

Correlation between Sau1 Restriction and Modification Complex Type and Coagulase Serotype or SCCmec Type of *Staphylococcus aureus*

So Yeon Kim, Soo Myung Hwang and Kyung Soo Chang*

Department of Clinical Laboratory Science, Catholic University of Pusan, Busan, Korea

Staphylococcus aureus coagulase serotype I to VIII isolated from clinical samples could be classified into two groups, methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), by antibiotics susceptibility and existence of *mecA* which is a gene related with methicillin resistance. Coagulase serotype I, VI, and VIII were MSSA which showed different antimicrobial susceptibility. Coagulase serotype II-V and VII were MRSA in which *mecA* and SCCmec were detected. To analyze Sau1 restriction and modification (R-M) complex types by coagulase type and SCCmec type, *sauIhsdR*, *sauIhsdM* and *sauIhsdS* genes involved in Sau1 R-M complex were detected by PCR, we found five complex types such as M1, R₂M2, R₂M2, R₂M2S1, and R₂M2S2. Coagulase serotype I, VI, and VIII of MSSA were M1, R₂M2 and R₂M2, respectively. SCCmec type II and coagulase serotype II, SCCmec type III and coagulase serotype III, SCCmec type IV and coagulase serotype V, and SCCmec type IV and coagulase serotype IV, VII of MRSA were Sau1 R-M complex type R₂M2S1, R₂M2, R₂M2, and R₂M2S2, respectively. Taken together, correlation between Sau1 R-M complex types and coagulase or SCCmec types of *S. aureus* was found.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, Sau1 restriction-modification (R-M) complex type, Coagulase serotype, SCCmec type, *hsd* gene

서 론

화농성 감염의 주 원인균 중 하나인 *Staphylococcus aureus*는 그람 양성 세균으로 원외 및 원내 감염 (nosocomial infection)을 일으키는 주요 세균으로 중증인 균혈증과 골수염을 일으킨다 (1, 2). Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)가 출현하면서 원내 감염 또는 지역사회 감염 (community-acquired infection)에 심각한 문제로 인식되고 있다 (3~5).

Penicillin계 항생제는 *S. aureus*의 세포벽 합성을 방해하여 항균작용을 나타내는데, penicillinase를 생성하는 균

주에 대해선 항균력이 없다. Methicillin은 penicillinase에 안정한 penicillin으로 MRSA 감염 치료에 유효하게 사용되었다. 그러나, 1960년대 MRSA가 등장하고, 대부분의 항생제에 내성을 가진 *S. aureus*가 나타났다 (6). MRSA는 methicillin, nafcillin, oxacillin, cloxacillin 등 penicillinase에 안정한 제제에 내성인 균을 뜻하며, 그 내성 기전은 새로운 penicillin 결합 단백질 (penicillin binding protein, PBP)인 PBP 2a(2')의 생성에 의한다. Methicillin 내성 유전자가 들어 있는 SCCmec은 염색체에 위치하지만 획득한 것이다 (7). 항생제 사용이 많아지면서 병원균들도 내성인 균주가 생겨나기 시작했는데 특히 MRSA는 대부분의 항생제에 내성을 보여 극히 소수의 항생제로만 치료가 가능하다. 더욱 심각한 것은 원내 감염을 유발하는 병원균 중 MRSA는 가장 빈번히 나타나는 세균이고, 면역력이 약한 환자나 노약자에게는 치명적인 감염을 일으킬 수 있다. 면역력이 약화된 환자의 증가로 인해 항생제의 사용이 잦고 이로 인해 내성 세균 감염률도 높게 된다. MRSA에서는 흔히 heterogeneous resistance라 하여, 이는

Received: September 3, 2010/ Revised: September 23, 2010

Accepted: September 29, 2010

*Corresponding author: Kyung Soo Chang, Department of Clinical Laboratory Science, Catholic University of Pusan, Busan 609-757, Korea.
Phone: +82-51-510-0565, Fax: +82-51-510-0568
e-mail: kschang@cup.ac.kr

**This research was supported by the research fund of the Catholic University of Pusan.

한 균주 중 극히 일부 세균만이 methicillin에 내성을 발현함을 뜻한다. 그러나, 근래 우리나라에서 분리되는 MRSA는 대부분이 homogeneous형으로 한 균주 중 대부분의 세균이 methicillin에 대한 MIC가 높다 (8).

*S. aureus*의 병독성 인자 중 세포외 분비단백성분으로는 coagulase, Pantone-Valentine leukocidin (PVL), staphylococcal enterotoxin, toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) 등이 있으며, 이중 coagulase는 prothrombin을 활성화하여 섬유소원을 섬유소로 변환시켜 혈장을 응고시키는 효소로, 현재까지 사람에서 분리된 균주에서는 8종의 혈청형 (I-VIII)과 동물에서 분리된 균주에서는 2종의 혈청형 (IX-X)이 보고되었다 (4, 9~12). 1980년부터 1994년에 분리된 MRSA의 SCCmec type과 coagulase type을 비교하면 항생제 내성 정도가 상당히 높은 coagulase II형 및 SCCmec type IV형이 대부분을 차지하였다 (13, 14).

MRSA의 병원성 유전자 및 항생제 내성 유전자는 mobile genetic elements (MGE)의 수평전파에 의해 확산된다. 약 15%의 *S. aureus*는 bacteriophage, transposons, plasmid와 같은 MGE를 가지고 있다. 이런 MGE로 세균종간 확산을 조절할 수 있는 것은 세균의 유전자 조작 및 진화에 달려있다 (15~17). 세균이 외부의 DNA를 획득 후 이의 발현을 조절할 수 있는 한 가지 방법은 restriction-modification (R-M) system을 이용하는 것이다. R-M system은 크게 4가지 형이 존재하며, type I R-M system은 구조적인 복합체를 형성하며 endonucleolytic activity를 위해 ATP, Mg²⁺와 S-adenosylmethionine (SAM)이 필요하다. Type II 제한효소는 100 kDa보다 작은 분자량으로 열에 민감하고 endonucleolytic activity를 위해 Mg²⁺만 필요로 하며, 핵산의 특정 부위만을 잘라 현재 분자생물학 연구에 널리 사용하고 있다 (17, 18). SauI type I R-M system은 염색체에 위치하며 한 개의 *hsdR* (restriction) 유전자와 두 개의 *hsdM* (modification)과 *hsdS* (specificity) 유전자를 가지고 있으며, 이들은 M2S 또는 R2M2S와 같은 복합체를 형성한다. M2S는 SAM으로부터 adenine 잔기에 메틸기 전이를 촉매하며, 제한효소로부터 DNA를 보호한다. R2M2S 복합체는 제한효소로, target 염기서열 중 메틸기가 붙어있지 않은 부분을 인식하여 비특이적으로 자른다. S subunit는 메틸화가 되거나 제한효소로 잘라져야 할 특이 염기서열이 있는 지를 인식한다 (17, 18).

저자들은 이전 연구에서 coagulase type과 SCCmec type

과의 상관성을 밝혀내었다 (7). 그러나, coagulase type에 따라 어떻게 SCCmec type이 다른가에 대한 해답을 찾지 못했다. 따라서 본 연구에서는 항생제 내성 유전자의 전이 및 용원화에 영향을 미치는 SauI R-M system에 포함되어 있는 세 개의 유전자인 *sauI*, *hsdR*, *hsdM* 및 *hsdS*를 분석하여 coagulase type별로 어떠한 복합체를 형성하며, SCCmec 유전자 및 methicillin 내성과의 상관성을 규명하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험균주 및 표준균주

사람의 가검물에서 분리 동정된 *S. aureus* coagulase type I~VIII형 균주를 황수명 (Catholic University of Pusan, Busan, Korea)으로부터 분양 받아 실험균주로 사용하였으며, coagulase type별로 5균주 이상을 실험하였다. Coagulase 혈청형 실험은 8종의 항 혈청 (Denk Seiken Co, Tokyo, Japan)을 사용하여 Hwang 등의 방법을 이용하여 시행하였다 (13). 균주 중 coagulase type I, VI, VIII은 MSSA이었으며, II-V과 VII은 MRSA이었다. 표준균주로는 ATCC에서 분양받은 *S. aureus* (ATCC25923)를 사용하였다. 표준균주 및 실험균주는 mannitol agar (MSA, BD Diagnostics, Hunt Valley, MD, USA) 및 nutrient agar (NA, BD Diagnostics)에 평판배양한 후 순수 집락을 brain heart infusion (BHI, BD Diagnostics) broth에 배양하여 coagulase test, 항생제 감수성 시험 및 genomic DNA 추출을 수행하였다.

항생제 감수성 시험

항생제 감수성 검사는 Kirby-Bauer 항생제 감수성 시험 및 Vitek GPS 451 kit을 사용하여 항생제 감수성 시험을 시행하였다. CLSI법은 BHI broth에서 배양된 표준균주 및 실험균주를 0.45% NaCl을 사용하여 McFarland 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml)에 맞추고 100 μ l을 Muller-Hinton agar에 접종한 후 항생제 disk를 올려놓고 37°C에서 24시간 또는 48시간 배양하여 항생제 세균 발육저지력의 직경을 재어 CLSI 판독표를 기준으로 감수성을 결정하거나 자동 미생물분석기의 GPS 451 kit를 이용하여 항생제 감수성을 비교하였다.

Genomic DNA의 추출

*S. aureus*로부터 genomic DNA의 추출은 NA에서 순수

S. aureus 집락을 tryptic soy broth (TSB)에 균을 풀어 24 시간 배양 후 배양액을 4℃에서 12,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 후 lysozyme solution (0.0015 g/ml) 300 µl를 첨가하여 진탕교반하였다. 진탕배 양기에서 37℃로 1시간 반응한 후 10% SDS 용액을 300

µl 첨가한 후 -70℃와 65℃에서 15분씩 동결용해를 각 3회 실시하였다. Phenol/chloroform/isoamyl alcohol (PCI, 25:24:1) 700 µl를 첨가한 후 30초간 진탕교반한 후 12,000 rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상층액을 새 tube에 옮긴 후 다시 PCI 용액 700 µl를 섞어 진탕교반한 후 원심

Table 1. Primers and predicted sizes of PCR products for SCCmec type and SauI R-M complex genes

Primer names		Primer sequence (5' to 3')	Amplified sizes	Target gene
Primers for SCCmec type				SCCmec type
A	CIF2 F2	TTCGAGTTGCTGATGAAGAAGG	495	I
	CIF2 R2	ATTACCACAAGGACTACCAGC		
B	KDP F1	AATCATCTGCCATTGGTGATGC	284	II
	KDP R1	CGAATGAAGTGAAAGAAAGTGG		
C	MEC1 P2	ATCAAGACTTGCATTTCAGGC	209	II, III
	MEC1 P3	GCGGTTTCAATTCACCTTGTC		
D	DCS F2	CATCCTATGATAGCTTGGTC	342	I, II, IV
	DCS R1	CTAAATCATAGCCATGACCG		
E	RIF4 F3	GTGATTGTTTCGAGATATGTGG	243	III
	RIF4 R9	CGCTTTATCTGTATCTATCGC		
F	RIF5 F10	TTCTTAAGTACACGCTGAATCG	414	III
	RIF5 R13	GTCACAGTAATTCATCAATGC		
G	IS431 P4	CAGGTCTCTTCAGATCTACG	381	IA
	pUB110 R1	GAGCCATAAACACCAATAGCC		
H	IS431 P4	CAGGTCTCTTCAGATCTACG	303	IIIA
	pT181 R1	GAAGAATGGGGAAAGCTTCAC		
Primer for SauI R-M complex genes				SauI gene type
hsdM1-FL		TTA GCT TCA AAG ATG GCA GT	1,577	<i>SauI</i> hsdM1
hsdM1-RL		GGG AAC CTC AAC TCT GGC AC		
hsdM2-F		CCT GGG AAT CTC AAC TCT GG	1,535	<i>SauI</i> hsdM2
hsdM2-R		GAC ATT CAC CCA ATC CTG AC		
hsdR1-F		CGA AAC AAG CGT ATT GTT GC	258	<i>SauI</i> hsdR1
hsdR1-R		TGC TCT ACA ACT TGT TCC AC		
hsdR2-F		GCG TTG ATT GTA TTC GGG AC	2,810	<i>SauI</i> hsdR2
hsdR2-R		CCT ACA CTA ATC TGA CGA GG		
hsdS1-F		CAA CGG CAT ACC ATT TTT AAG	327	<i>SauI</i> hsdS1
hsdS1-R		AGA CCT TCT CGA CTA CCT C		
hsdS2-F		CAA TTA ATA GGT TGT TAT CA	1,220	<i>SauI</i> hsdS2
hsdS2-R		ATG CAT ACC TGA AAG AAC TT		

Reference, Cha, et al. (7), Waldron, et al. (18)

분리하였다. 상층액을 새 tube에 옮긴 후 상층액의 2.5배 volume의 100% 에탄올을 첨가한 후 -20℃에서 2시간 침전시켰다. 4℃에서 12,000 rpm으로 20분간 원심한 후 70% 에탄올로 세척하였으며, 실온에서 건조한 후 TE buffer로 녹여 농도를 측정 후 PCR template로 사용하였으며, -20℃에서 보관하여 사용하였다.

SCCmec type 및 *SauI* R-M complex genes 검출을 위한 PCR

S. aureus coagulase type별 methicillin에 대한 내성 및 유전자 전이에 관여하는 *SauI* R-M complex 유전자를 분석하기 위해 coagulase type I~VIII로부터 추출한 genomic DNA를 이용하여 PCR를 수행하였다. Methicillin 내성 유전자인 *mecA* 유전자를 증폭하기 위한 primer는 GenBank에 실린 염기서열에 따라서 Bio ToolKit 320의 Primo DOP 3.4 (Chang Bioscience, Castro Valley, CA, USA)를 이용하여 설계하였으며, SCCmec 유전자를 증폭하기 위한 primer는 Cha 등 (7)이 사용한 primer의 염기서열에 따라서 제작하였으며, *SauI* complex 유전자를 증폭하기 위해서는 Waldron 등 (18)이 사용한 primer의 염기서열에 따라서 제작하였다 (Table 1).

PCR 반응 혼합액은 AccuPower PCR Premix Kit (Bioneer, Seoul, Korea)를 사용하여, DNA 시료 (25 ng) 0.5 µl, primer (10 pM)를 각각 1 µl 넣고 증류수로 최종 부피 20 µl가 되게 하였다. *mecA*를 증폭하기 위한 PCR 반응조건은 94℃ 30초, 55℃ 30초, 72℃ 1분의 과정으로 30회 반복하였고, 마지막으로 72℃에서 7분 연장으로 PCR를 종결하였다. 증폭된 DNA 시료는 1.5% agarose gel을 통하여 전기영동을 실시하였고, 각 증폭산물의 크기와 염기서열분석을 통하여 *mecA* 유전자가 증폭되었음을 확인하였다.

그리고 SCCmec 유전자형을 결정하기 위한 A, B, C, D, E, F, G, H 영역에 해당되는 primer를 이용한 PCR 반응조건은 94℃에서 5분간 초기 반응, 반복조건은 94℃ 30초, 58℃ 30초, 72℃ 1분의 과정을 30회 반복하였으며, 마지막으로 72℃에서 7분 연장으로 PCR를 종결하였다. 증폭된 DNA 시료는 1.5% agarose gel을 통하여 전기영동을 실시하였고, 각 증폭산물의 크기와 염기서열분석을 통하여 SCCmec 유전자가 증폭되었음을 확인하였다. *SauI* complex 유전자인 *hsdM*, *hsdR*, *hsdS*에 대한 primer를 이용한 PCR 반응조건은 반복조건만 94℃ 30초, 53℃ 30초, 72℃ 2분의 과정을 30회 반복하였다. 증폭된 DNA 시료는 1.0% agarose gel을 통하여 전기영동을 실시하였고, 각 증폭산물의 크기와 염기서열분석을 통하여 *SauI* complex 유전자가 증폭되었음을 확인하였다.

결 과

S. aureus coagulase type별 항생제 내성 비교

S. aureus coagulase serotype별 세포벽 합성을 방해하는 대표적인 항생제를 중심으로 항생제 감수성 검사결과를 Table 2와 같았다. Coagulase serotype I, VI, VIII은 oxacillin (methicillin)과 cefoxitin에 감수성을 보여 모두 MSSA 표현형으로 나타났다. 이중 coagulase serotype I은 penicillin에 감수성을 나타내었으나, coagulase VI형과 VIII형은 penicillin에 내성을 나타내었다. Coagulase serotype II, III, IV, V, VII은 penicillin과 methicillin에 내성을 나타내었으며, coagulase serotype V만 cefoxitin에 감수성형과 내성형이 관찰되었다. MRSA나 MSSA는 모든 균주가 vancomycin과 teicoplanin에 감수성을 나타내었다.

Table 2. CLSI disk diffusion antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolates according to coagulase types

Antimicrobial disk	Coagulase type							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Penicillin	S or R	R	R	R	R	R	R	R
Methicillin	S	R	R	R	R	S	R	S
Cefoxitin	S	R	R	R	S or R	S	R	S
Vancomycin	S	S	S	S	S	S	S	S
Teicoplanin	S	S	S	S	S	S	S	S

R: resistant, S: susceptible

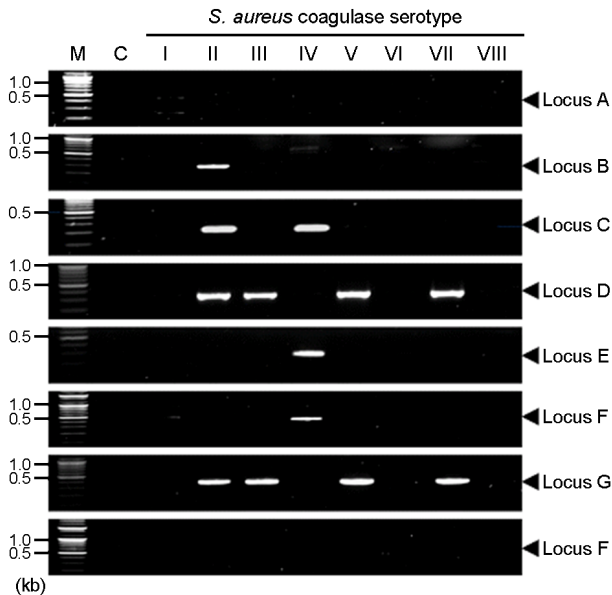


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of DNA fragment amplified from the SCCmec (locus A, B, C, D, E, F, G, H) by PCR with specific primers. Lane M: the marker (100 bp plus DNA ladder), lane C: *S. aureus* (ATCC25923), the molecular size of locus A to H are 495 bp, 284 bp, 209 bp, 342 bp, 243 bp, 414 bp, 381 bp and 303 bp, respectively.

Methicillin 내성 균주로부터 SCCmec 유전자형 분류

MSSA 중에서 coagulase type에 따라 *mecA* 유전자를 가지고 있어 이에 대한 SCCmec type을 확인하려고 SCCmec type을 분류할 수 있는 A-H 영역에 대한 특이 primer를 이용하여 PCR을 실시한 결과, MRSA로 판명된 coagulase type II, III, IV, V, VII은 SCCmec type II, IV, III, IV, IV로 판명되었으나, MSSA 분리주인 coagulase serotype I, VI, VIII에서는 SCCmec type을 분류하기 위한 A-H 영역에 대한 특이 primer로 증폭산물이 생기지 않아 SCCmec type 분류가 불가능하였다 (Fig. 1).

5종류의 Sau1 R-M complex

Sau1 R-M complex에 해당되는 세 개의 유전자 *Sau1-hsdM* (M1, M2), *-hsdR* (R1, R2), *-hsdS* (S1, S2)에 대한 특이 primer를 이용한 PCR 결과, 8개의 coagulase serotype에서 Sau1 complex는 크게 다섯 종류 (M1, R₂M₂, R₂M₂, R₂M₂S1, R₂M₂S2)가 검출되었다. 즉 M1형은 *sau1hsdM1* 유전자만 검출된 형, R₂M₂형은 *sau1hsdR2*와 *sau1hsdM1-2* 유전자가 검출된 형, R₂M₂형은 *sau1hsdR1-2*와 *sau1hsdM1-2* 유전자가 검출된 형, R₂M₂S1형은 *sau1hsdR2*, *sau1hsdM1-*

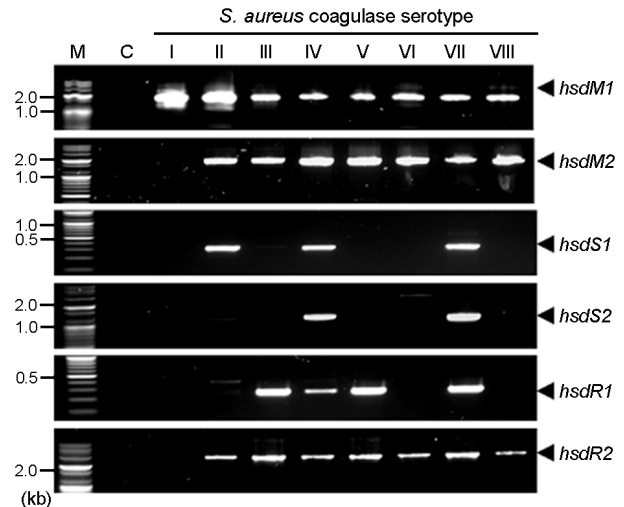


Figure 2. Agarose gel electrophoresis of DNA fragment amplified from the Sau1 (*hsdM*, *hsdR*, *hsdS*) gene by PCR with specific primers. Lane M, 100 bp plus DNA ladder marker, lane C: *S. aureus* (ATCC25923), the molecular size of *hsdM1*, *hsdM2*, *hsdS1*, *hsdS2*, *hsdR1* and *hsdR2* are 1,577 bp, 1,535 bp, 2,810 bp, 258 bp, 327 bp and 1,220 bp, respectively.

2와 *sau1hsdS1* 유전자가 검출된 형, R₂M₂S2형은 *sau1hsdR1-2*, *sau1hsdM1-2*와 *sau1hsdS1-2* 모든 유전자가 검출된 형이다 (Fig. 2).

Sau1 R-M complex와 coagulase serotype과의 상관관계

외래 유전자 전이, 특히 항생제 내성 유전자 전이 시 type 1 R-M 역할을 하는 Sau1 R-M complex type들을 coagulase type별로 분석하였다. 8개의 coagulase serotype에 5종류의 Sau1 complex가 서로 독특하게 연결이 되어 있음이 확인되었다. *sau1hsdM1*은 임상에서 분리된 모든 *S. aureus* coagulase serotype에서 검출되었으나, 표준균주에서는 검출되지 않았다. *Sau1-hsdM2* type은 coagulase serotype I에서만 검출되지 않았으며, *Sau1hsdS1*과 *hsdS2*는 MSSA로 판명된 coagulase serotype I, VI과 VIII형에서는 검출되지 않았으며, MRSA 중에서는 coagulase serotype II, IV, VII에서 S1 type이 검출되었으며, S2 type은 coagulase serotype IV와 VII에서만 검출되었다. *Sau1hsdR* 유전자 중 R1 type은 coagulase serotype I에서만 검출되지 않았으며, R2 type은 coagulase serotype III, IV, V, VII에서만 검출되었다. 즉, coagulase serotype I은 M1, serotype VI과 VIII은 R₂M₂, serotype II는 R₂M₂S1, serotype III과 V는 R₂M₂, serotype IV와 VII은 R₂M₂S2로 판명되었으며,

SauI R-M complex type은 coagulase type별로 상관성이 있음이 확인되었다 (Fig. 2, Table 3).

SauI R-M complex와 SCCmec 유전자형과의 상관관계

SauI R-M complex 유전자형과 methicillin 내성과의 상관관계를 알아본 바, Table 3에 있는 바와 같이 상호 연관성이 있음이 확인되었다. MSSA는 SauI complex 중 M1 또는 R₂M2이었으며, MRSA는 R2M2, R₂M2S1, R2M2S2로 나타났다. SauI R-M complex 중 DNA의 제한효소로부터 DNA 메틸화에 의해 보호하는 *sauIhsdM* 중 *SauIhsdM1*은 MSSA나 MRSA에 관계없이 가지고 있음이 확인되었다. MSSA는 *SauIhsdS* 유전자는 검출되지 않았으며, *SauIhsdR* 유전자는 SCCmec type VI과 VIII에서 *SauIhsdR2* 유전자만 검출되었다.

SCCmec type별로 SauI R-M complex type을 비교해 보면, SCCmec type II는 R₂M2S1, SCCmec type III는 R2M2, SCCmec type IV형은 R2M2, R2M2S2로 나타내어 SCCmec type III과 IV 모두 *sauIhsdM1*, *sauIhsdM2*, *sauIhsdR1*, *sauIhsdR2* 유전자를 가지고 있었다. SCCmec type별로 SauI R-M complex genotype과 특이성이 있음이 관찰되었다.

Table 3. Summary of relationship of SauI R-M type, coagulase type, SCCmec type, and methicillin susceptibility

Types	SauI R-M type				
	M1	R ₂ M2	R2M2	R ₂ M2S1	R2M2S2
Coagulase type	I	VI, VIII	III, V	II	IV, VII
SCCmec type	ND	ND	III, IV	II	IV
Methicillin type	MSSA	MSSA	MRSA	MRSA	MRSA

고찰

*S. aureus*는 건강인의 비강이나 피부에 집락화하며 병원 및 지역사회 감염증의 중요한 원인균이다. MRSA 균주의 증가와 세포독성인자의 생성 및 MRSA에 vancomycin 내성 유전자의 삽입으로 기인된 superbacteria의 출현으로 인하여 치료에 어려움은 물론 치명적인 사례의 보고가 급증하고 있다 (19, 20).

우리나라 사람에서 가장 많이 분리되는 MSSA의 coagulase serotype은 I에서 VIII 중 VII, V, IV, II형, III, I 순이었으며, 2000년 이후 I, II형은 감소하고 V형이 증가하고 있다 (13). Coagulase serotype VII은 시기별로 영향 받지 않고 가장 많이 검출되는 혈청형이다. Hwang 등의 보고 (13)에 따르면 시기 변화에 따라 coagulase serotype III형 MRSA의 분리율이 1994년에는 27.0%에서 2005년에는 0.9%로 감소하였으나, coagulase serotype V형은 1994년 0.0%에서 2005년 18.5%로, coagulase serotype VII도 0.0%에서 4% 이상으로 급격히 증가하였으며, 근래 분리된 MRSA의 coagulase형별 빈도는 II, IV, V, VII, III의 순이었다. 이러한 결과는 시기에 따라서 새로운 MRSA 유행균주가 출현하여 coagulase serotype, 다약제 내성 (SCCmec) 및 내성 유전자 전이에 관련된 특이효소와 관련이 있음을 알 수 있다.

SauI R-M system은 type 1 R-M system으로 다른 세균들의 R-M system과 상동성이 높다고 보고되었다. SauI R-M complex는 한 copy의 *sauIhsdR*, 두 copy의 *sauIhsdM*, *sauIhsdS*, 유전자에 의해 형성된 단백질들이 복합체 구성에 의하여 M2S 또는 R2M2S 형태로 구성되어 있다고 보고되었는데 (17), 본 연구에서는 다섯 가지 형태의

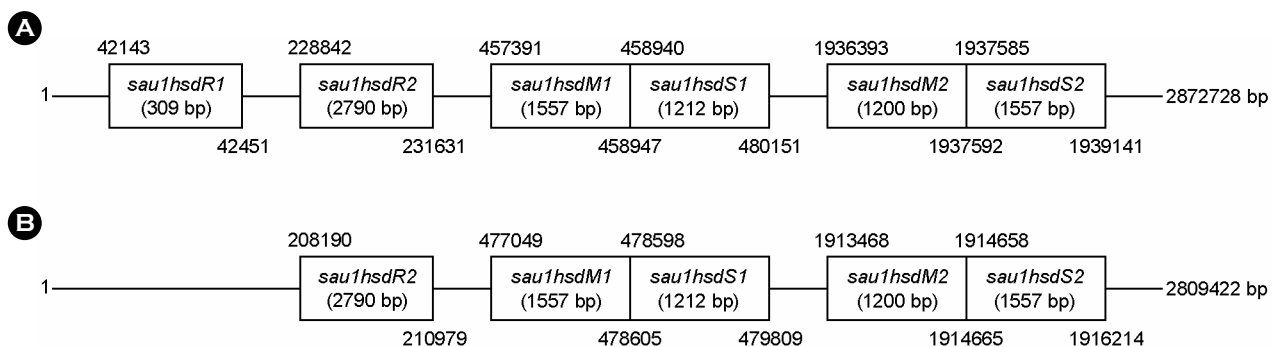


Figure 3. Genetic maps of type 1 Restriction and Modification system of *S. aureus* (A). *S. aureus* (USA_TCH1516) strain, (B). *S. aureus* (COL) strain.

SauI R-M system이 발견되었다. 최근 Waldron과 Lindsay (18)는 *S. aureus* (USA_TCH1516) strain의 전체 genome 중 *hsd* 유전자 분석에서 크기는 다르지만 두 copy의 *sauIhsdR* 유전자가 확인되었음을 보고하였다 (Fig. 3). 따라서 본 연구에서는 6개의 유전자에 대하여 PCR를 수행하였으며, coagulase serotype별로 M1, R₂M2, R2M2, R₂M2S1, R2M2S2형이 관찰되어 새로운 SauI R-M complex type이 관찰되었다. 특히 MSSA에서는 M1형과 R₂M2형으로, M1형은 methicillin은 물론 penicillin에 감수성인 coagulase serotype 1형이 해당되었으며, R₂M2형은 methicillin에는 감수성이지만 penicillin에는 내성인 MSSA로 coagulase serotype VI과 VIII이 해당되었다.

MRSA SauI type은 R2M2, R₂M2S1, R2M2S2형이 관찰되어 R, M, S를 모두를 가지고 있거나 R과 M만을 가지고 있으면 해당되는 *sauIhsdM1*, *sauIhsdM2*, *sauIhsdR1*, *sauIhsdR2* 유전자를 가지고 있었다. SauI R2M2S2형은 coagulase serotype IV과 VII 및 SCCmec IV가 속하며, SCCmec IV형 중 일부는 R2M2형으로 coagulase serotype V로 cefoxitin에 감수성형과 내성형이 해당된다. R2M2형에는 SCCmec III형인 coagulase serotype III도 속하는데 근래에 coagulase serotype III는 감소하고 V는 증가하는데 같은 SauI R-M complex R2M2안에서의 변화가 관찰되었다 (7, 13). SauI R1M2S1형은 coagulase serotype II와 SCCmec type II형으로 시기에 상관없이 가장 높은 검출율을 나타내고 있다. 항생제 내성 유전자 전이의 민감성과 관련이 있는 SauI R2M2S2형은 최근 분리율이 증가하고 있으며, 다약제 내성을 보이는 coagulase serotype IV과 VII으로 앞으로도 계속 분리율이 증가할 것으로 추정된다 (7, 13).

Coagulase serotype별로 SCCmec type 및 SauI R-M complex type이 상호 관련이 있음이 확인되었으며, 특히 SauI R-M complex type이 항생제 내성과 연관성이 있음이 확인되었다. 앞으로 SauI R-M complex type별로 유전자 전이 및 유전자 삽입에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 연구를 수행하여 coagulase serotype과 SauI R-M complex type에 따라 왜 SCCmec type이 다르게 나타나는 지에 대한 정확한 기전을 밝힐 것이다.

참 고 문 헌

1) Archer GL, Mayhall CG. Comparison of epidemiologic

markers used in investigation of an outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections. J Clin Microbiol 1983;18:395-9.

- 2) Bouvet A, Fournier JM, Audurier A, Branger C, Orsoni A, Girard C. Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolates in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1990;28:1338-41.
- 3) Daum RS, Ito T, Hiramatsu K, Hussain F, Mongkolrattanothai K, Jamklang M, et al. A novel methicillin-resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. J Infect Dis 2002;186:1344-7.
- 4) Diep BA, Carleton HA, Chang RF, Sensabaugh GF, Perdreau Remington F. Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital-and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 2006;193:1495-503.
- 5) Kilic A, Li H, Stratton CW, Tang YW. Antimicrobial susceptibility patterns and staphylococcal cassette chromosome *mec* types of, as well as Panton-Valentine leukocidin occurrence among, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children and adults in middle Tennessee. J Clin Microbiol 2006;44:4436-40.
- 6) Barber M. Methicillin-resistant staphylococci. J Clin Pathol 1961;14:385-93.
- 7) Cha EK, Chang KS, Hwang SM. Correlation between staphylococcal cassette chromosome *mec* type and coagulase serotype of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol Virol 2009;39:71-8.
- 8) Tomasz A, Nachman S, Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of *Staphylococci*. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:124-9.
- 9) Durand G, Bes M, Meugnier H, Enright MC, Forey F, Liassine N, et al. Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital- and community-acquired infections in France. J Clin Microbiol 2006;44:847-53.
- 10) Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991;29:426-30.
- 11) Kanemitsu K, Yamamoto H, Takemura H, Kaku M, Shimada J. Relatedness between the coagulase gene 3'-end region and

- coagulase serotypes among *Staphylococcus aureus* strains. Microbiol Immunol 2001;45:23-7.
- 12) Watanabe S, Ito T, Takeuchi F, Endo M, Okuno E, Hiramatsu K. Structural comparison of ten serotypes of staphylocoagulases in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 2005;187:3698-707.
- 13) Hwang SM, Kim TU. Changes in coagulase serotype of *Staphylococcus aureus* isolates in Busan, 1994-2005. Korean J Microbiol 2007;43:346-50.
- 14) Lee M, Chong Y. Characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wounds in Korean patients. J Infect Chemother 1996;2:130-5.
- 15) Lindsay JA, Holden MT. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? Trends Microbiol 2004;12:378-85.
- 16) Lindsay JA, Moore CE, Day NP, Peacock SJ, Witney AA, Stabler RA, et al. Microarrays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has unique combinations of surface associated and regulatory genes. J Bacteriol 2006;188:669-76.
- 17) Murray NE. Type I restriction systems. sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). Microbiol Mol Biol Rev 2000;64:412-34.
- 18) Waldron DE, Lindsay JA. Saul: a novel lineage-specific type I restriction-modification system that blocks horizontal gene transfer into *Staphylococcus aureus* and between *S. aureus* isolates of different lineages. J Bacteriol 2006;188:5578-85.
- 19) Périchon B, Courvalin P. VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53:4580-7.
- 20) DeLeo FR, Chambers HF. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. J Clin Invest 2009;119:2464-74.
-