

## 국내 *vanA*형 반코마이신 내성 장구균의 Tn1546 구조 분석

이선민 · 이위교 · 김영선

아주대학교 의과대학 진단검사의학교실

### Diversity of Tn1546 Elements in Vancomycin-Resistant Enterococci Isolated from Korea

Sun Min Lee, M.D., Wee Gyo Lee, M.D., and Young Sun Kim, M.T.

Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

**Background :** The *vanA* gene cluster of vancomycin-resistant enterococci (VRE) is carried as a part of Tn1546-like elements. In this study we characterized the structure of Tn1546-like elements in *Enterococcus faecium* isolated from patients in Korea. The isolates were also typed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).

**Methods :** During 2000, 21 clinical isolates of *vanA*-containing *E. faecium* were collected from ten university hospitals in Korea. *E. faecium* BM4147 was used as a control. PFGE was performed on a CHEF-DR III apparatus. For structural analysis of Tn1546, the overlapping PCR amplification of internal regions of Tn1546 was performed. The purified PCR products were directly sequenced by using ABI Prism 3100 DNA SEQUENCER.

**Results :** All isolates were divided into 3 types according to the distribution of insertion sequences (IS elements) integrated Tn1546 elements. Type I and II were characterized by an IS1542 insertion in the *orf2-vanR* intergenic region and an IS1216V insertion in the *vanX-vanY* intergenic region. Type III represented two copies of IS1216V at the *orf1* and in the *vanX-vanY* intergenic region as well as IS1542 in the *orf2-vanR* intergenic region. No isolates were identical to the prototype, which was identical to the predicted pattern for the published sequence of Tn1546. The PFGE results revealed that all strains except A13, C1, A2 and A9 were genetically unrelated.

**Conclusions :** The distribution of IS in Tn1546-like elements of the Korean isolates is similar to that of the European VREs. Considering the results of PFGF and Tn1546 typing, the horizontal transfer of *vanA* resistance gene may be occurring among genetically diverse strains of *E. faecium* in Korea. (Korean J Lab Med 2005; 25: 241-6)

**Key Words :** *vanA*, Vancomycin-resistance enterococcus (VRE), Tn1546, IS1216V, IS1542

## 서 론

반코마이신 내성 장구균(vancomycin resistant enterococci,

접 수 : 2005년 4월 14일                      접수번호 : KJLM1847  
수정본접수 : 2005년 5월 27일  
교 신 저 자 : 이 위 교  
우 442-749 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5  
아주대학교병원 진단검사의학과  
전화 : 031-219-5785, Fax : 031-219-5778  
E-mail : weegyo@ajou.ac.kr

\*본 논문은 정부(교육인적자원부)의 재원으로 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(R04-2004-000-10047-0).

VRE)은 1988년 영국과 프랑스에서 처음 보고된[1, 2] 이후 분리 빈도가 급속히 증가하여 미국내 중환자실 환자에서는 1989년의 0.4%에서 1993년에는 13.6%로 급증하였다[3]. 국내에서는 1992년에 박 등[4]이 백혈병 환자의 가검물에서 vancomycin에 고도 내성을 보이는 *E. durans* 1예를 처음으로 보고한 이래, 여러 병원 에서 입원환자의 VRE 장내 보균율을 3.2-8.2%, 그리고 임상검체에서의 분리율을 4.6-7.3%로 보고한 바 있다[5-7]. VRE는 내성 유전자에 따라 6개의 형으로 분류가 되는데 내성 획득형인 VanA, VanB, VanD, VanE 및 VanG형과[8-10] 자연 내성을 가지고 있는 VanC형이다. 그 중 VanA형 VRE는 vancomycin에 고도

내성, teicoplanin에 중등도에서 고도내성을 가지고 있어 VRE 중 가장 심각한 문제가 되며, 내성유전자는 대부분 10.8 kb 크기의 Tn1546 내에 위치하고 있다. 내성 유전자의 전파는 유행성 균주의 단클론성 전파나 내성유전자의 균주간 수평전파로 가능하여 VRE의 분자생물학적 역학적 연구를 위해서는 균 전체의 DNA 분석과 함께 내성 유전자가 포함된 Tn1546의 구조적 특징도 같이 분석되어야만 VRE 균주의 내성 전파양상을 추정할 수 있다. 본 연구에서는 국내 10개의 대학병원의 임상검체에서 분리된 21주의 VRE를 대상으로 DNA 형질분석과 내성유전자의 구조분석을 통해 각 균주들 간의 유전적 관련성과 함께 *vanA* 내성유전자의 구조를 비교하여 병원감염관리에 있어 지역간 또는 병원내 전파양상을 규명하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상균주

2000년 1월부터 12월 동안 전국 10개 대학병원에서 분리된 *vanA*형 vancomycin 내성 *E. faecium* 21균주(균주명: H7, S12, S20, A2, A6, A7, A9, A12, A13, A17, AJ6, AJ9, W3, W13, W15, C1, G20, J10, SN5, Ca14, 동일 알파벳은 동일병원)를 대상으로 하였다. 각각의 균주는 vancomycin 6 mg/L을 함유한 brain heart infusion (BHI) agar를 이용하여 vancomycin 내성 여부를 검색하였고, VRE로 검색된 모든 균주에 대하여 API 20 STREP (bioMerieux, Hazelwood, MO.) strip 및 Vitek system (bioMerieux, Hazelwood, MO.)을 이용하여 동정하였다. 양성대조균주로는 *E. faecium* BM4147을, 음성대조균주로는 vancomycin-susceptible enterococci (VSE) ATCC 29212를 사용하였다. VRE 유전자형은 중합효소 연쇄반응법을 이용하여 *vanA* 유전자를 확인하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에서 제시한 한천희석법에 따라 vancomycin과 teicoplanin에 대한 MIC를 측정하였다[11].

#### 2) 유전적 형질 분석: Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

PFGE는 Murray 등[12]의 방법을 따라 제한효소 *Sma*I을 이용하여 시행하였다. PFGE의 분석은 Bio-Gene software (Vilber Lourmat, Marne la-valles, France)를 이용하여 UPGMA 법으로 군집 분석하여 유전적 연관성을 결정하였다.

### 3) PCR mapping

*vanA*형 반코마이신 내성 유전자가 포함된 transposon Tn1546 내부를 overlapping 되도록 시발체를 이용하여 증폭한 후 표준 균주인 *E. faecium* BM4147 (prototype)과 비교하는 PCR mapping과 증폭산물 중 prototype과 비교하여 크게 증폭된 부분에 관하여 IS1216V, IS1542, IS1251 및 IS1476에 대한 IS-specific PCR을 시행하여 내성유전자의 구조를 분석하였다. 사용되었던 시발체는 Table 1과 같고, 표준 균주로는 prototype인 *E. faecium* BM4147을 이용하였다. 각 시발체와 용점 온도는 OLIGO program v. 6.0 (National Biosciences, Inc., Plymouth, MN)을 이용하였다.

### 4) 염기서열 분석

PCR 증폭 산물을 gel로부터 GENECLAN kit (Qbiogene Inc, Carsbad, CA)를 이용하여 추출한 후, ABI Prism 3100 DNA SEQUENCER (Perkin-Elmer, Norwalk, CT)를 사용하여 염기서열을 분석하였다.

## 결 과

### 1. 최소억제농도(MIC) 및 내성유전자형

반코마이신에 대한 MIC는 모든 균주가 128 mg/L 이상으로 고도 내성을 보였다. Teicoplanin에 대한 MIC는 14균주가 32 mg/L 이상의 내성을 나타내었고, 나머지 8균주는 16 mg/L였다. 유전자형은 21균주 모두 *vanA* 유전자를 보유하고 있었다.

### 2. 유전적 형질 분석: Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

PFGE를 이용한 21균주의 유전적 형질분석 결과는 Fig. 1에서 보이는 바와 같이 A13과 C1 및 A2와 A9을 제외한 나머지 균주들은 그 양상이 다양하여 유전적 연관성이 없는 것으로 나타났다.

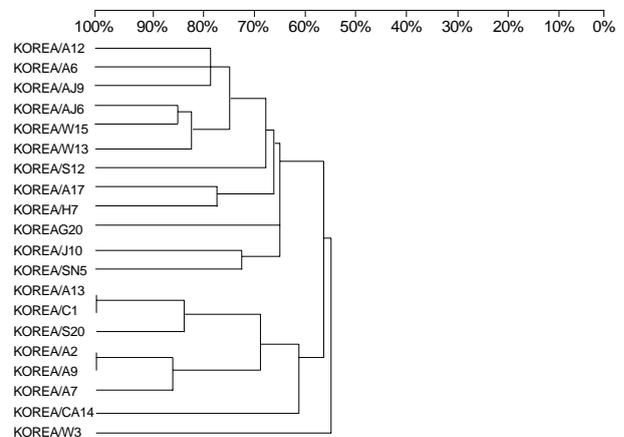


Fig. 1. Dendrogram of *vanA* PFGE of *E. faecium* isolates.

Table 1. Sequences and position of PCR primers used in this study

Primer	Sequence	Specificity	Location	Reference
170F	5'-AGGGCGACATATGGTGTAAACA	<i>orf1</i>	170-190	32
1913R	5'-CGTCCTGCCGACTATGATTATTT	<i>orf1</i>	1913-1891	32
949F	5'-GCATGTAGTGATGAAACACCTAGCTGC	<i>orf1</i>	949-975	32
2976R	5'-TGAAGATGAATGGATACTGGGGACC	<i>orf1</i>	2,976-2,952	32
3514F	5'-ACTGTAATGGCTGGTGTAAAC	<i>orf2</i>	3,514-3,534	33
3978R	5'-CATAGTTATCACCCCTTTCACATA	<i>orf2</i>	3978-3956	33
3907F	5'-ATGCTTATAAATTCGGCCCC	<i>vanR</i>	3907-3925	33
4794R	5'-ATCCAATCCCCAAGTTTCCC	<i>vanR</i>	4794-4775	33
3992F	5'-TTATTGTGGATGATGAACATG	<i>vanR</i>	3992-4012	33
4511R	5'-TCGGAGCTAACCACATTC	<i>vanR</i>	4,511-4,494	33
4676F	5'-AACGACTATTCCAACTAGAAC	<i>vanS</i>	4,676-4,697	32
5769R	5'-GCTGGAAGCTCTACCCTAAA	<i>vanS</i>	5,769-5,749	32
5235F	5'-ATATCACGTTGGACAAAGC	<i>vanS</i>	5,235-5,253	33
7035R	5'-TTACGTCATGCTCCTCTGAG	<i>vanA</i>	7,035-7,017	33
8448F	5'-GATGAACGCTCTCATCATGC	<i>vanX</i>	8,448-8,467	32
9138R	5'-TTCCTGAGAAAACAGTGCTTCA	<i>vanY</i>	9,138-9,117	32
9341F	5'-ATGGATACGGGTTGCTTGATAT	<i>vanY</i>	9,341-9,362	32
10577R	5'-GGTACGGTAAACGAGCAATAATACG	<i>vanZ</i>	10,177-10,533	32
ISV650F	5'-AACTTCACGATAGCTAAGGTT	IS1216V	650-670	This study
ISV744R	5'-AAGATAGCAGGAGGAATGAC	IS1216V	744-725	This study
IS1542F	5'-TCAAGCCGATGACTATGA	IS1542	245-263	This study
IS1542R	5'-CTATTTCCGATAACCGTGTAT	IS1542	1076-1056	This study
IS1251F	5'-GCATCCACTGTAAACAACAG	IS1251	272-292	This study
IS1251R	5'-CGCTGTGTTTGACCATCCAT	IS1251	699-680	This study
IS1476F	5'-CGCAACGGTTTCTATACGAC	IS1476	310-329	This study
IS1476R	5'-GATTGAAGCTGCGATTGATG	IS1476	874-893	This study

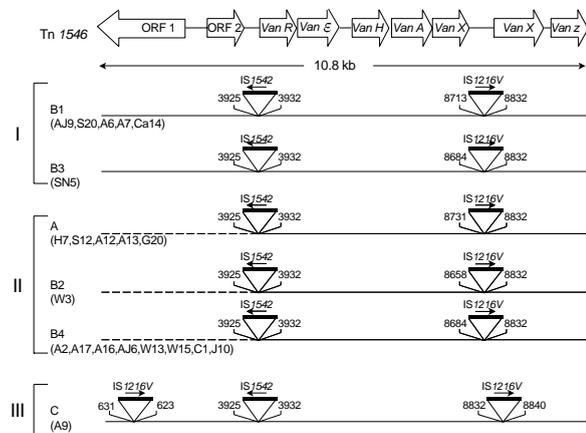


Fig. 2. The genetic maps of 21 *E. faecium* Tn1546 types. The positions of genes and open reading frames (*orf1* and *orf2*) and the direction of transcription are depicted with open arrows. The thick short horizontal lines represent IS elements. The position of the first nucleotide upstream and the first nucleotide downstream from the IS insertion sites are depicted. Filled arrows indicate the transcriptional orientations of the inserted IS elements.

### 3. 유전자 구조 분석(Transposon typing) (Fig. 2)

트랜스포존 유형분석 결과 3가지 주 유형으로 분류되었고(I-III), 표준 균주인 BM4147과 동일한 트랜스포존형(prototype)에 속하

는 형은 한 균주도 없었다. I형과 II형은 prototype에 비하여 *orf2-vanR* intergenic region과 *vanX-vanY* intergenic region의 두 부분의 증폭 산물이 커져있는 형으로 II형은 I형에 비하여 *orf2-vanR* intergenic region 앞부분이 결실되어있었다. 대상 균주 중 B1, B3의 6균주에서 I형이 B2, B4, A의 14균주가 II형을 나타내었다.

III형은 I, II형과 같이 *orf2-vanR* intergenic region과 *vanX-vanY* intergenic region의 두 부분의 증폭 산물이 커져있고 *orf1* 부분이 추가로 커져있는 형이었고 A9균주에서 관찰되었다.

### 4. 유전자 염기 서열 분석

대상 균주의 유전자 구조 분석 결과 prototype과 비교하여 PCR 증폭 산물의 크기가 커진 부위를 유전자 염기 서열 분석한 결과 커진 부위는 IS1542와 IS1216V의 삽입으로 인한 결과였다(Fig. 2).

*orf2-vanR* intergenic region 부위가 커진 것은 크기 1,324 bp의 IS1542가 Tn1546 중 염기 서열 #3932 부위에 삽입된 것으로 삽입시 표적 유전자의 8 bp 크기의 유전자 부위(CTATAATC, #3925-3932)의 반복 삽입이 동반되었다.

*vanX-vanY* intergenic region 부위가 커진 것은 크기 809 bp의 IS1216V가 Tn1546 중 염기 서열 #8658-8832 부위에 삽입된 것으로 삽입 위치는 동일한 부위에 삽입된 IS1542와는 다르게 *vanX-vanY* intergenic region (#8625-#9051) 사이의 다양한

위치였다.

III형인 A9은 *orf1* region (#631-623)에 IS1216V 삽입되어 있었다. 삽입 부위는 #631였고, 삽입시 표적 유전자의 8 bp 크기의 유전자 부위의 반복 삽입이 동반되었고, 삽입 위치 앞부분의 *orf1* 유전자 서열은 결실되었다.

## 고 찰

VRE 감염은 지난 15여년간 미국과 유럽에서 각기 다른 양상을 보였다. 미국에서의 장구균은 *Escherichia coli*와 *Staphylococcus aureus* 다음으로 병원감염을 유발하는 흔한 균주로 대두되었고[13, 14] 다제내성포도상구균, 폐렴구균 및 *Clostridium difficile* 감염의 치료제로 vancomycin의 사용이 증가하면서 VRE가 급격히 증가하였다[15] 이와는 달리 유럽에서는 vancomycin이나 teicoplanin과 같은 glycopeptide계 항균제인 avoparcin을 1970년대부터 동물의 사료에 첨가하여 사용한 이후 1980년대에는 *vanA*형 VRE가 가축과 애완동물뿐만 아니라 건강인과 입원환자에게서도 관찰되어 환경으로부터 사람에게로의 내성전파가 VRE 증가의 주요 원인으로 간주되고 있다[16, 17]. 우리나라의 경우는 2001년에 시행한 전국 79개 병원을 대상으로 한 연구[18]에 의하면 54.4%의 병원에서 이미 VRE가 검출된 바 있고 이들 병원에서 동정된 임상 미생물 중 VRE 출현빈도가 높게는 27.7%까지 차지하는 것으로 보아 중환자들이 많고 항생제 사용이 많은 대도시 대형병원을 중심으로 VRE가 만연함을 알 수 있었다. 또한 국내에서는 임상과 가축 분리균주 사이의 항생제 내성양상, PFGE 양상 및 *vanA* gene cluster 유형분포가 달라[19, 20] VRE 증가 원인은 유럽과 같이 환경으로부터의 전파라기보다는 미국의 양상과 같이 항생제 사용, 장기입원 및 원내 감염관리 소홀 등 병원 내 원인에 의한 증가로 사료된다.

장구균은 비교적 독성이 약한 균종이나 VRE에 의한 감염은 이미 숙주의 저항력이 떨어진 경우가 대부분이고 치료제가 효과적으로 작용하지 않아 VRE 균혈증의 경우 사망률이 약 37%이고[21] 특히 *vanA*형 VRE는 vancomycin에 고도내성을 보여[19, 20] 치료가 어렵기 때문에 균혈증에 의한 사망률이 높다[10, 22]. *vanA* VRE 중에는 *E. faecium*이 가장 흔한 균종[8]으로 알려져 있는데 본 연구에서도 21개의 VanA형 VRE 모두 *E. faecium*으로 vancomycin에 대한 MIC가 128 mg/L 이상의 고도내성을 보였다. Teicoplanin에 대해서는 8균주들의 MIC가 16 mg/L로 중등도 내성을 보여 표현형과 유전형이 불일치하였는데 이는 Clark 등[23]의 연구와 마찬가지로 내성조절유전자의 변이에 의한 결과로 추정된다.

*vanA*형 내성 유전자는 *vanS*, *vanR*, *vanH*, *vanA*, *vanX*와 *vanY* 구조 유전자들로 구성되어 있는 mobile DNA element인 Tn1546에 위치하는데[24, 25] *vanA* type의 Tn1546은 *E. faecium* BM4147의 Tn1546을 원형으로 하여 point mutations, inser-

tion sequence (IS) elements와 deletions 등에 의해 다양한 양상을 보인다[25, 26] 본 연구에서도 대상균주들의 Tn1546구조가 *E. faecium* BM4147의 prototype Tn1546을 근간으로 하면서 left-end deletion을 보이거나 IS1216V 및 IS1542가 삽입되었음을 알 수 있었다. 본 연구의 대상 균주 중 일부는 허 등의 보고에서 언급된 바 있다[27].

IS1542는 영국과 브라질의 입원환자에서 반코마이신 감수성 균주에서도 관찰된다는 보고가 있기는 하지만 내성균주에서 주로 발견된다[25]. Woodford 등[28]의 연구에 의하면 영국 내 병원입원환자에서 분리된 *vanA*형 장구균의 45%, 인체 이외의 대상에서 분리된 *vanA*형 장구균의 19%는 IS1542의 삽입위치가 *orf2-vanR* intergenic region이었다. Darini 등[26]의 연구에서는 *orf2-vanR* intergenic region에 IS1542가 삽입된 경우는 대상균주 *vanA*형 *E. faecium*의 약 8% (2/24균주)이고 나머지 *vanA*형 *E. faecium*는 다른 유전자에 IS1542가 위치하여 모든 대상균주에 IS1542가 삽입되어있음이 관찰되었다.

국내에서는 유 등[20]이 대상균주의 17%에서 IS1542의 삽입이 관찰되었음을 보고한 바 있는데 삽입위치는 모두 *orf2-vanR* intergenic region이었다. 본 연구에서는 대상 균주 모두에서 IS1542의 삽입이 관찰되었고, 삽입 위치는 *orf2-vanR* intergenic region으로 Tn1546내 *orf2-vanR* intergenic region이외의 부위에서 IS1542의 삽입이 관찰되었다는 보고들[25, 26]과는 차이가 있었다. 연구 결과 국내에서 발견된 IS1542의 지역이나 병원별 분포의 차이는 발견할 수 없었고 삽입된 균주에서는 모두 *orf2-vanR* intergenic region내 nucleotide 3932위치에서 *vanR*에 대해 upstream방향으로 8 bp (CTATAATC)가 반복하여 위치하였는데 이는 Woodford 등[28]의 결과와 일치하였다.

Handwerger 등[29]에 의해 처음 보고된 IS1216V는 본 연구에서 모든 대상균주의 *vanX-vanY* intergenic region에서 그리고 A9 한 균주의 *orf1* region에 위치하였다. 유 등[20]의 연구에서는 대상균주의 74%에서 IS1216V가 *vanX-vanY* intergenic region에 삽입되어 다른 삽입염기인 IS1542 (17%)보다 삽입빈도가 높았다. 영국과 이스라엘에서 분리된 균주들에서는 IS1216V의 삽입이 *vanX-vanY* intergenic region이외에 *orf2-vanR* intergenic region에서도 관찰되었는데 *orf2-vanR* intergenic region에 삽입되는 경우들은 좌측 말단의 결손(3418-3862 bp)이 있거나 IS1216V insertion부위에 작은 결손이 있었고[30] 이러한 deletion은 본 연구에서도 관찰할 수 있었다. IS1216V는 *vanX-vanY* intergenic region에 삽입되는 경우도 다양한 결손을 동반할 수 있는데 이때는 *vanY*의 발현에 영향을 주어 *vanA* 유전자를 가지는 균주라도 teicoplanin에 감수성을 보일 수 있어[31] 본 연구의 대상균주 선별과정에서 제외되었기 때문에 IS1216V가 삽입되는 *vanX-vanY* intergenic region에서의 결손은 관찰되지 않았다. 유럽에서의 IS1216V의 분포는 나라에 따라 좀 다른 양상을 보여 네덜란드에서 분리되는 균주들은 영국과 이스라엘에서 분리된 균주들과는 달리 467 bp 앞 부위에서 결손을 보이고 position의 8,234 bp 부위에서 G→T

point mutation이 관찰되었다. 이는 네덜란드에서는 돼지를 주로 먹고 영국에서는 가금류를 주로 먹는 환경적 차이에 기인한 것으로 추측할 수 있어 유럽에서의 VRE 발현 및 전파가 환경에 의한다는 것을 반증하는 결과라 할 수 있다.

국내에서 분리된 VRE의 트랜스포존 구조 분석 결과 지역이나 병원의 차이가 없이 모든 균주에서 IS1542와 IS1216V의 삽입이 관찰되었다. IS1216V는 전세계적으로 널리 분포하는 삽입서열이나 IS1542의 경우는 현재까지 유럽의 분리주에서만 보고된 바 있어 국내 VRE의 내성유전자 구조는 유럽 분리주와 유사함을 알 수 있었다. 또한 PFGE 분석결과 대부분의 균주들이 서로 다양한 양상을 보이거나 내성 유전자형은 특정 병원과 상관없이 대부분 II형이었다. 상기 결과는 국내에서의 vanA 유전자 전파양상이 수직 전이에 의한 것이 아니고 수평 전이에 의한 병원간 전파임을 나타내었다.

요 약

**배경 :** VRE의 vanA 유전자는 Tn1546내에 존재하며 vanR, vanS, vanH, vanA, vanX, vanY 및 vanZ로 구성되어 있는데, Tn1546 트랜스포존은 유전자내의 점 돌연변이, 결실 및 삽입서열의 삽입 등에 의해 유전적 다양성을 나타낸다. 이에 연구자는 국내에서 분리된 vanA형 VRE의 Tn1546의 유전자 구조를 분석하여 vanA 유전자의 전파양상을 연구하였다.

**방법 :** 2000년 1월에서 12월 동안 전국 10개 대학병원에서 분리된 vanA형 vancomycin 내성 *Enterococcus faecium* 21균주를 대상으로 하였다. 한천희석법에 따라 최소억제농도를 측정하고 연쇄중합효소반응법(PCR)으로 내성유전자형을 확인하였다. Overlapping PCR과 DNA 염기서열분석기를 이용하여 내성유전자의 구조와 염기서열을 분석하고 유전적 연관성은 pulsed-field gel electrophoresis를 한 후 Bio-Gene software를 이용하여 분석하였다.

**결과 :** 트랜스포존의 유형분석 결과 3가지 주 유형으로 분류되었고(I-III), 표준 균주인 BM4147과 동일한 트랜스포존형(proto-type)에 속하는 형은 한 균주도 없었다. I형과 II형은 orf2-vanR intergenic region에 IS1542의 삽입과 함께 vanX-vanY intergenic region에 IS1216V의 삽입을 보였다. III형은 I, II형의 특징과 함께 orf1부분에 IS1216V의 삽입이 추가로 관찰되었다. PFGE를 이용한 유전형별 분석결과 A13과 C1 그리고 A2와 A9를 제외한 나머지 균주들은 다양한 양상을 보였다.

**결론 :** 국내에서 분리된 VRE의 내성유전자 구조 분석 결과 IS의 분포 양상이 유럽의 분리주와 유사하였다. PFGE를 이용한 균형 형별 결과 다양한 양상을 보이고 내성유전자 구조 분석 결과 대부분의 균주가 병원에 상관없이 II형을 나타내는 것으로 보아 수평전이가 내성전이의 주요기전으로 추측된다.

참고문헌

1. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin & teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N Engl J Med 1988; 319: 157-61.
2. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988; 1: 57-8.
3. CDC: Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States, 1989-1993. MMWR Morb Mortal wkly Rep. 1993; 42: 597-9.
4. Park JW, Kim YR, Shin WS, Kang MW, Han KJ, Shim SI. Susceptibility tests of vancomycin-resistant enterococci. Korean J Infect Dis 1992; 24: 133-7. (박지원, 김양리, 신완식, 강문원, 한경자, 심상인. Vancomycin 내성 enterococci에 대한 감수성 검사. 감염 1992; 24: 133-8.)
5. Peck KR, Kim SM, Lee NY, Song JH. Intestinal colonization of vancomycin-resistant enterococci in a Korean Hospital. Korean J Infect Dis 1996; 28: 245-51. (백경란, 김성민, 이남용, 송재훈. Vancomycin 내성 장구균의 소화관 집락 양상. 감염 1996; 28: 245-51.)
6. Lee WG, Jung MK, Kwak YS. Vancomycin-resistant enterococci: incidence, antimicrobial susceptibility, and resistance genotypes. Korean J Clin Pathol 1998; 18: 51-6. (이위교, 정민권, 박연식. Vancomycin 내성 장구균의 분리율, 항균제 감수성 및 내성형에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1998; 18: 51-6.)
7. Park JH, Lee SY, Lee MA, Chung WS. Investigation of risk factors for vancomycin-resistant enterococci (VRE) infection and colonization. Korean J Clin Pathol 2000; 20: 308-13. (박진희, 이수연, 이미애, 정화순. 반코마이신 내성 장구균 장내군집 및 감염의 위험인자 분석. 대한임상병리학회지 2000; 20: 308-13.)
8. Arthur M and Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 1563-71.
9. Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahn DF, Courvalin P. Van E, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM 4405. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2161-4.
10. Perichon B, Reynolds P, Courvalin P. VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2016-8.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational suppl. M100-S12, 2003.
12. Murray BE, Singh KV, Heath JD, Sharma BR, Weinstock GM. Comparison of genomic DNAs of different enterococcal isolates using restriction endonucleases with infrequent recognition sites. J Clin Microbiol 1990; 28: 2059-63.
13. Centers for Disease Control. Nosocomial infection surveillance 1984. MMWR 1986; 35 (SS1): 17SS-29.
14. Schberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial

- etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 1991; 91: 72S-5S.
15. Jesen LB. Differences in the occurrence of two base pair variants of Tn1546 from vancomycin-resistant enterococci from humans, pigs and poultry. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2463-4.
  16. Acar J, Casewell M, Freeman J, Friis C, Goossens H. Avoparcin and virginiamycin as animal growth promoters: a plea for science in decision-making. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6: 477-82.
  17. Wegener HC, Madsen M, Nielsen N, Aarestrup FM. Isolation of vancomycin resistant *Enterococcus faecium*s from food. *Int J Food Microbiol* 1997; 35: 57-66.
  18. Cheong HJ, Kim WJ, Choi SJ, Lee KW, Choe KW, Pak SC. Nationwide questionnaire survey for the prevalence, detection methods, and infection control program of VRE among hospitals. *Korean J Infect Dis* 2001; 33: 78-87. (정희진, 김우주, 최선주, 이경원, 최강원, 박승철. Vancomycin-resistant enterococci 빈도, 검사법 및 감염관리 대책에 관한 전국 병원 설문조사. *감염* 2001; 33: 78-87.)
  19. Choi YH, Lee YS, Lee JK, Yoo JI, Kim CK, Kim BS. Molecular relationship of *vanA* glycopeptide resistance gene in enterococci from hospitalized patients and poultry in Korea. *Korean J Infect Dis* 2001; 33: 383-91. (최연화, 이영선, 이점규, 유재일, 김치경, 김봉수. 환자와 가축에서 분리된 *vanA*형 VRE의 분자유전학적 연관성. *감염* 2001; 33: 383-91.)
  20. Yu HS, Seol SY, Cho DT. Diversity of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant enterococci isolated from humans and poultry in Korea. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2641-3.
  21. Lautenbach E, Bilker WB, Brennan PJ. Enterococcal bacteremia: Risk factors for vancomycin resistant and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 318-23.
  22. Edmond MB, Ober JF, Dawson JD, Weinbaum DL, Wenzel RP. Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia natural history and attributable mortality. *Clin Infect Dis* 1996; 23: 1234-9.
  23. Clark NC, Cooksey RC, Hill BC, Swenson JM, Tenover FC. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 2311-7.
  24. Arthur M, Molinas C, Depardieu F, Courvallin P. Characterization of Tn1546, a Tn3-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in *Enterococcus faecium* BM4147. *J Bacteriol* 1993; 175: 117-27.
  25. Palepou MF, Adebisi AM, Tremlett CH, Jensen LB, Woodford N. Molecular analysis of diverse elements mediating VanA glycopeptide resistance in enterococci. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 605-12.
  26. Darini AL, Palepou MF, Woodford N. Nucleotide sequence of IS1542, an insertion sequence identified within VanA glycopeptide resistance elements of enterococci *FEMS Microbiol Lett.* 1999; 173: 341-6.
  27. Huh JY, Lee WG, Lee K, Shin WS, Yoo JH. Distribution of insertion sequences associated with Tn1546-like elements among *Enterococcus faecium* isolates from patients in Korea. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1897-902.
  28. Woodford N, Adebisi AM, Palepou MF, Cookson BD. Diversity of VanA glycopeptide resistance elements in enterococci from humans and nonhuman sources *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 502-8.
  29. Handwerker S and Skoble J. Identification of chromosomal mobile element conferring high-level vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2446-53.
  30. Schouten MA, Willems RJ, Kraak WA, Top J, Hoogkamp-Korstanje JA, Voss A. Molecular analysis of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant enterococci isolated from patients in Europe shows geographic transposon type clustering. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 986-9.
  31. Lee WG, Huh JY, Cho SR, Lim YA. Reduction in glycopeptide resistance in vancomycin-resistant enterococci as a result of *vanA* cluster rearrangements. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1379-81.
  32. Simonsen GS, Myhre MR, Dahl KH, Olsvik O, Sundsfjord A. Typability of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant enterococci using Long-range PCRs and specific analysis of polymorphic regions. *Microb Drug Resist* 2000; 6: 49-57.
  33. Jensen LB, Ahrens P, Dons L, Jones RN, Hammerum AM, Aarestrup FM. Molecular analysis of Tn1546 in *Enterococcus faecium* isolated from animals&humans. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 437-42.