

# High variability of Panton-Valentine Leukocidine producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from skin and soft tissue infections in the province of Bolzano

Richard Aschbacher<sup>1</sup>, Bruno Pichon<sup>2</sup>, Greta Spoladore<sup>3</sup>, Elisabetta Pagani<sup>1</sup>, Patrizia Innocenti<sup>1</sup>, Ludwig Moroder<sup>1</sup>, Renate Meyer<sup>1</sup>, Brigitte Ladinsner<sup>1</sup>, Mark Ganner<sup>2</sup>, Robert Hill<sup>2</sup>, Rachel Pike<sup>2</sup>, Oswald Ganthaler<sup>4</sup>, Leonardo Pagani<sup>3</sup>, Clara Larcher<sup>1</sup>, Angela Kearns<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Aziendale di Microbiologia e Virologia, Comprensorio Sanitario di Bolzano, Italia;

<sup>2</sup> Microbiology Services Colindale, Health Protection Agency, London, UK;

<sup>3</sup> Reparto di Malattie Infettive, Comprensorio Sanitario di Bolzano, Italia;

<sup>4</sup> Laboratorio di Patologia Clinica, Comprensorio Sanitario di Brunico, Italia.

**Key words:** CA-MRSA, SCC<sub>mec</sub>, ACME, PVL, ST93

**Elevata variabilità di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente e produttori di leucocidine di Panton-Valentine isolato da infezioni della cute e dei tessuti molli in Provincia di Bolzano**

## SUMMARY

**Introduction.** Panton-Valentine leukocidin (PVL) positive community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) isolates are widespread in many countries, with varying distribution and epidemiology. The aim of this study was to characterise the ten PVL positive MRSA isolates collected during February 2010 to January 2011 from skin and soft tissue infections in the North Italian Province of Bolzano.

**Methods.** Accessory gene regulator (*agr*) typing, staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec* typing, *spa* typing, multi-locus sequence typing (MLST), toxin gene profiling, PCR for type I arginine catabolic mobile element (ACME) and antimicrobial resistance typing were applied to the isolates.

**Results.** Eight different CA-MRSA clones were identified: ST30-IVc, ST772-V, ST80-IVc, ST5-IVc, ST88-IVa, ST93-IVa, ST8-IVc and the type I ACME positive ST8-IVa.

**Conclusions.** The high heterogeneity of PVL-positive MRSA probably reflects the introduction of different clones by international travellers or immigrants.

## INTRODUZIONE

*Staphylococcus aureus* meticillino-resistenti (MRSA) produttori di leucocidine di Panton-Valentine (PVL) sono ampiamente diffusi in molti paesi, con prevalenza, distribuzione ed epidemiologia variabili (1). Sono di seguito riportati i risultati relativi alla tipizzazione dei dieci ceppi di MRSA PVL-positivi isolati in Provincia di Bolzano nel periodo da febbraio 2010 a gennaio 2011 da infezioni della cute e dei tessuti molli di pazienti d'età compresa tra 11 e 96 anni (media 50 anni); cinque dei pazienti erano stati ricoverati nel periodo dell'isolamento del ceppo o precedentemente.

## METODI

Le MIC (Minime Concentrazioni Inibenti) per gli isolati di MRSA sono state determinate con il metodo di riferimento BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) di diluizione in

agar ([www.bsac.org.uk/](http://www.bsac.org.uk/)) ed interpretate secondo i criteri EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; [www.euca-st.org](http://www.euca-st.org)). Gli isolati sono stati tipizzati tramite accessory gene regulator (*agr*) typing, staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec* typing, *spa* typing, multi-locus sequence typing (MLST), toxin gene profiling e PCR per arginine catabolic mobile element (ACME) di tipo I.

## RISULTATI

Nel corso del periodo di studio di un anno sono stati raccolti 10 ceppi di MRSA positivi per i geni *lukS*-PV/*lukF*-PV, isolati da campioni di cute e tessuti molli provenienti da 10 pazienti senza collegamento epidemiologico fra di loro (Età media: 50 anni; range: 11-96 anni; 8 nel Comprensorio Sanitario di Bolzano e 2 nel Comprensorio Sanitario di Brunico). Tutti i nostri isolati erano positivi alla PCR per *mecA* con MIC per oxacilli-

**Corresponding author: Richard Aschbacher**

Laboratorio Aziendale di Microbiologia e Virologia - Comprensorio Sanitario di Bolzano

Via Amba Alagi, 5 - 39100 Bolzano - Tel.: 0471 907324; Fax: 0471 272631

E-mail: [richard.aschbacher@asbz.it](mailto:richard.aschbacher@asbz.it)

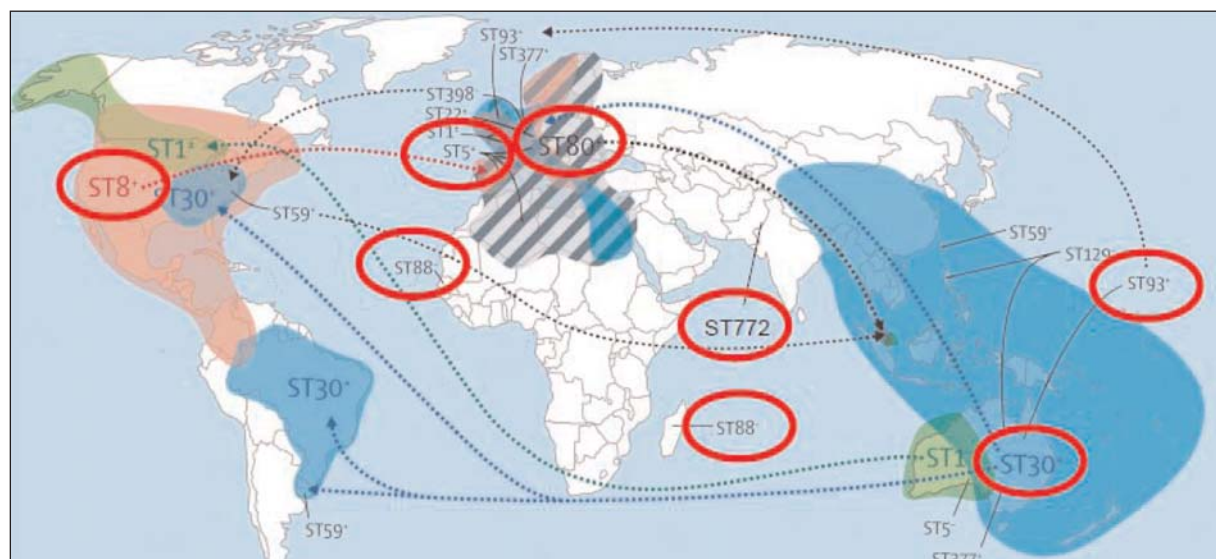
na >4 mg/L ed avevano MIC nel range di sensibilità per clindamicina ( $\leq 0.25$  mg/L), daptomicina ( $\leq 1$  mg/L), acido fusidico ( $\leq 0.5$  mg/L), linezolid ( $\leq 4$  mg/L), mupirocina ( $\leq 4$  mg/L), quinupristin/dalfopristina ( $\leq 0.5$  mg/L), teicoplanina e vancomicina ( $\leq 2$  mg/L). Tutte le MIC per rifampicina erano  $\leq 0.03$  mg/L eccetto il singolo isolato resistente (MIC >2 mg/L) e tutte le MIC per gentamicina erano  $\leq 0.5$  mg/L eccetto il singolo isolato resistente (MIC=128 mg/L).

Tra i 10 isolati di MRSA PVL-positivi sono stati identificati otto differenti genotipi (Tabella 1): ST5-IVc, USA300 like ST8-IVa (ACME positivo), ST8-IVc (multi-drug resistant), South-West Pacific clone like ST30-IVc, European clone like ST80-IVc, ST88-IVa, Queensland clone like ST93-IVa (contenente un *spa*-repeat di 13 invece di 24 bp), e Bengal Bay clone like ST772-V (multi-drug resistant).

**Tabella I.** Genotipizzazione di 10 isolati di CA-MRSA PVL+ da cute e tessuti molli

Sesso/età	agr	MLST	spa	ACME	SCCmec	Geni tossine	Resistenze	Nome del clone	Sintomi paziente
M/50	3	ST30 (CC30)	t019	-	IVc (2B)	seg, sei, pvl	CIP	South-West-Pacific like	Ulcera cutanea
F/20	3	ST30 (CC30)	t019	-	IVc (2B)	seg, sei, pvl		South-West-Pacific like	Carbuncolo vulvare
F/11	2	ST772 (CC1)	t345	-	V (5C)	sea, sec, seg, sei, pvl	CIP, GEN, ERY	Bengal-Bay like	Secrezioni inguinali purulenti
F/28	2	ST772 (CC1)	t345	-	V (5C)	sea, sec, seg, sei, pvl	CIP, ERY, TET	Bengal-Bay like	Foruncoli addominali
M/51	3	ST80 (CC80)	t044	-	IVc (2B)	seh, etd, pvl	CIP	European like	Foruncoli
M/80	2	ST5 (CC5)	t002	-	IVc (2B)	seg, sei, pvl	ERY	Clone a diff. mondiale	Flebite e ascesso
M/61	3	ST88 (CC88)	t690	-	IVa (2B)	pvl	TET	Raro, in vari paesi	Erisipela gamba
M/27	3	ST93	t202 var.	-	IVa (2B)	pvl		Queensland like	Ascesso ferita
F/96	1	ST8 (CC8)	t008	-	IVc (2B)	pvl	CIP, ERY, TET, RIF	Vari paesi	Infezione cutanea
M/74	1	ST8 (CC8)	t008	+	IVa (2B)	pvl	CIP	USA300 like	Flebite

**Legenda:** M: maschio; F: femmina; ST: sequence type; CC: clonal complex; sea, sec, seg, seh: staphylococcal enterotoxins A, I, C, H; etd: exfoliative toxin D; pvl: Panton-Valentin-Leukocidin; CIP: ciprofloxacina; GEN: gentamicina; ERY: eritromicina; TET: tetraciclina; RIF: rifampicina.



**Figura I.** Provenienza probabile dei ceppi MRSA PVL+ (cerchi).

**CONCLUSIONI**

In un numero limitato di dieci isolati di MRSA PVL-positivi da campioni cutanei abbiamo identificato dei ceppi originari da tutti i continenti (vedi immagine; 1; modificato). Nonostante che non era

possibile raccogliere dei dati riguardanti gli spostamenti geografici dei pazienti tale dato rispecchia la globalizzazione della diffusione di CA-MRSA favorita dall’immigrazione, da viaggi turistici e di lavoro e da scambi commerciali interna-

zionali (2). Benchè il numero di isolati era limitato abbiamo trovato dei genotipi non comunemente identificati in paesi europei come ST88-IVa, ST772-V and ST93-IVa, fornendo ulteriore evidenza per la diversità di cloni presenti in Italia. In uno studio recente di CA-MRSA PVL-positivi raccolti da vari ospedali italiani e da vari tipi di infezioni gli autori hanno trovato una simile variabilità di genotipi con la identificazione di sei cloni differenti fra 18 isolati tipizzati (3). Cinque dei nostri ceppi sono stati isolati da pazienti con ricovero ospedaliero entro i sei mesi precedenti o erano ricoverati al momento della raccolta dei campioni; a causa della tendenza alla diffusione

intra-ospedaliera di MRSA PVL-positivi tale dato ha delle implicazioni di natura igienico-sanitaria.

## BIBLIOGRAFIA

1. Deleo FR et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Inf Dis* 2010. 375: 1557-1568.
2. Otter JA et al. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis* 2010. 10: 227-239.
3. Sanchini A et al. DNA microarray-based characterisation of Panton-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011. 30: 1399-1408.