

[原 著]

Panton-Valentine leukocidin 遺伝子保有 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* の分離頻度と分子疫学的解析

戸田宏文<sup>1)</sup>・久保修一<sup>1)</sup>・田中裕滋<sup>2)</sup>・上裕俊法<sup>1) 2)</sup>・吉田耕一郎<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>近畿大学病院中央臨床検査部

<sup>2)</sup>近畿大学医学部臨床検査医学

<sup>3)</sup>近畿大学病院安全管理部感染対策室

(令和3年7月18日受付、令和3年9月14日受理)

本研究では、各種臨床検体における Panton-Valentine leukocidin (PVL) 遺伝子を保有する methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* の分離状況を調査し、PVL 遺伝子保有 MRSA について、分子疫学解析を行った。

2016 年から 2018 年に分離された MRSA 947 株の内、PVL 遺伝子保有 MRSA は 12 株 (1.3%) であった。PVL 遺伝子保有 MRSA の分離率は、2016 年の 0.3%、2017 年の 0.9% から、2018 年には 2.8% に増加した。PVL 遺伝子保有 MRSA の主要な遺伝子型は、SCCmecIV 型/ACME 遺伝子陽性/ST8 の USA300 クローンであり、POT 型は 106-77-113 であった。

本研究により当院における各種臨床検体の PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度と主要な遺伝子型が明らかになった。PVL 遺伝子保有 MRSA による感染症の治療と感染制御を達成するためには、全国的なサーベイランスと分離株の詳細な解析を行う必要があると考える。

**Key words:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Panton-Valentine leukocidin

## 序 文

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* は病院内感染の原因菌として重要な病原微生物である<sup>1)</sup>。院内で発生する MRSA 感染症には、院内肺炎、術後創部感染症、尿路感染症などが多い<sup>2)</sup>。院内での MRSA 感染症の発症は、患者の予後に影響するとともに、医療安全上の問題に及ぶ場合がある。これらの背景から積極的な MRSA 感染症の感染管理が行われ、MRSA 分離率は減少傾向にある<sup>3)</sup>。Panton-Valentine leukocidin (PVL) は、*Staphylococcus aureus* が産生する白血球破壊毒素のひとつである<sup>4)</sup>。PVL 遺伝子保有 MRSA は、皮膚・軟部組織感染、壞死性肺炎など重篤な感染症の原因菌となることが報告され<sup>5)</sup>、本邦も含めて各国から PVL 遺伝子保有の市中感染型 MRSA の報告が行われるようになつた<sup>6)~8)</sup>。PVL 遺伝子保有 MRSA の市中感染例は若年者の皮膚・軟部組織感染に多いことから、本邦のこれまでのサーベイランスでは、皮膚・軟部組織感染症に由来する検査材料で調査され、PVL 遺伝子保有 MRSA の分離率は地域により差が認められている<sup>7)</sup>。しかしながら、皮膚・軟部組織の材料だけでなくすべての検査材料を対象とした PVL 遺伝子保有 MRSA の分離率を解析した報告はない。本研究では、近畿大学病院で分離された MRSA における PVL 遺伝子の保有状況を調査し、PVL 遺伝子保有株について分子疫学的検討を行った。

著者連絡先：(〒589-8511) 大阪府大阪狭山市大野東 377-2  
近畿大学病院中央臨床検査部  
戸田宏文  
E-mail: hirofumi-toda@med.kindai.ac.jp

## 材料と方法

### 1. 供試菌株

2016 年から 2018 年の期間に近畿大学病院で新規に分離された MRSA 947 株 (2016 年 300 株、2017 年 329 株、2018 年 318 株) を対象とした。MRSA が分離された検査材料の内訳は、呼吸器系検体 569 件 (鼻腔内スクリーニング 224 件を含む)、皮膚・軟部組織検体 189 件、泌尿器系検体 38 件、血液検体 29 件、およびその他の検体 122 件であった。分離された MRSA の由来は、院内発生 381 株、持ち込み 236 株、および外来 330 株であった。なお、MRSA の分離区分の分類は、院内発生は入院後 48 時間後に行った検査、持ち込みは入院後 48 時間以内に行った検査、外来は外来で行った検査から MRSA が検出された場合とした。

### 2. PCR による PVL 遺伝子、ならびに arginine catabolic mobile element (ACME) 遺伝子の検出

PCR のための DNA 抽出は、シカジーニアス DNA 抽出キット Cica geneus DNA extraction reagent (Kanto Chemical Co., Tokyo, Japan) を用いて行った。PVL 遺伝子 (*lukS/F-PV*)、ならびに ACME 遺伝子 (*arcA*、および *opp3AB*) の検出は、既報に従い行った<sup>9)10)</sup>。

### 3. PCR による Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) 型の確認

DNA 抽出は前述の如くを行い、SCCmec 型の確認は、Boyle らの方法に従い行った<sup>11)</sup>。

### 4. Multilocus sequence typing (MLST)

MLST は *arcC* 遺伝子、*aroE* 遺伝子、*glpF* 遺伝子、*gmk*

Table 1. Rates of *pvl* gene positive MRSA isolates collected during 2016 to 2018

Clinical samples	2016		2017		2018		2016-2018		
	positive no.	(%)	total	positive no.	(%)	total	positive no.	(%)	total
Respiratory	1	(0.5)	182	1	(0.5)	192	2	(1.0)	195
Skin and soft tissue	0 <sup>a</sup>	(0.0)	56	2 <sup>b</sup>	(2.9)	70	6	(9.5)	63
Blood	0	(0.0)	7	0	(0.0)	14	0	(0.0)	8
Urinary and genital organ	0	(0.0)	14	0	(0.0)	10	0	(0.0)	14
Other	0	(0.0)	41	0	(0.0)	43	0	(0.0)	38
Total	1 <sup>a</sup>	(0.3)	300	3 <sup>b</sup>	(0.9)	329	8	(2.8)	318
							12	(1.3)	947

<sup>a</sup>, statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between 2016 and 2018.<sup>b</sup>, statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between 2017 and 2018.

遺伝子、*pta* 遺伝子、*tpi* 遺伝子、および *yqi* 遺伝子の 7 つのハウスキーピング遺伝子を PCR で增幅し、得られた PCR 産物をシークエンスすることで行った (<http://saureus.mlst.net/>)。Sequence-type (ST) の決定は、MLST website を用いて行った (<http://saureus.mlst.net/>)。

### 5. PCR based open reading frame typing (POT)

POT 解析は、Cica Geneus Staph POT kit (Kanto Chemical Co, Tokyo, Japan) を用いて行った。POT 型は、添付文書に従って算出し、POT1-POT2-POT3 の 3 つのスコアで決定した。

### 6. 統計学的手法

統計学的処理は、カイ二乗検定を用いて評価した。統計学的な有意水準は、 $p < 0.05$  とした。

### 7. 倫理的配慮

本研究は、近畿大学医学部倫理委員会(承認番号: R03-045)の承認を得て行った。

## 結果

### 1. 各種検査材料における PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度

PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度を Table 1 に示す。2016 年から 2018 年の 3 年間に各種検査材料から分離された MRSA 947 株の内、PVL 遺伝子保有 MRSA は、12 株 (1.3%) であった。2018 年の PVL 遺伝子保有 MRSA の割合 (2.8%) は、2016 年 (0.3%,  $p < 0.05$ )、ならびに 2017 年 (0.9%,  $p < 0.05$ ) と比較して有意に増加していた。各種検査材料の分離頻度は、皮膚・軟部組織検体 8 件 (4.2%)、呼吸器系検体 4 件 (0.7%) であった。PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された呼吸器系検体 4 件の内、鼻腔内 MRSA スクリーニング検体が 1 件含まれていた。血液検体、泌尿器系検体、その他の検体から PVL 遺伝子保有 MRSA は検出されなかった。

### 2. PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された症例の臨床背景

PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された 12 例の臨床背景を Table 2 に示す。PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された患者の分離区分は、8 例が外来患者、4 例が持ち込みであった。皮膚・軟部組織検体から PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された 8 例の感染症は、癰、蜂窩織炎がそれぞれ 2 例、多発膿瘍、皮下腫瘍、癰、および骨髄炎がそれぞれ 1 例であった。皮膚・軟部組織検体から PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された 8

例に実施された抗菌化学療法は、7 例が  $\beta$  ラクタム系抗生物質、1 例がニューキノロン系抗生物質で開始された。その内、骨髄炎症例は、後日  $\beta$  ラクタム系抗生物質から抗 MRSA 薬に変更されたが、他の 7 例は、抗 MRSA 薬を使用せよとも治療が奏功した。呼吸器系検体から PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された 4 例は、すべて colonization と判断され、抗 MRSA 薬による抗菌化学療法は実施されなかった。

### 3. PVL 遺伝子保有 MRSA の分子疫学解析 (Table 2)

PVL 遺伝子保有 MRSA 12 株の SCCmec type は、全例 SCCmec type IV 型であった。ACME 遺伝子保有は 11 例に認められ、全例が *arcA* 遺伝子、および *opp3AB* 遺伝子の両遺伝子を保有していた。MLST による Sequence type は、ST8 が 10 例、ST8 の Single locus variant と ST59 がそれぞれ 1 例であった。POT 型は POT 106-77-113 が 9 例、POT 104-28-116、POT 106-93-113、および POT 106-93-121 がそれぞれ 1 例であった。

## 考察

これまで近畿地区における PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度に関する報告はなく、その実態は明らかではなかった。本研究において各種検査材料から分離された MRSA を対象に PVL 遺伝子の検索を行ったところ、12 株 (1.3%) の PVL 遺伝子保有 MRSA を確認した。PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度は、2016 年の 0.3%、および 2017 年の 0.9% から 2018 年の 2.8% に有意に増加した。その増加の主な要因は、皮膚・軟部組織検体からの検出の増加であり、既報と同様の傾向を示した<sup>7,12</sup>。一方、呼吸器系検体においても低率ではあるが PVL 遺伝子保有 MRSA が検出されたことは特筆すべきことであり、皮膚・軟部組織以外の部位の感染にも注意する必要がある。本邦における PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度は諸外国と比較して低率ではあるが<sup>5,8</sup>、PVL 遺伝子保有 MRSA による院内感染や家族内感染が報告されている<sup>13~15</sup>。また、今後インバウンドによる訪日外国人の増加により、諸外国から PVL 遺伝子保有 MRSA が本邦に持ち込まれる可能性は高いと考えられることより、本邦における PVL 遺伝子保有 MRSA の分離頻度を明らかにするための全国規模の継続したサーベイランスを行うことが必要である。

皮膚・軟部組織検体から PVL 遺伝子保有 MRSA が分離された 8 例の内、7 例は皮膚・軟部組織感染症、1 例は深部

Table 2. Clinical information and molecular epidemiological analysis of *pvl* gene positive MRSA isolates

Isolates no.	Isolated year	Age (years)	Patient location	Specimens	Disease	Chemotherapy	SCCmec type	ACME gene <i>opp3AB</i> arcA	ST	POT score	outcome
1	2016	70	outpatient	sputum	chronic cough (colonization)	no treatment	IV	+	+	ST8	106-77-113 N/A
2	2017	60	outpatient	pus	furuncle	CTRX → CFPN	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
3	2017	31	outpatient	pus	furuncle	CFPN	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
4	2017	81	inpatient*	nasal swab	nasal screening (colonization)	no treatment	IV	-	-	ST59	104-28-116 N/A
5	2018	16	outpatient	pus	cellulitis	TAZ/PIPC → LVFX	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
6	2018	91	inpatient*	sputum	respiratory failure (colonization)	CTRX → transfer	IV	+	+	ST8 SLV	106-93-113 N/A
7	2018	79	outpatient	pus	subcutaneous mass	CEZ	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
8	2018	49	outpatient	pus	carbuncle	LVFX	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
9	2018	34	inpatient*	sputum	aspiration pneumonia (colonization)	SBT/ABPC	IV	+	+	ST8	106-77-113 N/A
10	2018	57	inpatient*	pus	osteomyelitis	TAZ/PIPC → VCM → DAP	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
11	2018	43	outpatient	pus	cellulitis	CEZ → CEX	IV	+	+	ST8	106-77-113 recovery
12	2018	27	outpatient	pus	multiple abscess	CEX → recurring after 3 months, MINO	IV	+	+	ST8	106-93-121 recovery

\*, PVL-positive MRSA isolate was detected at the time of admission.

SCCmec, Staphylococcal cassette chromosome *mec*.

ACME, arginine catabolic mobile element.

ST, sequence type.

SLV, single-locus variants.

POT, PCR based open-reading frame typing.

CTRX, ceftriaxone. CFPN, cefcapene pivoxil. TAZ/PIPC, tazobactam/piperacillin. LVFX, levofloxacin. CEZ, cefazolin. SBT/ABPC, sulbactam/ampicillin. VCM, vancomycin. DAP, daptomycin. CEX, cefalexin. MINO, minocycline.

N/A, not applicable.

感染症（骨髄炎）と診断され、抗菌化学療法が行われた。7例中6例は、 $\beta$ ラクタム系抗菌薬かニューキノロン系抗菌薬（分離菌のlevofloxacinのMICは4  $\mu$ g/mLで耐性）による治療で完治した。MRSA 感染症の治療ガイドライン改訂版2019においては、Community-acquired MRSA は $\beta$ ラクタム系抗菌薬に対して感性を示す場合があるが、 $\beta$ ラクタム系抗菌薬で安易に高度耐性化するので $\beta$ ラクタム系抗菌薬は使用しないことが謳われている<sup>16)</sup>。これらの症例では $\beta$ ラクタム系抗菌薬やニューキノロン系抗菌薬が投与されていたが、切開・排膿などの外科的処置が行われたことで局所の感染コントロールが良好であったことが完治した要因の一つと考えられた。一方、残りの1例(Table 2, Case 12)は経口セファロスポリン薬(cefalexin)で一時的に臨床効果が認められたが、3ヶ月後に再燃した。本症例のようにCA-MRSAによる難治性の皮膚・軟部組織感染症の場合においては、 $\beta$ ラクタム系抗菌薬のMICが低くても $\beta$ ラクタム系抗菌薬単独療法では再燃するリスクがあり、原則として薬剤感受性試験に基づいた抗MRSA薬を含めた抗菌化学療法に外科的処置が

必要であると考えられた<sup>16)17)</sup>。呼吸器系検体からPVL遺伝子保有MRSAが分離された4例は、すべてコロナイゼーションと判断され抗菌化学療法は行われなかつたが、PVL遺伝子保有MRSAは健常人においても感染症を生じる場合がある<sup>5)</sup>。また、PVL遺伝子保有MRSAの感染症患者を担当した医療スタッフが同菌による重度の感染症を発症した事例が報告されている<sup>13)</sup>。強毒株であるPVL遺伝子保有MRSAのコロナイゼーションが認められる宿主は、病院感染対策上注意が必要であり、PVL遺伝子保有MRSAの保菌者が増加した場合には、厳重な接触感染対策が必要であると考えられる。

本研究で主に分離されたSCCmecIV型/ACME遺伝子陽性/ST8のPVL遺伝子保有MRSAは、USA300クローニングに相当する。このUSA300クローニングは、本邦のみならず諸外国において皮膚・軟部組織感染症から分離されるPVL遺伝子保有MRSAの流行クローニングの一つである<sup>5)</sup>。一方、SCCmecIV型/ACME遺伝子陰性/ST59のPVL遺伝子保有MRSAは、台湾の流行クローニングであることが報告されている<sup>18)19)</sup>。本研究でSCCmecIV型/ACME遺伝子陰性/ST59のPVL遺

伝子保有 MRSA が分離された患者は、台湾を含む海外渡航歴は確認できなかった。当該患者は、狭心症、慢性腎不全、肺結核などの既往歴を有し、当院以外にも他の医療機関で通院治療やデイケアサービスを受けていた。すなわち、SCCmecIV 型/ACME 遺伝子陰性/ST59 の PVL 遺伝子保有 MRSA は、すでに市中や当院の近隣の医療関連施設においても定着している可能性が考えられた。今後の研究においては、PVL 遺伝子保有 MRSA のパンデミッククローンの USA300 クローンのみならず、台湾流行クローンの SCCmecIV 型/ACME 遺伝子陰性/ST59 の PVL 遺伝子保有 MRSA の動向にも注目しなければならないと考えられた。

POT 解析は、MRSA 毎に保有状況が異なる Phage open-reading frame をマルチプレックス PCR で検出することで菌株識別を行うことができる新たな遺伝子学的解析手法の一つである<sup>20)</sup>。これまで主に MRSA による院内感染の伝播経路の探索に用いられ、その有用性が報告してきたが<sup>21)</sup>、本研究では、市中感染による PVL 遺伝子保有 MRSA に対して POT 解析による評価を行った。USA300 クローンの SCCmecIV 型/ACME 遺伝子陽性/ST8 の PVL 遺伝子保有 MRSA の主要な POT 型は POT106-77-113 であったが、POT 106-77-113 とは異なる POT 型も認められた。このような POT 型の多様化は、市中において PVL 遺伝子保有 MRSA が定着し、宿主内で遺伝子の挿入や脱落が起こった結果と考えられる。一方で POT 解析は、本邦における MRSA の病院内感染の主流であった SCCmecII 型の New York/Japan クローンの菌株識別に主眼を置いた設計になっているため<sup>20)</sup>、PVL 遺伝子保有 MRSA のような CA-MRSA に対する菌株識別能は十分に検証されていない。今後の研究として、POT 解析の CA-MRSA に対する菌株識別能の評価が必要であると考えられる。

本研究では、いくつかの限界点と今後の課題があげられる。過去の報告では、PVL 遺伝子保有 MRSA の分離状況は地域により異なることが報告されているが<sup>22)</sup>、本研究は 1 医療機関で収集した MRSA を対象としているため、本邦の分離状況を正しく反映していない可能性がある。また、分子疫学的評価法として、本研究では MLST や POT 解析などの DNA 配列解析を用いたが、菌株識別のゴールドスタンダードとされるパルスフィールドゲル電気泳動解析を行うことで、より詳細な分子疫学解析が可能になると考えられる。

本研究において、PVL 遺伝子保有 MRSA の分離率は増加し、主要なクローンは SCCmecIV 型/ACME 遺伝子陽性/ST8 の USA300 クローンであることが明らかとなった。今後も PVL 遺伝子保有 MRSA は増加することが予想され、PVL 遺伝子保有 MRSA による感染症の治療や感染制御を達成するため、全国的なサーベイランスに加えて、詳細な菌株の解析を行う必要があると考えられる。

## 文 獻

- 1) Köck, R, K Becker, B Cookson, et al. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. Euro Surveill 15 (41): pii=19688. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19688>
- 2) Franklin, DL. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 339 (8): 520-532.
- 3) Tsutsui, A, S Suzuki. 2018. Japan nosocomial infections surveillance (JANIS): a model of sustainable national antimicrobial resistance surveillance based on hospital diagnostic microbiology. BMC Health Serv Res 18: 799. <https://doi.org/10.1186/s12913-018-3604-x>
- 4) Panton, PN, FCO Valentine. 1932. Staphylococcal toxin. Lancet 219: 506-508 doi: 10.1016/S0140-6736 (01) 24468-7.
- 5) Yamamoto, T, A Nishiyama, T Takano. 2010. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: community transmission, pathogenesis, and drug resistance. J Infect Chemother 16: 225-254 doi: 10.1007/s10156-010-0045-9.
- 6) Ito, A, H Nakaminami, T Fujii, et al. 2015. Increase in SCCmec type IV strains affects trends in antibiograms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary-care hospital. J Med Microbiol 64: 745-751 doi: 10.1099/jmm.0.000080.
- 7) Takadama, S, H Nakaminami, S Aoki, et al. 2017. Prevalence of skin infections caused by Panton-Valentine leucocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan, particularly in Ishigaki, Okinawa. J Infect Chemother 23: 800-803. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2017.04.016>
- 8) Vandenesch, F, T Naimi, MC Enright, et al. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 9: 978-984.
- 9) Lina, G, Y Piémont, F Godail-Gamot, et al. 1999. Involvement of Panton-Valentine leucocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 29: 1128-1132.
- 10) Diep, BA, GG Stone, L Basuino, et al. 2008. The arginine catabolic mobile element and staphylococcal chromosomal cassette mec linkage: convergence of virulence and resistance in the USA300 clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 197: 1523-1530.
- 11) Boye, K, MD Bartels, IS Andersen, et al. 2007. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I-V. Clin Microbiol Infect 13: 725-727 doi: 10.1111/j.1469-0991.2007.01720.x.
- 12) Kimura, Y, Y Morinaga, N Akamatsu, et al. 2016. Antimicrobial susceptibility and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Japanese secondary care facility. J Infect Chemother 22: 14-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2015.08.011>
- 13) Kobayashi, T, H Nakaminami, H Ohtani, et al. 2020. An outbreak of severe infectious diseases caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone among hospitalized patients and nursing staff in a tertiary care university hospital. J Infect Chemother 26: 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.07.009>
- 14) Uehara, Y, M Mori, M Tauchi, et al. 2019. First report on USA300 outbreak in a neonatal intensive care unit detected by polymerase chain reaction-based open reading

- frame typing in Japan. J Infect Chemother 25: 400-403. <http://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.12.002>
- 15) Uehara, Y, T Ito, Y Ogawa, et al. 2015. Molecular epidemiologic study of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Panton-Valentine leucocidin gene among family members in Japan. J Infect Chemother 21: 700-702. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2015.05.005>
- 16) 日本化学療法学会, 日本感染症学会, MRSA 感染症の治療ガイドライン作成委員会編. 2019. MRSA 感染症の治療ガイドライン 改訂版 2019 東京.
- 17) Nathwani, D, M Morgan, RG Masterton, et al. 2008. Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community. J Antimicrob Chemother 61: 976-994 doi: 10.1093/jac/dkn096.
- 18) Wang, CC, WT Lo, ML Chu, et al. 2004. Epidemiological typing of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children in Taiwan. Clin Infect Dis 39: 481-487.
- 19) Takano, T, W Higuchi, T Otsuka, et al. 2008. Novel characteristics of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains belonging to multilocus sequence type 59 in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 52: 837-845 doi: 10.1128/AAC.01001-07.
- 20) Suzuki, M, Y Tawada, M Kato, et al. 2006. Development of a rapid strain differentiation method for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Japan by detecting phage-derived open-reading frames. J Appl Microbiol 101: 938-947 doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02932.x.
- 21) Nakaie, K, K Yamada, K Park, et al. 2016. Effectiveness of weekly polymerase chain reaction-based open reading frame typing analysis of all newly isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains for controlling nosocomial infections. J Infect Chemother 22: 733-737. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2016.07.007>

## Prevalence and molecular epidemiological characterization of Panton-Valentin leucocidin-carrying methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from diverse specimen sources at a university hospital, Japan

Hirofumi Toda<sup>1)</sup>, Shuichi Kubo<sup>1)</sup>, Yuji Tanaka<sup>2)</sup>, Toshinori Kamisako<sup>1,2)</sup>, Koichiro Yoshida<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Clinical Laboratory, Kindai University Hospital

<sup>2)</sup> Department of Clinical Laboratory Medicine, Kindai University Faculty of Medicine

<sup>3)</sup> Department of Medical Safety Administration, Division of Infection Control and Prevention, Kindai University Hospital

We investigated the prevalence of Panton-Valentin leucocidin (PVL) genes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates originating from a variety of specimen sources and determined molecular epidemiologic characteristics of PVL-positive MRSA strains. From 2016 through 2018, a total of 947 strains of MRSA isolated from 569 respiratory samples, 189 skin and soft tissue samples, 38 urinary and genital organ samples, 29 blood samples, and 122 other samples, were collected at Kindai University Hospital. All MRSA isolates were screened by polymerase chain reaction (PCR) for the presence of PVL genes. Isolates that carried the PVL genes were subsequently tested for the presence of the arginine catabolic mobile element (ACME) genes and were further characterized via Staphylococal cassette chromosome *mec* (SCCmec) typing, multilocus sequence typing (MLST), and PCR based open-reading frame typing (POT). 12 of 947 (1.3%) clinical isolates obtained from 2016 to 2018 harbored the PVL genes. Prevalence of PVL-positive MRSA has increased over time from 0.3% in 2016, to 0.9% in 2017 and to 2.8% in 2018. The majority of PVL-positive strains represented ST8 harboring SCCmec type IV, also known as USA300. They all were positive for ACME genes and exhibited the same POT type (POT scores, 106-77-113). In summary, the present study revealed a gradually increasing prevalence of PVL-positive MRSA, and also clarified that ACME-positive ST8-SCCmec type IV strain is the most prevalent clone in MRSA isolates collected at our hospital. Nationwide surveillance is needed to assess the trends in the molecular epidemiology of MRSA to control PVL-positive MRSA causing diverse infections.