCC*mec* tip IV'ün deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir<sup>5</sup>. Bunlardan ikisinin tip IVa olduğu saptanmıştır. Hastaların birinde, sağlık ve/veya bakım kurumlarıyla ilişki görülmemiştir. İkinci hasta pemfigus vulgaris nedeniyle hastaneye yatırılmış ve yatıştan sonraki iki gün içinde kültür alınmamıştır. Bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla, Türkiye'deki MRSA suşlarında SCC*mec* tip IVa bildiren ilk çalışmadır.

Bazı SCC*mec* IV ve V taşıyan TK-MRSA klonları ve PVL arasında ilişki bildirilmiştir. PVL prevalansı, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen MRSA suşlarında daha fazla bulunmuştur<sup>5</sup>. Diep ve arkadaşları<sup>10</sup>, farklı suş koleksiyonlarını incelemiş ve SCC*mec* tip IV taşıyan MRSA suşlarında %33.5 PVL pozitifliği bildirmişlerdir. Türkiye'den bildirilen çalışmalarda, PVL ve SCC*mec* tip IV arasındaki ilişki belirgin değildir. Farklı SCC*mec* tiplerinde (Ia, III, IIIb, IV, V) ve MSSA'larda PVL geni bulunmuştur<sup>23,25,28</sup>. Demir ve arkadaşlarının<sup>29</sup> çalışmasında, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olan HK-MSSA'larda %5.3, TK-MSSA'larda ise %15.2 oranında PVL pozitifliği varken, MRSA'larda PVL saptanamamıştır. Bu çalışmada da hepsi MSSA olan 10 PVL pozitif suş bulunmuş, bu nedenle PVL ve SCC*mec* arasındaki ilişki incelenememiştir. Ancak, PVL pozitif MSSA'nın PVL pozitif TK-MRSA ile genetik olarak ilişkili olabileceği ve rezervuar olarak işlev görebileceği bilinmektedir<sup>30</sup>.



PVL taşıyan suşlar sağlam deriden penetre olabilmektedir; mortalite oranlarının daha yüksek olduğu ve komplikasyonlara daha sık rastlanan enfeksiyonlara neden olmaktadır<sup>8,13</sup>. Gonzalez ve arkadaşları<sup>12</sup>, predispozan faktörü olmadığı halde sağlıklı adölesanlarda, PVL ve SCCmec tip IV taşıyan TK-MRSA suşlarının daha sık ciddi enfeksiyonlara neden olduklarını bildirmişlerdir. Gillet ve arkadaşları<sup>13</sup>, daha önce sağlık sorunu olmayan sekiz hastada hızlı ilerleyen, hemorajik nekrotizan pnömoni rapor etmişlerdir; bunlardan altısı ölümlü sonuçlanmıştır. Bizim çalışmamızda, kontrol grubundaki üç PVL pozitif suş da ciddi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmuş ve hastalardan birinin yoğun bakım servisinde tedavi alması gerekmiştir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen yedi PVL pozitif suştan dördü alta yatan hastalığı olmayan sağlıklı kişileri etkileyebilmiştir (Tablo IV). Ancak, bu grupta *S.aureus* enfeksiyonlarının prognozuna ait verilere ulaşamamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda, hem deri ve yumuşak doku enfeksiyonları hem de diğer enfeksiyonlarda etken olan MRSA suşlarında SCCmec tip III-benzeri paternin baskın olduğu görülmüştür. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda üç tip IV saptanmış, bunlardan ikisinin tip IVa olduğu anlaşılmıştır. Bu bulgunun epidemiyolojik öneminin anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır. Hastanemizde PVL pozitif MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların yaygın olmadığı izlenmiştir. Çalışılan popülasyonda SCCmec tip IV ve PVL genini birlikte taşıyan TK-MRSA suşları saptanmamıştır. Ancak, SCCmec tip IV taşıyan suşların yanı sıra PVL geni taşıyan MSSA izolatlarının bulunmuş olması önem taşımaktadır. Çünkü bu suşlar PVL pozitif MRSA için rezervuar olarak rol oynayabilir<sup>30</sup>. Ayrıca, Türkiye’de ilk kez SCCmec tip IVa taşıyan suşların saptanması, TK-MRSA yayılımının artabileceğine işaret etmektedir. Bu nedenle süreyans çalışmalarına duyulan gereksinim devam etmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(8): 978-84.
2. Schneider-Lindner V, Delaney JA, Dial S, Dascal A, Suissa S. Antimicrobial drugs and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(7): 994-1000.
3. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(6): 1549-55.
4. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome  *mec* (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(12): 4961-7.
5. Yamamoto T, Nishiyama A, Takano T, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: community transmission, pathogenesis, and drug resistance. *J Infect Chemother* 2010; 16(4): 225-54.
6. Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, et al. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *J Clin Microbiol* 2002; 40(11): 4289-94.
7. O’Brien FG, Lim TT, Chong FN, et al. Diversity among community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Australia. *J Clin Microbiol* 2004; 42(7): 3185-90.
8. Abdel-Haq N, Al-Tatari H, Chearskul P, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized children: correlation of molecular analysis with clinical presentation and antibiotic susceptibility testing (ABST) results. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28(5): 547-551.

9. Ender M, McCallum N, Adhikari R, Berger-Bachi B. Fitness cost of SCC*mec* and methicillin resistance levels in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(6): 2295-7.
10. Diep BA, Sensabaugh GF, Somboona NS, Carleton HA, Perdreau-Remington F. Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine leukocidin. *J Clin Microbiol* 2004; 42(5): 2080-4.
11. 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(5): 1128-32.
12. Gonzalez BE, Martinez-Aguilar G, Hulten KG, et al. Severe staphylococcal sepsis in adolescents in the era of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics* 2005; 115(3): 642-8.
13. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 2002; 359(9308): 753-9.
14. Boubaker K, Diebold P, Blanc DS, et al. Panton-valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(1): 121-4.
15. 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(7): 2155-61.
16. Ito T, Katayama Y, Asada K, et al. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(5): 1323-36.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth Informational Supplement M100-S18. 2008. CLSI, Wayne, PA.
18. Unal S, Hoskins J, Flokowsch JE, et al. Detection of methicillin-resistant staphylococci by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30(7): 1685-91.
19. Gonzalez BE, Rueda AM, Shelburne SA 3<sup>rd</sup>, et al. Community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as the cause of healthcare-associated infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27(10): 1051-6.
20. Ergon MC, Biçmen M, Gülay Z. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ndeki dominant metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşunun moleküler yöntemlerle tiplendirilmesi. *ANKEM* 2010; 24(2): 65-70.
21. Deurenberg RH, Vink C, Oudhuis GJ, et al. Different clonal complexes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* are disseminated in the Euregio Meuse-Rhine region. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(10): 4263-71.
22. Budimir A, Deurenberg RH, Plecko V, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates from Croatia. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(2): 331-4.
23. Akoglu H, Zarakolu P, Altun B, Unal S. Epidemiological and molecular characteristics of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Hacettepe University Adult Hospital in 2004-2005. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(3): 343-355.
24. Tekeli A, Koyuncu E, Dolapci I, Akan OA, Karahan ZC. Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from blood cultures between 2002-2005 in Ankara University Hospital. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43(1): 1-10.
25. Karahan ZC, Tekeli A, Adaleti R, et al. Investigation of Panton-Valentine leukocidin genes and SCC*mec* types in clinical *Staphylococcus aureus* isolates from Turkey. *Microb Drug Resist* 2008; 14(3): 203-10.
26. Kilic A, Guclu AU, Senses Z, et al. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) characterization and panton-valentine leukocidin gene occurrence for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 94(4): 607-14.
27. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, et al. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCC*mec* elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(3): 1001-12.
28. Ozkul H, Oktem IM, Gulay Z. Investigation of the presence of panton-valentin leukocidin (PVL) in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41(3): 357-62.

29. Demir T, Coplu N, Bayrak H, et al. Panton-Valentine leucocidin gene carriage among *Staphylococcus aureus* strains recovered from skin and soft tissue infections in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67(4): 837-40.
30. Rasigade JP, Laurent F, Lina G, et al. Global distribution and evolution of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, 1981-2007. *J Infect Dis* 2010; 201(10): 1589-97.