

다중시설을 이용한 시민의 손에서 분리된 황색포도알균의 항생제 내성 및 메티실린 내성 황색포도알균의 분자 역학적 특성

김태순¹ · 김민지¹ · 김선희¹ · 기혜영¹ · 서진중¹ · 김은선¹ · 문용운¹ · 류필열² · 하동룡¹

광주광역시 보건환경연구원 보건연구부 미생물과¹, 전남대학교 의과대학 미생물학교실²

Profile of Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* and Molecular Epidemiologic Characterization of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Hands of People Using Multitude Facilities

Background: The purpose of this study was to investigate perception of hand hygiene and actual hand washing practices of people who used public facilities as well as the presence of indicator bacteria and food-borne pathogens on their hands. Data from this study will be used as a tool for public education and provide basic information on the potential risk for the spread of infectious disease by hands.

Materials and Methods: Sixty *S. aureus* and 15 methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) were recovered from 500 swab samples from hands of people in public places, including super markets and amusement facilities in Gwangju Metropolitan City during February to May 2011. Using conventional methods and the Vitek system, all of the isolates were confirmed as *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Antimicrobial susceptibility was determined by performing disk diffusion testing according to the Clinical Laboratory Standard Institute guidelines. The minimum inhibition concentrations (MICs) of MRSA isolates were tested using E-test strips. To confirm the MRSA, polymerase chain reaction (PCR) for the *S. aureus*-specific gene and *mecA* gene was performed. Gene detection using PCR, SCCmec typing, Pantone-Valentine Leukocidin (PVL), and Multilocus sequence typing (MLST) were performed on all isolates of MRSA.

Results: Of 60 *S. aureus* isolates, 48 (80%) harbored at least one type of enterotoxin gene: two, three, four, and five types of enterotoxin gene were found in 16 (26.7%), seven (11.7%), 10 (16.7%), and eight (13.3%) isolates, respectively. The most prevalent antimicrobial resistance observed in the *S. aureus* isolates was to penicillin (92%, 55/60), followed by erythromycin (35%, 21/60), oxacillin (32%, 19/60), and ampicillin (23%, 14/60). No resistance was observed against vancomycin, clindamycin, linazolid, rifampin, imipenem, trimethoprim/sulfamethoxazole, and telithromycin. In this study, based on molecular characterization of MRSA isolates, all MRSA, except for one isolate, belonged to ST72 and SCCmec type IV. Eleven of 15 (73.3%) MRSA were ST72:SCCmecIV:t324.

Conclusions: In this study, we detected serious pathogens, including *S. aureus* and MRSA, from swab samples of peoples' hands. Most *S. aureus* isolates harbored the enterotoxin gene and the types of MRSA isolated in this study were community-associated MRSA, indicating the importance of washing hands for public health.

Key Words: Methicillin-resistant *S. aureus*, Antimicrobial resistance, Enterotoxin, SCCmec type, Pantone-Valentine Leukocidin, Multilocus sequence typing

Tae Sun Kim¹, Min Ji Kim¹, Sun Hee Kim¹, Hye-young Kee¹, Jin-jong Seo¹, Eun-Sun Kim¹, Yong-Un Moon¹, Pui Youl Ryu², and Dong-Ryong Ha¹

Health & Environment Institute of Gwangju, Health Research Department, Microbiology Division¹, Department of Microbiology, Chonnam National University Medical School², Gwangju, Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2012 by The Korean Society of Infectious Diseases | Korean Society for Chemotherapy

Submitted: June 14, 2012

Revised: August 9, 2012

Accepted: August 17, 2012

Correspondence to Taesun Kim

Health & Environment Institute of Gwangju, 898 Hwajung-dong, Seo-gu, Gwangju 502-837, Korea

Tel: +82-62-613-7562, Fax: +82-62-613-7549

E-mail: kts2877@korea.kr

www.icjournal.org

서론

사람의 손은 세균, 바이러스 등 병원성 미생물에 쉽게 오염되고 각종 감염병의 매개체가 되어 질병을 야기할 뿐만 아니라 다른 사람들에게도 질병을 전파하는 중요한 역할을 한다. 또한, 설사질환은 전 세계적으로 약 220만 명의 어린이들의 사망 원인이 되고 있으며, WHO에서는 설사질환의 전파에 대해 심각한 세계적인 문제로 인식하고 설사질환의 위험을 단계적으로 감소시키기 위해 손씻기를 강조하고 있다[1]. 미국의 경우 CDC에서 1988년부터 1992년 사이에 발생한 수인성/식품 매개질환 유행을 조사한 결과, 손 위생 수행 부족으로 인한 것이 1/3을 차지하였다[2]. 또한, 최근 영국에서 실시한 Burton 등[3]의 연구 결과에 의하면 손 씻기만으로도 44%이상의 세균을 감소시키는 효과가 있었다고 보고하였다.

식중독 원인균중의 하나로 알려진 *Staphylococcus aureus*는 자연계에 널리 분포하고 있으며, 건강한 사람이나 동물 등에 널리 상재하는 정상세균이지만, 적당한 환경이 주어지면 여러 가지 질병을 일으키는 기회 감염균이다. 이 세균은 병원성이 강하고 조직 침습성이 높아 사람과 동물에 화농성 질환, 패혈증, 뇌수막염 및 식중독 등을 일으키는 것으로 알려지고 있다[4]. *S. aureus*는 성별 및 연령에 따라 다르게 존재하는데, 지속적인 보균상태(약 20%), 간헐적인 보균상태(약 30%), 나머지는 보균하지 않는 상태(약 50%)를 띤다. 이러한 *S. aureus* 보균 여부를 결정하는 것은 군과 숙주 및 환경 간의 다양한 요소지만 특히, 지속적인 보균 상태의 경우에는 *S. aureus*의 군수가 많으며 *S. aureus* 감염증을 획득할 위험이 높은 것으로 알려져 있다[5].

또한, *S. aureus*는 병독성 인자로서 많은 종류의 효소와 독소성분을 분비함으로써 숙주의 면역작용을 방해하는 것으로 알려져 있다. *S. aureus*는 다양한 외독소들을 생산하는데, 대표적인 외독소로는 장독소(staphylococcal enterotoxin, SE), toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) 및 표피파리독소(exfoliative toxin, ET) 등이 있다[6]. 식중독의 원인인 장독소는 항원성 차이에 의하여 5종류의 주요 혈청형(SEA, SEB, SEC, SED, SEE)을 포함하여 SEF, SEG, SEH, SEI, SEJ 등 최근까지 19종류의 항원형이 알려져 있으며, TSST-1는 1개의 혈청형이 알려져 있다[7]. *S. aureus* 균주에 있어서 SE와 TSST-1 독소 유전자의 전달양상은 plasmid, staphylococcal pathogenicity islands (SaPI) 등 이동성 유전인자에 의해 이루어지며, 이들 병독성 인자의 유전자발현은 accessory gene regulator (*agr*)에 의하여 조절된다[5]. 또한 *agr* 유전자는 염기서열 차이에 의하여 4종류의 그룹으로 나누어지며, *agr* type과 SE 또는 TSST-1 유전자형이 *S. aureus* 균주의 클론성 유전자형과 연관성이 있는 것으로 알려져 있다[5].

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)는 1961년 영국에서 처음 보고[8]된 이후, 미국을 포함하여 여러 나라에서 보고되기 시작하였고 대부분의 MRSA균주는 항생제에 다제 내성을 보여 병원 내 감염의 원인균으로 전 세계적으로 문제시 되고 있다[9-13]. 그러나 최근 연구에 의하면 전체 MRSA 감염증 가운데 community associated MRSA (CA-MRSA)가 12%를 차지하였고, 피부 및 연부조직 감염증을 일으키는 병원체 중 72%가 MRSA였는데, 그 중 대부분이

CA-MRSA로 확인되는 등 전 세계적으로 병원뿐만 아니라 MRSA 획득 위험인자가 없는 지역사회에서도 MRSA가 크게 증가하고 있다[14]. 국내에서도 1990년대 후반부터 종합병원의 임상 검체로부터 분리되는 *S. aureus*의 70% 정도가 MRSA로 보고[15]되고 있으며, 1, 2차 병원에서도 40% 이상으로 보고되고 있다[16]. 이와 같이 감염세균의 지속적인 증가는 질병의 치료 효과를 약화시킬 뿐만 아니라 항생제의 사용에 따른 의료비 증가 등 사회적으로 심각한 문제가 되고 있다.

MRSA 감염은 병원 입원환자에서 주로 발생하였으나, 최근에는 지역 사회의 공동생활 환경에 쉽게 전파되어 지역사회 관련 MRSA 감염에 따른 유행성 균주의 출현에 대한 역학적 연구가 활발히 진행되고 있다[10, 17-21]. 그러나 MRSA의 중요성에도 불구하고 국내에서 환경에 의한 유래 MRSA에 관한 연구가 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 다중시설을 이용하는 일반인들의 손에 존재하는 *S. aureus*의 분리를 및 세균이 분비하는 장독소의 분포 형태와 항생제 내성 실태를 조사하고, 더 나아가 MRSA의 분포율과 분자 역학적 특성을 조사함으로써 효과적인 손 씻기 교육 및 홍보와 아울러 연구의 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 검체 채취 및 전처리

검체는 감기, 설사 등으로 병·의원에 진료 차 내원한 환자 및 보호자와 마트, 놀이시설 등 다중시설을 이용한 500명을 대상으로 2011년 2월에서 5월까지 4개월 간 시민의 손바닥을 0.85% NaCl 용액이 함유된 3M Swab (10 mL, 3M Co. Ltd, Korea)을 이용하여 오른손의 바닥을 세밀히 닦아서 채취하였다. 채취한 검체는 가능한 2시간 이내에 냉장 상태를 유지하여 운반한 후 즉시 실험을 실시하였다. 채취한 검체를 약 3분간 강하게 진탕한 후 수분간 정치시켜 이를 시험용액으로 사용하였다.

2. *S. aureus* 스크리닝 검사

1) DNA 추출

채취한 검체에 대해 *S. aureus* 오염여부를 검사하기 위해 Real-Time PCR (RT-PCR)를 이용하였으며, 검체 시료로부터 DNA 분리는 다음과 같은 방법으로 분리하였다. 전 처리한 시험용액을 tryptic soy broth (TSB; Oxoid, England)에 1 mL를 접종하여 37°C에서 18-24시간 배양한 후, 증균 배양액 1 mL를 microcentrifuge tube에 채취하고 멸균 증류수를 이용하여 2-3회 세척한 다음, TE 완충용액(Tris-EDTA, pH 8.0) 100 μ L에 침전된 세포들을 현탁시켜 10분간 끓는 물에 중탕하고 12,000 rpm에서 10분 원심분리한 후 상층액을 DNA template로 이용하였다.

2) Real-Time PCR

Real-Time PCR은 PowerChek™ 13 Pathogen Multiplex Real-

time PCR strip kit (Kogenebiotech Co., LTD, Seoul, Korea)를 사용하였다. 실시간 중합효소연쇄반응은 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 사용하여 50℃에서 2분, 95℃/10 min, 95℃/15 sec, 60℃/1 min의 cycle을 40 회 반복하여 실시하였다. Real-time PCR을 위한 반응액 조성과 target gene은 제조사(Kogenebiotech Co., LTD, Seoul, Korea)에서 제시한 방법으로 실시하였다.

3. *S. aureus* 분리 동정

Real-time PCR에서 양성검체에 대한 식중독 원인균의 분리·동정은 일반적인 검사방법으로, 식품공전 미생물 시험법[22] 및 장내세균 진단 실무지침[23]에 근거하여 실시하였다.

4. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 분리

NaCl (0.85%) 용액이 함유된 3M Swab (10 mL, 3M Co. Ltd, Korea)을 이용하여 손 바닥을 세밀히 닦아서 채취한 검체 1 mL를 9 mL의 NaCl (6.5%)이 함유된 Mueller-Hinton broth에 접종하여 37℃, 16-20h 동안 1차 증균 배양하였다. 배양된 균액을 cefoxitin (3.5 mg/L)이 함유된 9 mL의 tryptic soy broth (TSB, Oxoid)에 1 mL를 접종 37℃, 16-20시간 동안 2차 증균 배양하였다. 2차 배양균액을 백금이로 chromogenic MRSA agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 도말하여 배양한 후 형태, 색깔 등 의심되는 colony를 시료당 4개 이상을 pick up하여 tryptic soy agar (TSA, Oxoid)에 37℃, 16-20시간 동안 순수 배양하였다. 배양된 균주 각각에 대하여 *S. aureus* 균종 확인검사와 coagulase 검사와 PCR법[24]을 이용하여 최종 확인하였다.

5. *S. aureus* 독소 유전자 검사

1) DNA 추출

순수 분리된 *S. aureus* 균주의 단독 colony를 각각 tryptic soy agar (TSA, Oxoid)에 35℃/24시간 계대 배양한 다음, 일정량의 특이 집락을 멸균증류수 0.5 mL에 현탁시키고, 균주 부유액을 끓는 물에서 100℃/15분간 중탕한 후, 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 그 상층액을 template DNA로 사용하였다.

2) 유전자 검출을 위한 PCR

*S. aureus*의 독소 유전자를 검출하기 위하여 다른 연구자들[25-27]의 방법에 따라 PCR를 수행하였다. PCR 최종산물의 확인은 반응액 5 µL를 취하여 2% agarose gel에 전기영동한 후 EtBr (1 µL/mL)로 염색하여 UV하에서 확인하였다.

6. 항생제 감수성 검사

확인된 *S. aureus* 균주의 항생제 감수성 시험은 Kirby-Bauer의 Disc diffusion method [28]로 실시하였다. 먼저 tryptic soy agar (TSA, Oxoid)에서 순수 분리되었음을 확인한 후 탁도계를 이용하여 균액을 McFarland scale 0.5로 조정하여 보정된 균액을 muller

hinton agar (MHA, Oxoid)에 면봉으로 골고루 도말한 후 디스펜서를 이용하여 항생제 디스크를 접종하고 37℃에서 18-24시간 배양한 후, Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S20 (CLSI, 2008) 판독기준에 따라 균 억제대를 측정하여 감수성 여부를 판독하였다[29]. 본 시험에 사용한 항생제 (BBL; Becton, Dickinson and Company, Cockeysville, MD)의 종류는 다음과 같다. ampicillin (AM, 10 µg), cefepime (FEP, 30 µg), cefotetan (CTT, 30 µg), ciprofloxacin (CIP, 5 µg), chloramphenicol (C, 30 µg), clindamycin (DA, 2 µg), erythromycin (E, 15 µg), amikacin (AN, 30 µg), gentamycin (GM, 10 µg), imipenem (IPM, 10 µg), oxacillin (OX, 1 µg), penicillin (P, 10 unit), rifampin (RA, 5 µg), tetracycline (TE, 30 µg), trimethoprim/sulphamethoxazole (SXT, 25 µg), vancomycin (VA, 30 µg), cefoxitin (FOX, 30 µg), ceftriaxone (CRO, 30 µg), telithromycin (TEL, 15 µg), amoxicillin/calvaulanic (AmC, 30 µg), linezolid (LZD, 30 µg), cephalothin (CF, 30 µg)를 사용하였다. MRSA로 추정된 균주에 대해서는 E-test Strips (AB BioDisk, Solona, Sweden)을 사용하여 cefoxitin과 oxacillin의 MIC를 검사하였다. *S. aureus* ATCC25923를 quality control로 사용하였다[29].

7. MRSA 특성 조사

1) Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) type 분석
MRSA로 확인된 균주들에 대해 Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) type은 multiplex PCR[30]방법을 이용하여 I-V를 결정하였다.

2) Multilocus sequence type 분석

분리된 균주들의 MLST (Multilocus sequence type)는 Enright 등 [31]의 방법으로 실험하였다. 총 7개의 housekeeping 유전자인 *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqiL*를 이용하여 분석하였다. PCR 증폭산물은 MacroGen에 의뢰하여 염기서열을 분석하였고, sequence type은 MLST website (<http://www.mlst.net>)에서 분석하였다.

3) 포도상구균의 단백질 유전자 type 분석

Spa (Staphylococcal protein A gene) type 분석은 Shopsis 등 [32]의 방법에 따라 수행하였다. *spa* 유전자는 *spa* 1095u와 *spa* 1517d gene을 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR 증폭산물은 acrogen에 염기서열 분석을 의뢰하였으며 Ridom Staph Type software (<http://www.spaserver.ridom.de>)을 이용하여 *spatype*을 결정하였다.

4) 포도상구균 독소 유전자 검출

분리된 MRSA에 대해 병독소 유전자Panton-Valentine Leukocidin (PVL) 독신은 Lina 등[33]의 방법에 따라 PCR로 확인하였다.

결과

1. *S. aureus*와 MRSA 분리율

감기, 설사 등으로 병원·의원에 진료 차 내원한 환자와 마트, 놀이 시설 등 대중이용시설을 이용한 500명의 손 swab에 대해 Real-Time PCR을 이용하여 *S. aureus*를 스크리닝 결과 63개 시료에서 양성으로 나타났다. 스크리닝 검사결과에서 양성으로 판정된 63개의 양성 시료에 대해 *S. aureus*를 분리 시도한 결과 총 60균주를 분리하였다.

또한, 500 검체 시료에 대해 선택배지를 이용하여 MRSA를 분리한 결과 총 15개의 MRSA가 검출되었으며 E-test를 이용하여 cefoxitin과 oxacillin의 MIC를 검사한 결과, 1개 균주를 제외한 모든 균주가 cefoxitin (≥ 8 ug/mL)과 oxacillin (≥ 4 ug/mL)에서 내성을 나타내었다. 또한 분리된 MRSA에 대해 *S. aureus* 특이 유전자인 *clfA*와 methicillin 내성에 관여하는 유전자인 *mecA*를 모든 분리 균주에서 확인하였다.

2. *S. aureus*의 enterotoxin 생산 조사

분리된 *S. aureus* 균주들의 enterotoxin을 PCR로 확인한 결과 12 균주를 제외한 48균주(80%)가 1개에서 6개의 장독소 유전자를 가지고 있는 것으로 조사되었다(Table 1). 2개의 장독소를 가지고 있는 균주가 16균주(26.7%), 3개의 장독소는 7균주(11.7%), 4개의 장독소 보유균주는 10균주(16.7%), 5개의 장독소는 8균주(13.3%)순으로 나타났다. *S. aureus*의 장독소를 보유하는 균주 중에서 독소유전자를 지니

는 유형에 따라 분류한 결과 2개의 장독소유전자는 7가지 유형으로 구별되었으며, 그 중에서도 *sel-sem*은 6균주(10.0%), *she-sef*는 3균주(5.0%)가 검출되었다. 장독소를 4개 보유하고 있는 *S. aureus*는 5가지 유형으로 구별되었으며, *seg-sei-sel-sem*는 5균주(8.3%), *seg-seh-sel-sem*는 2균주(3.3%)를 차지하였다. 또한 5개의 장독소를 보유하고 있는 *S. aureus*는 4가지 유형으로 *sea-seg-seh-sei-sem* 3균주(5.0%), *seg-seh-sei-sel-sem* 3균주(5.0%) 등의 장독소를 가지고 있었으며, 6개의 장독소를 보유한 5균주는 *sea-seg-seh-sei-sel-sem* (1균주, 1.7%), *sea-seg-seh-sei-sel-sem* (4균주, 6.7%) 유형으로 나타났다(Table 1).

3. *S. aureus*의 항생제 내성

손에서 채취한 500개의 Swab 검체로부터 분리된 *S. aureus*의 60 균주에 대해 항생제 감수성 검사를 실시 결과, penicillin의 내성율이 92% (55균주)가 가장 높은 내성을 나타내었다. 그 외 erythromycin 35% (21균주), oxacillin 32% (19균주), ampicillin 23% (14균주) 순으로 조사되었다(Table 2). cephalosporin계열 항생제 내성은 cefoxitin에서 비교적 높은 30% (18균주)로 내성률이 확인되었고, cefotetan, ceftriaxone, cephalothin의 약제에 대해서도 각각 25% (17균주), 23% (14균주), 18% (11균주)로 cephalosporin계열 항생제 내성률 분포에 뚜렷한 차이는 확인되지 않았다. 그러나 vancomycin, clindamycin, linazolid, rifampin, imipenem, trimethoprim/sulfamethoxazole, telithromycin 등 항생제 내성은 관찰되지 않았다.

Table 1. The Presence of Enterotoxin Genes in *S. aureus* Isolates (n=60)

No. of types (%)	Enterotoxin genes	No. of isolates(%)
0 (20.0)	-	-
1 (3.3)	<i>seg</i>	1 (1.7)
	<i>she</i>	1 (1.7)
	<i>sea-seb</i>	1 (1.7)
2 (26.7)	<i>sea-seg</i>	2 (3.3)
	<i>sea-she</i>	2 (3.3)
	<i>seg-sem</i>	1 (1.7)
	<i>seg-sep</i>	1 (1.7)
	<i>seh-sej</i>	3 (5.0)
	<i>sel-sem</i>	6 (10.0)
	<i>sea-seg-she</i>	1 (1.7)
3 (11.7)	<i>sea-seh-seq</i>	1 (1.7)
	<i>seg-sel-sem</i>	5 (8.3)
	<i>sea-seg-sei-seq</i>	1 (1.7)
4 (16.7)	<i>sea-seh-sek-seq</i>	1 (1.7)
	<i>seg-seh-sel-sem</i>	2 (3.3)
	<i>seg-sei-sel-sem</i>	5 (8.3)
	<i>seg-sel-sem-sep</i>	1 (1.7)
	<i>sea-seg-seh-sei-sem</i>	1 (1.7)
5 (13.3)	<i>sea-seg-sei-sel-seq</i>	3 (5.0)
	<i>seg-seh-sei-sel-sem</i>	3 (5.0)
	<i>seg-seh-sej-sel-sem</i>	1 (1.7)
6 (8.3)	<i>sea-seg-seh-sei-sel-sem</i>	1 (1.7)
	<i>seg-seh-sei-sej-sel-sem</i>	4 (6.7)

Table 2. Antimicrobial Resistance of *S. aureus* Isolates from Hand Swabs (n=60)

Antimicrobials subclass	Antimicrobials	Concentration disc (μg)	No. of resistant isolates (%)
Penicillins	Penicillin	10	55 (91.7)
Penicillins	Ampicillin	10	14 (23.3)
Macrolides	Erythromycin	15	21 (35.0)
Penicillinase-stable penicillins	Oxacillin	1	19 (31.7)
Cephalosporins I	Cephalothin	30	11 (18.3)
Cephalosporins II	Cefoxitin	30	18 (30.0)
	Cefotetan	30	17 (25.3)
Cephalosporins III	Ceftriaxone	30	14 (23.3)
Cephalosporins IV	Cefepime	30	11 (18.3)
β-lactamase inhibitor	Amoxicillin/Clavulanic acid	30	13 (21.7)
Aminoglycosides	Gentamicin	10	8 (13.3)
Tetracyclines	Tetracycline	30	5 (8.3)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	5	1 (1.7)
Phenicol	Chloramphenicol	30	1 (1.7)
Lincosamides	Clindamycin	2	0 (0.0)
Carbapenems	Imipenem	10	0 (0.0)
Ansamycins	Rifampin	5	0 (0.0)
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	25	0 (0.0)
Glycopeptides	Vancomycin	30	0 (0.0)
Ketolides	Telithromycin	15	0 (0.0)
Oxazolidinones	Linazolid	30	0 (0.0)

S. aureus 분리주(60균주)에 대한 항생제 내성 양상은 총 25종류의 패턴을 보였는데, 항생제 1제 내성률은 40% (24균주), 2제 약 18% (11균주), 9제 약 8% (5균주), 3제 약 7% (4균주), 10제 5% (3균주) 순으로 나타났다. 또한 항생제 3제 이상에 내성을 보인 다제내성률은 약 56% (23균주)로 oxacillin, cefotetan, ceftioxin 등의 약제가 서로 연관성을 가지며 다제내성 패턴을 나타내었다. 항생제 8제 이상에서는 ampicillin, oxacillin, cefempin, cefotetan, ceftioxin, ceftriaxone 등 cephalosporin 계열의 항생제들이 다제내성 패턴으로 확인되었다. 항생제 10제, 11제에서는 각각 AM-FEP-CTT-E-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF, AM-FEP-CTT-E-GM-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF 패턴 양상으로 많은 약제에 다제내성이 관찰되었다(Table 3).

4. MRSA 특성 분석

분리된 MRSA 15균주에 대해 beta-lactam 계열 항생제를 제외한 다른 항생제에 대해 내성을 조사한 결과, 6개 균주(40%)는 erythromycin, 2개 균주(13%)는 gentamicin에 내성을 나타내었으

며 그 외 9개 균주는 모든 검사한 항생제에 감수성을 나타내었다. 분리균주에 대한 분자유전학적 특성 조사 결과, 모든 균주가 ST72 속했으며 SCCmec type은 1개 균주를 제외한 모든 균주가 IV type으로 나타났다. spa type은 총 4가지로 t324 (n=11), t2461 (n=1) t8074 (n=2), t148 (n=1)로 나타났으며, 총 15균주 중 11개 균주(78.6%)가 ST72:SCCmecIV:t324에 속한 것으로 나타났다(Table 4).

고찰

다중시설을 이용하는 일반인의 손에서 *S. aureus* 및 MRSA 분리율을 조사한 결과, 12% (60명/500명) 및 3% (15명/500명)의 사람의 손에서 *S. aureus* 및 MRSA가 각각 분리된 것을 확인하였다. 본 연구에서 분리된 황색포도알균의 비율은 2007년에 Chung 등[34]이 유치원과 초, 중, 고등학생, 일반인의 손에 대한 조사결과(9.4%, 47명/500명)에 비해 약간 높았으나, 2009년 Lee 등[35]이 서울지역 초, 중, 고등학생을 대상으로 실시한 분리율(27.2%, 49명/180명)보다는 상당히 낮았다. 또한, Park 등[17]은 2010년에 일부 대학교 구내식당 조리종사자들을 대상으로 Saline이 있는 멸균 비닐 장갑에 조사 대상자의 손을 넣고 진탕하는 방법으로 손에서 조리 전 오염도를 실험한 결과, 왼손에서는 12% (6명/50명), 오른손에서는 28% (14/50명)가 분리되었다고 보고한 바 있다. *S. aureus*의 손에서 분리율은 시험 대상, 균 분리시기, 검체 채취 방법, 검체 채취건수 등의 차이에 의해 실험자 간에 차이가 있을 수 있는 것으로 사료된다. 한편, 2010년에 어린이집 소아의 비강 내 *S. aureus*의 보균율을 조사한 연구[36]에 의하면, 38% (163/428)의 소아가 비강 내에 *S. aureus*를 보유하였고 9.3% (40/428)가 비강 내에 MRSA를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 이는 1999년에 2차 종합병원에 근무하는 의사 및 간호사의 손과 비강에서의 *S. aureus* 분리율을 각각 21% (25/120) 및 28% (33/120)로 보고했던 연구 결과 [37]와 비

Table 3. Number of Isolates Resistant to the Given Number of Antimicrobials and the Resistance Patterns Observed among *S. aureus* Isolates

No. of antimicrobials	Resistant isolates (%)	Resistant patterns	No. of isolates (%)
0	2 (3.3)		2 (3.3)
1	24 (40.0)	GM	2 (3.3)
		P	21 (35.0)
		TE	1 (1.7)
2	11 (18.3)	E-P	9 (15.0)
		GM-P	2 (3.3)
3	4 (6.7)	AM-OX-P	1 (1.7)
		C-P-TE	1 (1.7)
		E-GM-P	1 (1.7)
		E-P-TE	1 (1.7)
4	1 (1.7)	CTT-OX-P-FOX	1 (1.7)
5	2 (3.3)	CTT-E-P-Te-FOX	1 (1.7)
		P-FOX-CRO-AmC-CF	1 (1.7)
6	2 (3.3)	AM-CTT-E-OX-P-FOX	1 (1.7)
		AM-FEP-CTT-E-OX-P	1 (1.7)
7	3 (5.0)	AM-CTT-OX-P-FOX-CRO-AmC	1 (1.7)
		AM-E-OX-P-FOX-CRO-CF	1 (1.7)
		CTT-E-GM-OX-P-Te-FOX	1 (1.7)
8	2 (3.3)	AM-CTT-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF	1 (1.7)
		FEP-CTT-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF	1 (1.7)
9	5 (8.3)	AM-FEP-CTT-E-OX-P-FOX-CRO-AmC	1 (1.7)
		AM-FEP-CTT-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF	4 (6.7)
10	3 (5.0)	AM-FEP-CTT-E-GM-OX-P-FOX-CRO-AmC	1 (1.7)
		AM-FEP-CTT-E-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF	1 (1.7)
		FEP-CTT-CIP-E-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF	1 (1.7)
11	1 (1.7)	AM-FEP-CTT-E-GM-OX-P-FOX-CRO-AmC-CF	1 (1.7)
Total			62 (100.0)

AM, ampicillin; FEP, cefepime; CTT, cefotetan; CIP, ciprofloxacin; C : chloramphenicol, DA, clindamycin; E, erythromycin; AN, amikacin; GM, gentamycin; IPM, imipenem; OX, oxacillin; P, penicillin; RA, rifampin; TE, tetracycline; SXT, trimethoprim/sulphamethoxazole; VA, vancomycin; FOX, ceftioxin; CRO, ceftriaxone; TEL, telithromycin; AmC, amoxicillin/calvaulanic; LZD, linezolid; CF, cephalothin

Table 4. Characterization of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Hand Swabs (n=60)

Strain ID	MIC (μg/mL)		mecA	PVL	SCCmec	Non β-lactam antimicrobial resistant pattern	spa type	MLST
	FOX	OX						
H36	16	128	+	-	IV	-	T324	ST72
H102	16	48	+	-	IV	-	T324	ST72
H154	16	1.5	+	-	I	E	T2461	ST72
H200	16	32	+	-	IV	E	T324	ST72
H201	16	64	+	-	IV	E	T324	ST72
H202	16	48	+	-	IV	E, GM	T324	ST72
H217	8	8	+	-	IV	E, GM	T8074	ST72
H286	16	32	+	-	IV	-	T324	ST72
H287	16	32	+	-	IV	-	T324	ST72
H294	16	32	+	-	IV	-	T324	ST72
H295	16	48	+	-	IV	-	T324	ST72
H301	8	8	+	-	IV	-	T324	ST72
M29	16	32	+	-	IV	-	T148	ST72
M195	16	48	+	-	IV	E	T324	ST72
M200	16	64	+	-	IV	-	T8074	ST72

교했을 때, 특히 MRSA의 보균율이 의료인 및 병원종사자 등에서 일반 인보다 높은 것으로 보인다.

*S. aureus*가 생산하는 enterotoxin은 식중독을 일으키는 virulence factor로 전 세계적으로 식중독을 야기하는 주된 원인이다[38-40]. 또한 *S. aureus*는 균주에 따라 병원성을 나타내는 독소 유전자를 다양하게 갖고 있다[41-44]. 본 연구에서는 *S. aureus*의 virulence factor로서 설사를 일으키는 16종의 enterotoxin을 검사한 결과, 80% (48균주/60균주)의 균주가 장독소를 한 가지 또는 두 가지 종류 이상의 독소 유전자를 보유하고 있는 것으로 확인 되었으며, *sea-seh* 두 유전자를 지니는 패턴은 두 종류 이상을 보유하는 균주에서 두드러지게 나타났다. MRSA 균주는 15개 균주 모두가 enterotoxin을 보유하고 있었고, 가장 분리율이 높은 장독소 유전자로서 대부분의 균주가 *seg* (80%, 12/15), *sel* (93%, 14/15) 및 *sem* (100%, 15/15)을 보유하고 있었으나 MRSA에만 특이하게 존재하는 독소 유전자는 없었다. 또한 본 연구에서 32% (19/60)의 *S. aureus* 균주가 *seg-sei* 두 유전자를 보유하고 있는 것으로 확인되었다. Jarraud 등[45]이 1985-1999년 12년간 프랑스의 병원에 입원한 환자에서 *S. aureus*의 enterotoxin을 조사한 결과, *S. aureus*에 존재하는 *seg*와 *sei* 유전자는 staphylococcal toxic shock syndrome Toxin (TSST)과 밀접한 관련이 있다고 보고한 바 있는데, 추후 TSST에 대한 조사 및 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

한편, 두 개의 종합병원에서 분리한 *S. aureus*와 MRSA 균주의 약 58% (59/102) 및 57% (25/44)에서 enterotoxin이 검출되었다는 Kim 등[46] 보고는 본 연구에서의 장독소 유전자 분리율과 차이가 있었고, 특히 MRSA에서는 큰 차이를 확인할 수 있었다. 그러나 2009년에 Peck 등[47]이 병원 내에 입원한 환자의 혈액과 비강에서 분리된 *S. aureus*를 분석한 결과 약 72% (50/70) 및 82% (78/95)의 균주에서 enterotoxin이 검출됨으로서, 비록 조사 대상이 병원관련 환자였기는 했지만 본 연구에서와 유사한 결과를 나타냈다. 또한, Peck 등[47]의 연구에서도, 본 연구와 마찬가지로 *sei*와 *seg* 등의 enterotoxin이 가장 높은 검출률을 보였는데, 이는 병원에서 유행하는 *S. aureus*의 enterotoxin과 지역사회에서 유행하는 독소 간에 큰 차이가 없음을 시사하는 것으로 보인다.

외국의 경우를 살펴보면, 인도네시아에서 2011년에 동물(유방염 분리균주 19), 사람(피부 감염 환자 11), 식품(냉장고에 보관된 식품 11)으로부터 각각 분리된 *S. aureus* 균주의 79% (15/19균주), 80% (9/11), 및 90% (10/11)에서 enterotoxin이 검출되었고, *sea*, *seb*, *see*, *she*, *seg*, *sei* 등의 유전자가 확인되었으며 *seh* 유전자는 사람 분리 균주에서만 확인되었다[48]. Bania 등[41]이 핀란드에서 1년간 유통 중인 식육 및 식육 가공품 등 식품 108건을 조사한 결과, *S. aureus* 분리율은 46% (50/108), enterotoxin 검출률은 54% (27/50)로 나타났으며, 그 중에서 *sea-see*, *seh* 및 *sep*는 각각 33% (9/27), 52% (14/27), 및 30% (8/27)가 검출되었다고 보고하였다. 한편, 2011년에 일본에서의 연구 보고[42]에 따르면, 쇼펩카트 손잡이에서 *S. aureus* 분리율이 68% (52/760), 이 균주들 중에서 enterotoxin 검출률은 17% (9/52), 마트 종사자 비강에서 분리한 *S. aureus*의 enterotoxin 검출률은 17%

(16/96), 임상환자에서의 enterotoxin 검출률은 43% (280/658)로 나타났다. 또한, Omoe 등[43]이 일본에서 1990-2002년에 발생한 식중독 환자 및 가검물에서 분리한 *S. aureus* 69균주와 2000-2004년에 건강한 사람의 비강에서 분리한 *S. aureus* 97균주를 조사한 결과에 따르면, 식중독에서 분리된 모든 균주 및 건강한 사람의 비강에서 분리한 균주의 79% (77/97)가 한 종류 또는 많게는 11 종류까지 enterotoxin을 보유하고 있는 것으로 확인되었다. 그리스의 연구[44]에 의하면 대학병원환자에서 분리한 *S. aureus*의 33% (60/177)에서 enterotoxin이 검출되었으며 한 종류 이상 많게는 7종류의 toxin을 가지고 있었다. 따라서, 외국에서도 본 연구 결과와 큰 차이가 없는 유사한 경향이 나타나고 있는 것으로 사료된다.

S. aureus 균주에 대한 항생제 감수성에 대한 Lee 등[49]의 보고에 따르면, 2005-2007년에 40여개의 병원에서 분리한 *S. aureus*의 항생제 내성률을 모니터링한 결과, Penicillin이 93%로 가장 높은 내성률을 나타냈고, oxacillin, erythromycin, gentamicin, clindamycin 등이 각각 59.8%, 59.2%, 51.75%, 50.7%로 나타났다. 2010년 Jung 등[50]이 한 종합병원 입원환자를 대상으로 검사실에서 분리한 *S. aureus*의 항생제 내성률을 조사한 결과, penicillin, clindamycin, tetracyclin, erythromycin에 대해 각각 98%, 53%, 49%, 38%의 내성이 나타났다. 한편, 2009년 1년간 9개의 종합병원에서 분리된 *S. aureus*의 penicillin, oxacillin, erythromycin에 대한 내성은 각각 95%, 70%, 61%, clindamycin과 tetracyclin에 대한 내성은 64%와 56%를 나타냈다[51]. 본 연구에서도, 지역사회 사람의 손에서 분리한 *S. aureus*의 penicillin 내성은 약 92%로서 타 연구자들과 비슷하게 높은 내성률을 보였지만 erythromycin, oxacillin, gentamicin에 대한 내성은 각각 35%, 32%, 및 13%로서 타 연구에서의 내성률과 차이를 보였다. 또한, 1999년에 2차 종합병원에 종사하는 의사 및 간호사의 손과 비강에서 분리된 *S. aureus* 균주의 항생제 내성양상을 보면 cefoxitin, erythromycin, penicillin, 및 gentamicin 등에 가장 높은 내성이 확인되었으며[37], 이는 본 연구결과와 유사한 내성양상으로 보인다.

한편, 2004년에 미국에서 450명의 학생의 비강에서 분리한 *S. aureus*의 항생제 내성률을 조사한 결과[52], azithromycin이 26%로 가장 높게 나타났고 ciprofloxacin과 tetracyclin에는 각각 1%와 5%로서 본 연구 결과와 유사하였다. 같은 해 보츠와나의 한 지역에서 무작위로 선정한 남녀 음식 취급자 200명을 대상으로 손, 비강, 얼굴에서 분리한 *S. aureus*의 항생제 내성률을 조사한 결과[53], tetracyclin (51%), erythromycin (19%), penicillin (29%), chloramphenicol (22%), vancomycin (6%)등으로 나타나 본 연구와는 상당한 차이를 확인할 수 있었다. 2011년 태국에서 대학생 200명의 비강에서 분리된 *S. aureus*의 항생제 내성률을 조사한 결과[9], penicillin, erythromycin, clindamycin, oxacillin 및 cefoxitin에 대해 각각 96.7%, 26.7%, 26.7%, 6.7% 및 6.7%의 내성을 보였으며, trimethoprim/sulfamethoxazole, rifampin, linezolid, 및 vancomycin에는 모든 균주들이 감수성을 나타냈는데, 이는 본 연구결과와 유사한 경향을 보인다.

MRSA는 전 세계적으로 가장 중요한 병원 감염균으로 알려지고 있다. 특히, 한국, 일본, 대만, 홍콩, 싱가포르 및 미국의 일부 병원에서 분

리되는 *S. aureus*의 42% 이상이 MRSA이며, 1,000명의 퇴원 환자 중 *S. aureus* 감염 환자가 9.13명이 발생하고 있는 것으로 보고되었다 [18, 54]. Klevens RM 등[55]은 병원내 MRSA가 1992년 35.9%에서 2003년에는 64.4%까지 두 배로 증가하였다고 보고하였다. 전 세계적으로 유행하는 병원유래 MRSA (HA-MRSA)에는 미국에 USA300, USA100, USA400 등이 있으며 유럽에는 ST80, ST152, ST250, ST45, ST239, ST247, ST5 등이 존재한다 [12, 56]. 아시아 지역의 경우, 한국과 일본에서 유행하는 MRSA는 ST5이며, 기타 아시아 국가들에서는 ST239가 유행하고 있는 것으로 보고된 바 있다 [19]. 또한 지역사회 유래 MRSA (CA-MRSA)는 1990년대 초반에 호주 [13]에서 출현하기 시작하여 점차 증가하다가 미국의 한 지역에서 1999년에 CA-MRSA 감염증으로 4명의 환자가 사망 [57]함에 따라 활발히 연구가 진행되었다. 2004-2005년에 미국의 한 지역에서 실시된 연구에 따르면, 인구 10만명당 CA-MRSA 감염 빈도는 316명, HA-MRSA의 빈도는 31명으로 CA-MRSA가 두드러지게 많이 발생하며 CA-MRSA의 가장 전형적인 USA300은 병원성 MRSA의 43%를 차지하여 CA-MRSA가 병원내로 유입되고 있는 것으로 보고되었다 [11]. 가장 전형적인 CA-MRSA USA300은 SCCmec type IV, 병독성 유전자인 pvl 유전자 양성의 특성을 나타낸다 [14]. 아시아지역의 MRSA에 대한 역학연구 보고에 의하면 [10], 아시아 국가의 지역사회에서 발생하는 *S. aureus*의 25.5%가 CA-MRSA이며, 대만, 스리랑카, 필리핀, 베트남의 경우 30% 이상의 지역사회 감염이 MRSA에 의한 것으로 보고하였다. 또한, 미국의 USA300과는 다른 특성을 보여 SCCmec type은 병원성 MRSA에서 볼 수 있는 II, III (대만 63.8%) type이 높은 빈도를 나타냈다. 또한, 아시아 지역에서는 병독소 pvl 유전자 양성률은 13%로 아주 낮고, MLST 분석결과 병원성 MRSA와 같은 ST239, ST5가 CA-MRSA에서 관찰되고, 동시에 ST59, ST30, ST72 등의 CA-MRSA가 병원성 MRSA에서도 발견됨으로써 병원과 지역사회 간에 전파 확산이 일어나고 있음을 시사하였다 [10].

서울지역 한 어린이집 소아들의 비강에서 조사한 CA-MRSA 연구 [21]에서는 ST72-SCCmec type IV (58%), ST72-SCCmec type II (15%), ST1765-SCCmec type IV (10%), ST1765-SCCmec type II (5%), ST1-SCCmec type IV (5%)를 보고하였다. Ko 등 [19]은 2005년 병원입원 환자에서의 병원성 MRSA 조사결과 ST5-SCCmec type IV, ST5-SCCmec type II, ST254-SCCmec type II 등을 보고하였다. 본 연구에서도 CA-MRSA의 전형적인 ST72-MRSA-SCCmec type IV-*spa* type t324가 거의 대부분을 차지하였으며, 그 중 한 균주는 병원성 MRSA인 ST72-MRSA-SCCmec type I-*spa* type t2461이 확인되었는데, 이는 한 균주이기도 하지만 병원과 지역사회 간에 균주의 전파 가능성이 있음을 시사하는 것으로 보인다. *S. aureus*에 의해 유발된 피부 감염증 및 괴사성 폐렴의 발생과 관련된 병독소 유전자인 pvl gene은 아시아 지역에서는 대부분 낮은 양성률을 보이고 있으며, 국내에서는 대부분 존재하지 않는 것으로 보고되고 있는데 [10], 본 연구에서도 병독성 유전자인 pvl gene이 전혀 검출되지 않았다.

한편, 2001-2002년에 미국 성인의 전비공에서 조사한 결과에 따르면, *S. aureus*와 CA-MRSA가 각각 32.4% 및 0.8%의 성인에서 분리되

었고, 연령별로는 60세 이상에서 가장 많이 검출되었다 [58]. 국내에서의 조사결과에 따르면 [20], 1998년 지역사회 성인의 전비공 조사결과 전체조사대상자의 0.7%에서 *S. aureus*가 분리되었고, 그 중의 2.2%가 CA-MRSA로 확인되었다. 최근 서울의 한 병원에서 1년간 실시된 역학 조사 결과 [59]에서는 *S. aureus* 대비 3.4% (6/179)가 CA-MRSA인 것으로 나타났으며, 2008년 서울의 어린이집 소아 428명의 전비공 조사 결과 [21], *S. aureus* 대비 9.3%의 CA-MRSA가 확인되었다. 지역사회 시민의 손 Swab에서 분리된 *S. aureus* 대비 0.3%의 CA-MRSA가 분리된 본 연구 결과는 병원의 환자나 전비공에서의 분리율보다는 낮았으나 다른 물건과 접촉함으로써 쉽게 오염원이 될 수 있는 손에서도 MRSA가 분리되었다는 점은 손씻기의 중요성을 예측하는 것으로 사료된다.

본 연구의 제한점으로는 균분리시기, 시험대상에 대한 연령의 범위와 직업군별을 고려하지 않고 실시한 연구라는 점을 들 수 있으며, 특히 표본수가 많지 않았던 점이 큰 제한점으로 생각된다. 또한 다중시설 중에서도 마트, 어린이들이 주로 이용한 놀이시설, 외래 진료를 하고자 하는 환자와 보호자를 대상으로 한 연구 결과이므로 연령대가 광범위하지 않았고 주로 여성과 어린이들이 차지하여 연령층을 일반화할 수 없다는 단점이 있었다. 마지막으로 조사대상의 상대적인 자료부족으로 손씻기에 미치는 방해인자 및 위험인자를 규명하기 위한 의미있는 통계처리 분석을 하지 못했다는 점이다. 지역사회 감염에 미치는 영향을 면밀히 평가하기 위해서는 더 많은 표본수와 실험 시기 등을 포함한 추가적인 연구가 필요하겠다.

결론적으로 다중시설을 이용한 일반인의 손에서 *S. aureus* 및 지역사회 감염 MRSA를 확인하였고, CA-MRSA는 전형적으로 ST72-MRSA-SCCmec type IV-*spa* type t324 분자유전학적 특성지역을 가지고 있었다. 또한, CA-MRSA 균주들은 대부분 enterotoxin을 보유하고 있었으며 항생제 내성율도 높게 나타내는 특성이 있었다. 따라서 감염병에 매개체가 되는 손의 중요성을 인식하고 손씻기 홍보에 대한 방향을 제시하는 중요한 자료가 될 것이다.

감사의 글

This work was supported by Health & Environment Institute of Gwangju Metropolitan City.

References

1. Boschi-Pinto C, Velebit L, Shibuya K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. Bull World Health Organ 2008;86:710-7.
2. Bean NH, Goulding JS, Lao C, Angulo FJ. Surveillance for food-borne-disease outbreaks-United States, 1988-1992. MMWR CDC Surveill Summ 1996;45:1-66.

3. Burton M, Cobb E, Donachie P, Judah G, Curtis V, Schmidt WP. The effect of handwashing with water or soap on bacterial contamination of hands. *Int J Environ Res Public Health* 2011;8:97-104.
4. Timmony JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. Hagen and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals. 8th ed. New York: Cornell University Press; 1988;171-96.
5. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 2005;5:751-62.
6. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:16-34.
7. Hu DL, Omoe K, Inoue F, Kasai T, Yasujima M, Shinagawa K, Nakane A. Comparative prevalence of superantigenic toxin genes in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *J Med Microbiol* 2008;57:1106-12.
8. Jevons MP. "Celbenin"-resistant Staphylococci. *Br Med J* 1961;1:124-5.
9. Kittit T, Boonyonying K, Sitthisak S. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among university students in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011;42:1498-504.
10. Song JH, Hsueh PR, Chung DR, Ko KS, Kang CI, Peck KR, Yeom JS, Kim SW, Chang HH, Kim YS, Jung SI, Son JS, So TM, Lalitha MK, Yang Y, Huang SG, Wang H, Lu Q, Carlos CC, Perera JA, Chiu CH, Liu JW, Chongthaleong A, Thamlikitkul V, Van PH. ANSORP Study Group. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:1061-9.
11. Liu C, Graber CJ, Karr M, Diep BA, Basuino L, Schwartz BS, Enright MC, O'Hanlon SJ, Thomas JC, Perdreau-Remington F, Gordon S, Gunthorpe H, Jacobs R, Jensen P, Leoung G, Rumack JS, Chambers HF. A population-based study of the incidence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in San Francisco, 2004-2005. *Clin Infect Dis* 2008;46:1637-46.
12. Otter JA, French GL. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis* 2010;10:227-39.
13. Udo EE, Grubb WB. Genetic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a Nigerian hospital. *J Med Microbiol* 1993;38:203-8.
14. 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. *JAMA* 2003;290:2976-84.
15. Chong Y, Lee K. Present situation of antimicrobial resistance in Korea. *J Infect Chemother* 2000;6:189-95.
16. Kim HB, Kim T, Lee BB, Kim US, Park SW, Shin JW, Oh MD, Kim EC, Lee YS, Kim BS, Choe KW. Frequency of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics in *Staphylococcus aureus* Isolated from Tertiary Hospitals. *Korean J Infect Dis* 2002;34:39-46.
17. Park JY, Kim JS, Kim JG. A Study on the hand washing awareness and practices of Food-service employees and the load of index microorganisms on the hands. *J Env Hlth Sci* 2010;36:95-107.
18. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* 2006;368:874-85.
19. Ko KS, Lee JY, Suh JY, Oh WS, Peck KR, Lee NY, Song JH. Distribution of major genotypes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Asian countries. *J Clin Microbiol* 2005;43:421-6.
20. Kim HB, Shin DH, Park KU, Oh MD, Kim EC, Choe KW. The Methicillin-Resistance Rate of *Staphylococcus aureus* Isolated from Anterior Nares of Healthy Adults in the Community. *Korean J Infect Dis* 1998;30:527-31.
21. Lee J, Sung JY, Kim YM, Oh CE, Kim HB, Choi EH, Lee HJ. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* obtained from the anterior nares of healthy Korean children attending daycare centers. *Int J Infect Dis* 2011;15:558-63.
22. Korea Food & Drug Administration. Food Standards Codex II. *KFDA*; 2011;31-344.
23. Korea Center For Disease Control and Prevention. Guideline of enteric bacterial diagnosis. *KCDC*; 2011;1-40.
24. Mason WJ, Blevins JS, Beenken K, Wibowo N, Ojha N, Smeltzer MS. Multiplex PCR protocol for the diagnosis of staphylococcal infection. *J Clin Microbiol* 2001;39:3332-8.
25. Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougé C, Etienne J, Vandenesch F, Bonneville M, Lina G. egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* 2001;166:669-77.
26. Monday SR, Bohach GA. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *J Clin Microbiol* 1999;37:3411-4.
27. Holtfreter S, Bauer K, Thomas D, Feig C, Lorenz V, Roschack K, Friebe E, Selleng K, Lövenich S, Greve T, Greinacher A, Panzig B, Engelmann S, Lina G, Bröker BM. egc-Encoded superantigens from *Staphylococcus aureus* are neutralized by human

- sera much less efficiently than are classical staphylococcal enterotoxins or toxic shock syndrome toxin. *Infect Immun* 2004;72:4061-71.
28. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966;45:493-6.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth information supplement, M100-S18. Wayne, PA: CLSI; 2008.
30. Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Møller JA, Westh HA. New multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I-V. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:725-7.
31. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multi-locus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2000;38:1008-15.
32. Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, Bost DA, Riehman M, Naidich S, Kreiswirth BN. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 1999;37:3556-63.
33. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 1999;29:1128-32.
34. Chung JK, Kim MJ, Kee HY, Choi MH, Seo JJ, Kim SH, Park JT, Kim MG, Kim ES. Prevalence of food poisoning bacteria on hands in various age groups. *J Fd Hyg Safety* 2008;23:40-50.
35. Lee H, Choi SM. Hand washing awareness among students in seoul and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated on their hands. *J Env Hlth Sci* 2009;35:278-86.
36. Kim YM, Oh CE, Kim SH, Lee J, Choi EH, Lee HJ. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* from Healthy Children Attending Day Care Center. *Korean J Pediatr Infect Dis* 2010;17:9-15.
37. Shin MG, Park YK, Kim KK, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Isolated in the Hospital Environments. *Korean J Infect Dis* 1999;31:332-40.
38. Wieneke AA, Rpberts D, Gilbert RJ. *Staphylococcus* food poisoning in the United Kingdom, 1969-90. *Epidemiol Infect* 1993;110:519-31.
39. Lee WC, Sakai T, Lee MJ, Hamakawa M, Lee SM, Lee IM. An epidemiological study of food poisoning in Korea and Japan. *Int J Food Microbiol* 1996;29:141-8.
40. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* 2003;31:63-76.
41. Bania J, Dabrowska A, Bystron J, Korzekwa K, Chrzanowska J, Molenda J. Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food. *Int J Food Microbiol* 2006;108:36-41.
42. Mizumachi E, Kato F, Hisatsune J, Tsuruda K, Uehara Y, Seo H, Sugai M. Clonal distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* on handles of handheld shopping baskets in supermarkets. *J Appl Microbiol* 2011;110:562-7.
43. Omoe K, Hu DL, Takahashi-Omoe H, Nakane A, Shinagawa K. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. *FEMS Microbiol Lett* 2005;246:191-8.
44. Chini V, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Occurrence of the enterotoxin gene cluster and the toxic shock syndrome toxin 1 gene among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is related to clonal type and agr group. *J Clin Microbiol* 2006;44:1881-3.
45. Jarraud S, Cozon G, Vandenesch F, Bes M, Etienne J, Lina G. Involvement of enterotoxins G and I in staphylococcal toxic shock syndrome and staphylococcal scarlet fever. *J Clin Microbiol* 1999;37:2446-9.
46. Kim YG, Lee HS, Kang SK, Chang KS, Hwang SM. Correlation Between the Prevalence of Superantigenic Toxin Genes and Coagulase Serotypes of *Staphylococcus aureus* Isolates. *J Bacteriol Virol* 2011;41:157-64.
47. Peck KR, Baek JY, Song JH, Ko KS. Comparison of Genotypes and Enterotoxin Genes Between *Staphylococcus aureus* Isolates from Blood and Nasal Colonizers in a Korean Hospital. *J Korean Med Sci* 2009;24:585-91.
48. Salasia SI, Tato S, Sugiyono N, Ariyanti D, Prabawati F. Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from bovines, humans, and food in Indonesia. *J Vet Sci* 2011;12:353-61.
49. Lee K, Lee MA, Lee CH, Lee J, Roh KH, Kim S, Kim JJ, Koh E, Yong D, Chong Y. KONSAR group. increase of Ceftazidime and Fluoroquinolone-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and Imipenem-Resistant *Acinetobacter* spp. in Korea : Analysis of KONSAR Study Data from 2005 and 2007. *Yonsei Med J* 2010;51:901-11.
50. Jung H, Lee NY. Evaluation of MicroScan Synergies plus Positive Combo 3 Panels for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of *Staphylococcus aureus* and Enterococcus Species. *Korean J Lab Med* 2010;30:373-80.
51. Kim HJ, Lee NY, Kim S, Shin JH, Kim MN, Kim EC, Koo SH, Ryoo NH, Kim JS, Cho JH. Characteristics of Microorganisms Isolated from Blood Cultures at Nine University Hospitals in Korea during 2009. *Korean J Clin Microbiol* 2011;14:48-54.
52. Bischoff WE, Wallis ML, Tucker KB, Reboussin BA, Sherertz RJ. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a student community:

- prevalence, clonal relationships and risk factors. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25:485-91.
53. Loeto D, Matsheka MI, Gashe BA. Enterotoxigenic and antibiotic resistance determination of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food handlers in Gaborone, Botswana. J Food Prot 2007;70:2764-8.
54. Kuehnert MJ, Hill HA, Kupronis BA, Tokars JI, Solomon SL, Jernigan DB. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospitalizations, United States. Emerg Infect Dis 2005;11:868-72.
55. Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R. National Nosocomial Infections Surveillance System. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992 - 2003. Clin Infect Dis 2006;42:389-91.
56. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol 2008;8:747-63.
57. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - Minnesota and North Dakota, 1997-1999. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999;48:707-10.
58. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, McDougal LK, Chaitram J, Jensen B, Fridkin SK, Killgore G, Tenover FC. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. J Infect Dis 2006;193:172-9.
59. Mun HM, Kim SD, Chun B, Lee S, Kim MN, Sim JJ, Choi HR, Park HJ, Han MK, Kwak SH, Hong MJ, Woo JH. Community and Hospital Onset Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Tertiary Care Teaching Hospital. Korean J Nosocomial Infect Control 2009;14:24-35.