

DETEKSI GEN *PANTON-VALENTINE LEUKOCIDIN* DARI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PADA PASIEN INFEKSI KULIT DAN JARINGAN IKAT DI DENPASAR

Nyoman Sri Budayanti,¹ Luh Mas Rusyati,² Ida Bagus Putra Dwija,¹ Ni Made Indah Puspasari,²
Made Swastika Adiguna²

1. Bagian Mikrobiologi Klinik FK Universitas Udayana
2. Bagian Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin FK Universitas Udayana

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan bakteri komensal pada manusia, tetapi dalam kondisi tertentu dapat menjadi patogen. Panton-valentinel Leukocidin (PVL) adalah faktor virulensi *S. aureus* yang bersifat toksik leukosidal dan ditemukan pada infeksi kulit dan jaringan ikat. Sampai saat ini belum ada laporan mengenai gen PVL *S. aureus* di kota Denpasar.

Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan data prevalensi gen PVL *S. aureus* pada pasien infeksi kulit di masyarakat di Denpasar.

Metode penelitian observational cross-sectional, yang dilakukan pada Agustus 2009 sampai April 2010. Sampel penelitian adalah swab dasar luka pasien infeksi kulit yang memenuhi kriteria inklusi. Seluruh sampel penelitian dikultur dan dilakukan uji katalase dan koagulase. Deteksi adanya gen PVL dilakukan dengan teknik polimerase chain reaction (PCR) menggunakan primer spesifik, yaitu luk F-PV dan luk S-PV.

Hasil penelitian pada 200 pasien infeksi kulit, 57% di antaranya disebabkan oleh *S. aureus*, hanya 46,5% mempunyai gen PVL. Secara klinis, ektima merupakan kasus tersering, dengan *S. aureus* sebagai penyebab terbanyak, yaitu sebesar 53,1%, namun hanya 37,2% dari isolat tersebut yang memiliki gen PVL. Manifestasi klinis lain yang menarik adalah furunkel disebabkan oleh *S. aureus* (4,5%) seluruhnya memiliki gen PVL. Pada penelitian ini tidak didapatkan manifestasi klinis infeksi *S. aureus* yang berat walaupun gen PVL positif.

Prevalensi gen PVL *S. aureus* di Denpasar cukup tinggi dibandingkan dengan penelitian lain sehingga diperlukan kewaspadaan dan penanganan yang adekuat. (MDVI 2014; 41/2:54 - 59)

Kata kunci : infeksi kulit, *Staphylococcus aureus*, gen PVL

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is one of commensal organisms living in the human body, however in certain conditions this bacterium can be a pathogen that cause serious diseases. Panton-valentine leukocidin (PVL) is one of the virulence factors of *S. aureus*, which is toxic leukocidal and commonly found in skin and soft tissue infections. Until now, there is no report about PVL gene prevalence in Denpasar.

The aim of study is to determine the prevalence of PVL gene in *S. aureus* that cause skin and soft tissue infections in Denpasar.

An observational cross-sectional analytic study, was conducted from August 2009 until April 2010. Specimens collected from base of lesion in patients with skin infections who came to Sanglah General Hospital and Community Health Centers in Denpasar. All patients met the inclusion criteria. All samples were cultured. Catalase and coagulase tests were performed. Detection of PVL gene was done by PCR using specific primers, luk F-PV and luk S-PV.

S. aureus isolates were found in 114 (57%) from 200 patients, but only 46,5% isolates had PVL gene. The most common manifestation was ectyima, 81 cases (40,5%).

The most common causative agent for ectyima *S. aureus* (53,1%), was but only 37,2% had PVL gene. However, all of furuncle cases were caused by *S. aureus* PVL gene positive. In this study, there were no severe manifestations although *S. aureus* isolates contained PVL gene.

S. aureus harboring PVL gene is quite high in Denpasar, even though the clinical manifestation. Therefore, more attention should be paid in were not severe management of skin and soft tissue infections. (MDVI 2014; 41/2:54 -59)

Key words: skin infections, *Staphylococcus aureus*, PVL gene

Korespondensi :
Jl. Diponegoro, Bali
Telp. 0361 - 257517
Email: nyomansribudayanti@gmail.com

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan salah satu bakteri komensal pada manusia yang terdapat pada nares anterior, daerah lipatan kulit paha, perineum, aksila dan vagina. Meskipun merupakan bakteri komensal, dalam keadaan tertentu *S. aureus* dapat menjadi patogen dan berpotensi menimbulkan penyakit, mulai dari infeksi kulit ringan sampai infeksi sistemik, misalnya sepsis, dan *toxic shock syndrome*, yang dapat mengancam nyawa.

S. aureus memiliki berbagai faktor virulensi yang berperan dalam mengatasi pertahanan tubuh, menyerang, bertahan, dan berkolonisasi di jaringan, dan sebagian lagi bertanggung jawab atas sindrom klinis tertentu. *Panton valentine leukocidin* (PVL) merupakan salah satu faktor virulensi *S. aureus*. Toksin PVL dapat menyebabkan kerusakan leukosit dan jaringan (nekrosis), tetapi peran pasti PVL dalam kasus infeksi berat masih belum jelas. Gen PVL dihubungkan dengan infeksi spesifik pada manusia, misalnya infeksi primer kulit dan jaringan ikat lunak serta pneumonia berat, dengan angka kematian 75%.^{1,2} *S. aureus* dengan gen PVL positif ditemukan sekitar 5%, sedangkan wabah karena *S. aureus* sensitif metisilin (*methicillin sensitive Staphylococcus aureus*; MSSA) yang memiliki toksin PVL pernah dilaporkan. Prevalensi tinggi isolat *S. aureus* gen PVL positif ditemukan di Cape Verde (35%)³ dan di Indonesia (10,6%),⁴ sedangkan prevalensi rendah ditemukan di Jerman, Belanda dan Amerika. Gen PVL dilaporkan lebih sering ditemukan pada isolat *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) daripada MSSA, terutama pada isolat *Community associated* (CA)-MRSA.

Toksin PVL sebagai faktor virulen utama pada patogenisitas bakteri dibuktikan dengan sering ditemukannya isolat *S. aureus* penghasil toksin leukosidal pada infeksi kulit dan jaringan ikat terutama furunkulosis, abses kutan, dan pneumonia berat.^{5,6} PVL juga dilaporkan terkait dengan penyakit berat pada anak atau dewasa tanpa riwayat kontak dengan pelayanan kesehatan sebelumnya.^{7,8} Infeksi kulit stafilokokal dapat disebabkan oleh MRSA maupun MSSA. Selain ditemukan pada MRSA, terutama CA-MRSA, gen PVL juga dapat ditemukan pada MSSA.

Pada penelitian oleh Severin tahun 2008 di Surabaya dan Semarang ditemukan 10,6 % MSSA dengan gen PVL positif.⁴

Berdasarkan uraian tersebut, terlihat bahwa gen PVL di Indonesia memiliki angka kejadian yang tinggi. Belum ada laporan mengenai keberadaan gen PVL pada isolat *S. aureus* dari pasien infeksi primer kulit dan jaringan ikat lunak di Denpasar. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian secara molekular untuk mendeteksi gen PVL pada isolat *S. aureus* pasien infeksi kulit dan jaringan ikat lunak

Hasil penelitian ini akan memberi data prevalensi gen PVL pada *S. aureus* yang diisolasi dari pasien infeksi kulit dan jaringan ikat lunak di kota Denpasar sehingga dapat digunakan sebagai dasar pola sebaran *S. aureus* gen PVL positif penyebab infeksi kulit dan jaringan ikat lunak di

Denpasar khususnya dan Bali umumnya. Hasil penelitian ini juga dapat digunakan para klinisi untuk mengetahui aspek molekular dan aspek klinis infeksi *S. aureus* dengan gen PVL positif. Bagi pemegang kebijakan dalam bidang kesehatan, serta dapat digunakan sebagai data awal untuk pemetaan gen PVL di Bali.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi deskriptif dengan rancangan potong lintang tanpa *sampling*. Populasi penelitian ini adalah pasien infeksi kulit yang berkunjung ke Puskesmas di sekitar Denpasar dan Poliklinik Kulit RSUP Sanglah pada bulan Agustus 2009 hingga April 2010. Sampel penelitian adalah *swab* (usapan) dasar luka atau jaringan ikat lunak pada pasien infeksi kulit. Perhitungan besar sampel menggunakan rumus untuk uji hipotesis terhadap 2 proporsi.⁹ Berdasarkan perhitungan rumus tersebut didapatkan besar sampel minimal 50 orang. Semua subyek penelitian diberikan penjelasan selengkapny tentang penelitian ini, kemudian diminta persetujuan tertulis untuk ikut dalam penelitian. Pengumpulan data demografi subyek dilakukan dengan wawancara menggunakan kuesioner.

Pengambilan bahan pemeriksaan dari *swab* luka

Setiap subyek dilakukan 2 kali *swab* dasar luka. *Swab* pertama menggunakan lidi kapas steril yang digunakan untuk membuat preparat Gram. Sedangkan *swab* kedua menggunakan lidi kapas dari media transpor yang segera dimasukkan ke dalam media transpor yang telah tersedia. *Swab* segera dikirim ke laboratorium tidak melebihi 48 jam sejak pengambilan dilakukan untuk dilakukan kultur.

Pemeriksaan kultur

Pemeriksaan kultur dan identifikasi bakteri dilakukan di Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. *Swab* dalam media transpor diinokulasi pada media agar darah dan ke dalam *Phenyl mannitol salt broth*, kemudian diinkubasi semalam pada suhu 37°C. Spesimen pada mannitol broth yang berwarna kuning kemudian disubkultur di atas media agar darah. Media tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C dan diidentifikasi koloni yang tumbuh. Terhadap koloni yang dicurigai, dilakukan pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase. Bakteri diidentifikasi sebagai *S. aureus* bila didapatkan bakteri kokus Gram positif, uji katalase positif, dan uji koagulase positif.

Pemeriksaan gen PVL

Ekstraksi DNA *S. aureus* menggunakan *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche). Cara kerja isolasi

mengikuti protokol kerja yang tertera pada kit. Deteksi gen PVL menggunakan primer spesifik, yaitu primer luk-PV-1, 5'-ATCATTAGGTTAAATGTCTGGACATGATCCA-3' dan primer luk-PV-2, 5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC-3'. Amplifikasi dilakukan dengan kit reagen *polymerase chain reaction* (PCR) GeneAmp 9600 (Perkin-Elmer Corporation, Applied Biosystems, Foster City, CA). Prosedur amplifikasi dimulai dengan pemanasan awal 95°C selama 5 menit, kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus: 94°C 1 menit, 57°C 30 detik, 72°C 1 menit, dan perpanjangan terakhir 72°C selama 4 menit. Produk PCR dilihat dengan teknik elektroforesis menggunakan gel Agarosa 0,8% (FMC Bioproduct).¹⁰ Seluruh pemeriksaan deteksi gen PVL dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini, didapatkan 200 sampel spesimen infeksi kulit dan jaringan ikat, dari 200 pasien yang memenuhi kriteria penelitian. Didapatkan 114 (57%) isolat *S. aureus* dan hanya 46,5% yang memiliki gen PVL. Subyek penelitian sebagian besar berjenis kelamin lelaki (62,5%). Jumlah isolat *S. aureus* yang terisolasi dari subyek perempuan hampir sama banyak dengan yang terisolasi dari lelaki, yaitu 56% pada perempuan dan 57,6% pada lelaki. Tetapi isolat *S. aureus* dengan gen PVL positif lebih banyak ditemukan pada perempuan, yaitu 50% berbanding 44,4% pada lelaki. Pada penelitian ini kelompok usia sampel penelitian dibagi menjadi 5, yaitu kelompok usia prasekolah (<1-5 tahun), kelompok anak usia sekolah (6-18 tahun), kelompok usia dewasa muda (19-44 tahun), kelompok usia dewasa (45-65 tahun), dan kelompok usia tua (>65 tahun). Infeksi kulit terbanyak ditemukan pada anak usia sekolah (6-18 tahun), yaitu 35%, sedikit lebih tinggi dibandingkan pada usia prasekolah (1-5 tahun). Begitu pula jumlah isolat *S. aureus* didapatkan hampir sama antara kedua kelompok ini, tetapi isolat *S. aureus* dengan gen PVL positif pada anak usia sekolah lebih tinggi daripada anak usia prasekolah, yaitu 53,35% berbanding 42%

(Tabel 1).

Ektima merupakan jenis infeksi kulit terbanyak pada anak kelompok usia sekolah (15%), disusul kelompok usia prasekolah, dewasa muda, dewasa, dan usia tua, yaitu 11,5%, 7%, 4% dan 3% berturut-turut. Jenis infeksi kulit lainnya didapatkan tidak merata pada kelompok usia pasien dengan rerata jumlah kasus adalah < 5% (tabel 2).

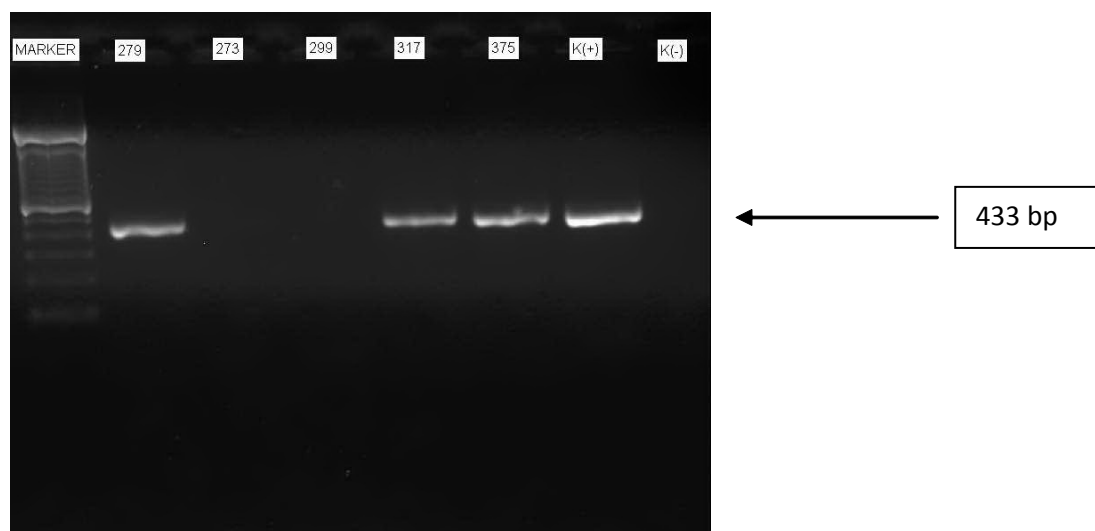
Terdapat 114 (57%) dari 200 pasien yang terinfeksi oleh *S. aureus* dan 46,5% isolat memiliki gen PVL. Ektima adalah infeksi kulit terbanyak ditemukan, yaitu sebesar 40,5%. *S. aureus* sebagai penyebab ektima ditemukan sebesar 53,1% dari seluruh pasien ektima, dan 37,2% dari isolat tersebut yang memiliki gen PVL. Seluruh pasien furunkel disebabkan oleh *S. aureus* gen PVL positif. Sedangkan infeksi sekunder yang terjadi pada skabies semuanya disebabkan oleh *S. aureus*, tetapi hanya 1 yang memiliki gen PVL. Didapatkan satu kasus *Staphylococcus scalded* skin syndrome pada penelitian ini dan terbukti disebabkan oleh *S. aureus* yang tidak memiliki gen PVL (tabel 3)

PEMBAHASAN

Staphylococcus aureus adalah patogen utama yang dapat menyebabkan bermacam penyakit, mulai dari infeksi kulit ringan hingga pneumonia berat. Infeksi *S. aureus* berat sering dihubungkan dengan gen PVL penghasil toksin PVL.^{10,11} Isolat MSSA maupun MRSA dapat mempunyai gen PVL. *S. aureus* dengan gen PVL positif berhubungan dengan infeksi kulit dan jaringan ikat tetapi tidak berhubungan dengan bakteriemia.⁶ Pada penelitian ini ditemukan 57% bakteri penyebab infeksi kulit adalah *S. aureus*. Hasil ini hampir sama dengan yang ditemukan oleh Lina, dkk (1999). Tetapi isolat *S. aureus* gen PVL positif jauh ditemukan lebih tinggi pada penelitian Lina yaitu sebesar 85%, sedangkan pada penelitian ini hanya 46,5%.¹⁰ Penelitian Tong, dkk (2010) menemukan hanya 40% dari isolat MSSA mempunyai gen PVL positif.¹² Sedangkan Aires-de-Sousa, dkk (2006) menemukan 35% isolat MSSA dengan gen PVL positif.³ Hasil penelitian agak berbeda dengan hasil penelitian Melles, dkk

Tabel 1. Sebaran jenis kelamin, kelompok usia, dan kepositivan gen PVL pada isolate *S. aureus* (n =200)

Variabel	Sampel penelitian n (%)	Terisolasi <i>S.aureus</i> n (%)	Gen pvl positif n (%)
Jenis Kelamin :			
* Perempuan	75 (37,5)	42 (56)	21 (50)
* Laki-laki	125 (62,5)	72 (57,6)	32 (44,4)
Kelompok usia :			
* <1 - 5 tahun	61 (30,5)	38 (62,3)	16 (42,1)
* 6 - 18 tahun	70 (35)	45 (64,3)	24 (53,3)
* 19 - 44 tahun	40 (20)	21 (52,5)	10 (47,6)
* 45 - 65 tahun	21 (10,5)	8 (38,1)	2 (25)
* > 65 tahun	8 (4)	2 (25)	1 (50)



Gambar 1 : Elektroforesis produk PCR menggunakan gel agarose mendeteksi adanya pita sebesar 433 bp untuk gen pvl

Tabel 2. Sebaran jenis infeksi pada kelompok usia penelitian (n = 200)

Jenis infeksi	Kelompok usia (tahun)				
	<1-5 n (%)	6 - 18 n (%)	19 - 44 n (%)	45 - 65 n (%)	>65 n (%)
Ektima	23 (11,5)	30 (15)	14 (7)	8 (4)	6 (3)
Vulnus + infeksi sekunder	2 (1)	9 (4,5)	3 (1,5)	4 (2)	1 (0,5)
Impetigo bulosa	10 (5)	8 (4)	0	0	0
Folikulitis	9 (4,5)	4 (2)	4 (2)	0	0
Selulitis	1 (0,5)	2 (1)	2 (1)	6 (3)	1 (0,5)
Non bulous impetigo	5 (2,5)	4 (2)	0	0	0
Furunkel	2 (1)	2 (1)	3 (1,5)	2 (1)	0
Abses subkutan	3 (1,5)	2 (1)	5 (2,5)	0	0
Karbunkel	0	4 (2)	1 (0,5)	1 (0,5)	0
Paronikia	2 (1)	1 (0,5)	2 (1)	0	0
Erisipelas	2 (1)	1 (0,5)	1 (0,5)	0	0
Skabies	0	3 (1,5)	1 (0,5)	0	0
Dermatitis	0	0	3 (1,5)	0	0
Kandidiasis	1 (0,5)	0	0	0	0
Ulkus	0	0	1 (0,5)	0	0
SSS	1 (0,5)	0	0	0	0
Jumlah	61 (30,5)	70 (35)	40 (20)	21(10,5)	8 (4)

(2006), Kuehnert, dkk (2006) dan Holmes, dkk (2005) yaitu 0,6%, 1% dan 1,6% berturut-turut.^{6,13,14}

Pada penelitian ini semua pasien furunkel (9) disebabkan oleh *S. aureus* yang mempunyai gen PVL positif. Tujuh puluh lima persen karbunkel dan 70% folikulitis disebabkan oleh *S. aureus* dengan gen PVL positif. Hasil ini berbeda dengan yang dilaporkan oleh Yamasaki, dkk (2005), 40% furunkel disebabkan oleh *S. aureus* dengan gen PVL positif, serta karbunkel, abses dan folikulitis hanya 28%, 14% dan 55% berturut-turut disebabkan oleh *S. aureus* dengan gen PVL. Rendahnya isolasi gen PVL di Jepang disebabkan oleh perbedaan distribusi geografi dan perbedaan kriteria diag-

nosis furunkel atau infeksi kulit lainnya yang digunakan di Jepang.¹⁵

S. aureus dengan gen PVL positif terbanyak ditemukan pada kelompok anak usia sekolah, yaitu 53,3%, diikuti usia dewasa muda, anak prasekolah dan usia dewasa. *S. aureus* positif pada usia tua (lebih dari 65 tahun), sulit ditentukan karena dari 8 pasien, hanya 2 disebabkan oleh *S. aureus* dan 1 isolat merupakan *S. aureus* dengan gen PVL positif. Hasil ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Tong, dkk (2010). Sebagian besar *S. aureus* dengan gen PVL positif ditemukan pada usia 10 tahun, kemudian jumlahnya menurun pada usia 20-39 tahun.¹² Yamasaki melaporkan sebagian

Tabel 3: Proporsi pasien terinfeksi *S.aureus* dan *S.aureus* gen PVL positif pada berbagai jenis infeksi kulit (n=200)

Jenis infeksi	Pasien penelitian		Terisolasi <i>S. aureus</i>		Memiliki gen PVL	
	n	%	n	%	n	%
Ectyma	81	40,5	43	53,1	16	37,2
Vulnus + infeksi sekunder	19	9,5	8	42,1	4	50,0
Impetigo bulosa	18	9,0	11	61,1	4	36,4
Folikulitis	17	8,5	10	58,8	7	70,0
Selulitis	12	6,0	5	41,6	1	20,0
Non Bulous impetigo	9	4,5	7	77,8	4	57,1
Furunkel	9	4,5	9	100	9	100
Abses subkutan	11	5,5	6	54,5	1	16,7
Karbunkel	5	2,5	4	80,0	3	75,0
Paronikia	5	2,5	4	80,0	1	25,0
Erysipelas	4	2,0	1	25,0	1	100
Skabies + infeksi sekunder	4	2,0	4	100	1	25,0
Dermatitis +infeksi sekunder	2	1,0	1	50	0	0
Kandidiasis	1	0,5	0	0	0	0
Ulkus	1	0,5	0	0	0	0
SSS	1	0,5	1	100	0	0
Jumlah	200	100	114	57,0	53	46,5

besar *S. aureus* dengan gen PVL positif terisolasi pada pasien usia muda tanpa penyakit penyerta, terutama pada furunkel. 15 Gillet, dkk (2002) menemukan *S. aureus* dengan gen PVL positif terbanyak pada rerata usia 14,8 tahun. 11 Tinelli, dkk (2009) mendapatkan infeksi kulit karena *S. aureus* dengan gen PVL positif cenderung terjadi pada kelompok usia anak dan dewasa muda.¹⁶

Diperkirakan gen PVL mampu berintegrasi dengan berbagai variasi genetik *S. aureus*. Hal ini dibuktikan oleh Rasigade, dkk (2010) yang dalam penelitiannya menemukan MSSA dengan gen PVL positif lebih tersebar dua kali lebih banyak daripada CA-MRSA.¹⁶ Peran gen PVL dalam patogenesis infeksi *S. aureus* masih menjadi perdebatan di antara ahli. Beberapa ahli memperkirakan bakteriofag pembawa gen PVL juga berperan dalam proses infeksi.¹⁷ Laporan yang dikemukakan oleh Helgason, dkk (2007) yaitu *S. aureus* dengan gen PVL positif dapat disebarkan secara global melalui perjalanan antar negara. Seseorang dapat terinfeksi *S. aureus* dengan gen PVL positif karena tidak memiliki kekebalan sebelumnya terhadap galur tersebut. Selain itu seorang yang bepergian pada umumnya mengkonsumsi obat profilaksis, khususnya antibiotik profilaksis yang memudahkannya menjadi karier *S. aureus* dengan gen PVL positif.¹⁸ Hal ini merupakan salah satu kemungkinan mengapa lebih banyak isolat *S. aureus* dengan gen PVL positif ditemukan di Bali, mengingat Bali merupakan tujuan pariwisata internasional. Kemungkinan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini yang mendapatkan prevalensi *S. aureus* dengan gen PVL positif cukup tinggi di Bali. Penelitian lebih lanjut, terutama pada daerah bukan tujuan pariwisata di Indonesia, masih diperlukan untuk membuktikan kebenaran kemungkinan tersebut.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini *S. aureus* dengan gen PVL positif ditemukan lebih banyak pada perempuan dan pada anak kelompok usia sekolah. Sedangkan 9 pasien furunkel semuanya disebabkan oleh *S. aureus* dengan gen PVL positif. Meskipun tidak seluruh *S. aureus* terisolasi mempunyai gen PVL, tetapi hasil penelitian ini menunjukkan angka cukup tinggi bila dibandingkan dengan penelitian di negara lain. Keberadaan *S. aureus* dengan gen PVL positif bervariasi di antara beberapa negara. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian lebih lanjut dari daerah lain di Indonesia, terutama daerah bukan tujuan pariwisata untuk melihat prevalensi *S. aureus* dengan gen PVL positif di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bhattacharya D, Carleton H, Tsai CJ, Baron EJ, Perdreau-Remington F. Differences in clinical and molecular characteristics of skin and soft tissue methicillin-resistant staphylococcus aureus isolates between two hospitals in Northern California. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(6): 1798-803.
2. Boubaker K, Diebold P, Blanc DS, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G, dkk. Panton-valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in school children. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10(1): 121-4.
3. Aires-de-Sousa M, Conceicao T, de Lencastre H. Unusually high prevalence of nosocomial pantom-valentine leukocidin-positive staphylococcus aureus isolates in cape verde islands. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(10): 3790-3

4. Severin JA, Lestari ES, Kuntaman K, Melles DC, Pastink M, Peeters JK, dkk. Unusually high prevalence of panton-valentine genes among methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains carried in the Indonesian population. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(6): 1989-95.
5. Feng Y, Chen CJ, Su LH, Hu S, Yu J, Chiu CH. Evolution and pathogenesis of *Staphylococcus aureus*: lessons learned from genotyping and comparative genomics. *FEMS Microbiol Rev.* 2008; (32): 23-7.
6. Melles DC, van Leeuwen WB, Boelens HAM, Peeters JK, Verbrugh HA, van Belkum A. Pantom-valentine leukocidin genes in *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infect Dis.* 2006; 7(12): 1174-5.
7. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections are increasingly common. *N Engl J Med.* 2005; 352: 1436-44.
8. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, Johnson SK, Vandenesch F, Fridkin S, O'Boyle C, Danila RN, Lynfield R. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J Am Med Assoc.* 2003; 290: 2976-84.
9. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan besar sampel. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, penyunting. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis.* Jakarta: Binarupa Aksara; 1995.h.187-212.
10. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, dkk. Involvement of panton-valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999; 29: 1128-32.
11. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P. Association between *S.aureus* strains carrying gene for panton-valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet.* 2002; 359: 753-9.
12. Tong SYC, Lilliebridge A, Bishop EJ, Cheng AC, Holt DC, McDonald MI, dkk. Clinical correlates of pantom-valentine leukosidin, PVL isoform and clonal complex in the *S. aureus* population of Northern Australia. *J Infec Dis.* 2010; 202(5): 760-9.
13. Kuehnert MJ, Kruszon-moran D, Hill HA, McQuillans G, McAlister G. Prevalence of *S.aures* nasal colonization in The United States 2001-2002. *J Infec Dis.* 2006; 193: 172-9.
14. Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt TL, Cookson BD, Kearns AM. *Staphylococcus* isolates carrying panton-valentine leukocidin genes in England and Wales: Frequency, Characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol.* 2005; 2384-90.
15. Yamasaki O, Kaneko J, Morizane S, Akiyama H, Arata J, Narita S, dkk. The association between *S. aureus* strains carrying PVL genes and development of deep-seated follicular infection. *Clin Infec Dis.* 2005; 40: 381-5
16. Tinelli, M., Monasa, M., Vimercatim M., Ceraminiella, A., Pantosti. Methicillin susceptible *S. aureus* in skin and soft tissue infections Northern Italia. *Emerging Infec Dis.* 2009; 15(2): 250-7
17. Rasigade JP, Laurent F, Lina G, Meugnier H, Bes M, Vandenesch F, dkk. Global distribution and evolution of PVL positive MSSA 1981-2007. *J Infec Dis.* 2010; 201(15): 1589-97.
18. Helgason KD, Jones ME, Edward G. PVL-positive *Staphylococcus aureus* and foreign travel. *J Clin Microbiol.* 2007; 46(2): 832-3.