pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 29, No. 3, pp. 223~227 (2014)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2014.29.3.223

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

원유시료 중 메티실린 내성 황색포도알균의 분포 및 내성 유전자 특성 분석

강소원 · 송영천[1] · 최성숙[1]*
삼육대학교 동물과학부, [1]삼육대학교 약학대학

Prevalence and Molecular Characterization of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Milk Samples in Gyeonggi-do, Korea

Kang SoWon, Song YoungCheon[1], and Choi SungSook[1]*
Division of Animal Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea
[1]College of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea
(Received April 15, 2014/Revised June 2, 2014/Accepted August 5, 2014)

ABSTRACT - This study was investigated to determine the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from raw milk samples and to further study on the molecular characteristics of the MRSA isolates. Using Staphylococcus Medium 110, Staphylococcus spp. were isolated from raw milk samples and further identification was carried by Vitek2 system. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics were conducted by serial dilution method according to the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guideline. For the detection of resistance genes and molecular characterization, PCR reaction was performed by gene specific primers and followed by DNA sequencing. Of the 698 milk samples, 94 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) were identified (94 *S. aureus* /286 Staphylococcus spp.). Of the 94 *S. aureus*, seven isolates have *mecA*, a methicillin resistant gene. *mec*A positive seven isolates were then characterized by staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) typing, and Panton-Valentine Leukocidin (*pvl*) gene using PCR. All of *mec*A positive isolates were resistant to ampicillin and oxacillin, but sensitive to teicoplanin, vancomycin and ciprofloxacin. One of seven isolates was SCC*mec* type II and six isolates were type IV and all seven isolates were *pvl* gene negative.

Key words : methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, molecular characteristics of *mec*A, SSC*mec* typing, *pvl*

황색포도알균(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)은 병원성이 매우 강한 그람양성 알균으로 사람과 동물에 각종 화농성 질환, 폐렴, 식중독, 패혈증 및 뇌수막염 등을 일으키는 것으로 알려져 있다[1]. Penicillin 내성 *S. aurues*의 치료를 위해 도입된 methicillin이 임상에서 사용된 지 1년 만인 1961년 영국에서 methicillin-resistant *S. aureu*s (MRSA)가 처음 보고된 후 빠르게 내성균이 증가하면서 세계 여러 나라에서 보고되고 있다[2]. MRSA는 항생제를 많이 사용하는 병원이나 의료 기구를 통해 얻게 되는 대표적인 병원내 감염균으로(healthcare associated MRSA, HA-MRSA), 지역사회에서는 분포율이 낮고 감염을 잘 일으키지 않는 것으로 알려져 있었다[3]. 그러나 최근 MRSA 감염의 위험인자가 없는 사람에서 MRSA 감염이 지속적으로 증가하는 것으로 보고되고 있다[4]. 즉 지역사회 관련 methicillin-resistant *S. aureus* (community associated MRSA, CA-MRSA)이 증가하는 경향을 보이고 있어 이러한 역학적 변화에 대한 관심이 점차 커져가고 있는 실정이며[5], 우리나라의 경우 2005년 역학조사에서 *S. aureus* 대비 3.4%의 빈도로 지역사회에서 MRSA가 발생하는 것으로 보고되었다[6,7]. MRSA는 β-lactamase에 안정하도록 개발된 항생제인 methicillin에 내성을 보일 뿐 아니라 β-lactam을 기본구조로 하는 항생제 및 aminoglycoside, macrolide, quinolone 등 거의 모든 종류의 항생제에 대해 광범위한 내성을 나타내는 경우가 많아 보건 및 건강분야에서 중요한 문제로 대두되고 있다[8,9]. MRSA의 내성기전은 β-lactam 계열 항생제에 대한 친화도가 낮은 penicillin-binding protein 2a (PBP2a)의 생산에 의한 것으로 *S. aureus* 유전자 중 staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*)이라는 이동성(mobile) 유전자에 있는 *mecA* 유전자에 의해 발현된다[10]. Methicillin 내성을 결정하는 *mec*A복합체는 *mec*A와 이유

*Correspondence to: Choi SungSook, College of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea
Tel: 82-2-3399-1606, Fax: 82-2-3399-1617
E-mail: sschoi@syu.ac.kr

전자의 발현을 조절하는 조절부위 유전자인 *mecRI mecI* 등으로 구성되어 있다[11]. SCC*mec*유전자 type의 분류는 *mec*A유전자 복합체와 chromosomal cassette recombinase (*ccr*)유전자 복합체 및 여러 인자의 조합에 따라 SCC*mec* type I~V로 구분할 뿐 아니라 하위그룹도 여러 가지 아형으로 분류한다[11-14]. MRSA 균주의 역학 관계를 파악하는 데는 HA-MRSA와 CA-MRSA에 따라 SCC*mec* type간에 차이가 있어 SCC*mec* typing이 많이 이용되고 있으며[15,16]. *S. aureus* 감염증의 역학적 연구를 통해 HA-MRSA 와 CA-MRSA간의 연관성을 규명하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다[17,18]. 최근에는 사람에서뿐 아니라 축산식품이나 가축에서도 MRSA의 존재가 보고되고 있으며 분리된 MRSA의 *mec*A 유전자의 특징에 대한 연구도 활발하게 이루어지고 있다[19-21]. 따라서 본 연구자등은 경기지역 축산농가에서 수집한 원유시료에서 분리한 *S. aureus* 을 대상으로 *mec*A 양성 MRSA분포 비율, oxacillin 이외의 항생제 내성 특성, *mec*A 유전자의 SCC*mec* type 분석, 및 병독소 유전자인 Panton-Valentine Leukocidin (*pvl*) 유전자의 분포를 조사함으로 CA-MRSA 발생 연구 및 MRSA관리를 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

원유 시료의 수집 및 균주 분리

본 연구를 위하여 2008년 1월부터 2011년 5월에 걸쳐 경기북부지역 젖소 사육 농가 15곳으로부터 698개의 원유시료를 수집하여 Staphylococcus medium 110 (Difco, Detroit, MI, USA) 에 원유시료를 도말 후 37ºC에서 48시간 배양하였다. 배양 후 형성된 집락 중 포도알균 특유의 모양을 나타내는 황색의 집락을 순수배양 후 임상검사센터인 세강(Seoul, Korea)에 의뢰하여 Vitek 2 자동화 시스템으로 균 동정을 실시하였다.

항생제 최소억제농도의 측정

분리, 동정한 *S. aureus* 균주를 대상으로 ampicillin (Sigma Co. St. Louis MO, USA), ciprofloxacin (Korea United Pharm Inc.), chloramphenicol (Sigma Co. St. Louis MO, USA), erythromycin (Sigma Co. St. Louis MO, USA), gentamicin (Chong Keun Dang Pharm.), oxacillin (Sigma Co. St. Louis MO, USA), teicoplanin (Hanall Pharm.), tetracyclin (Sigma Co. St. Louis MO, USA), vancomycin (Sigma Co. St. Louis MO, USA)에 대한 감수성 검사를 실시하였으며 실험의 정도 관리를 위한 대조균으로는 *S. aureus* ATCC 29213을 사용하였다. 감수성 실험은 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, USA) 의 고체배지 희석법으로 실시하였으며[22] 배지는 2% NaCl을 함유한 Muller-Hinton 배지(Difco, Detroit, MI, USA) 를 사용하였다. 실험에 사용 할 균주를 37ºC, 15시간 전 배양한 후, 이 균을 10^5 CFU/ml 되도록 희석한 후 5 μl씩 항생제 배지에 접종하여 37ºC, 18시간 배양하고 균주의 성장을 확인할 수 없는 가장 낮은 항생제 농도를 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)로 결정하였다.

메티실린 내성 유전자 확인 및 분석

유전자 분석을 위해 oxacillin에 내성을 나타내는 *S. aurues* 균주로부터 genomic DNA를 GeneAll Cell SV kit (GeneAll Biotechnology, Seoul)을 이용하여 분리하였으며 *S. aurues* 의 세포벽의 분해를 용이하게 하기위하여 lysostaphin (Sigma Co. MO. USA)을 50 μl (100 mg/ml)을 첨가하였다. PCR 반응에 사용한 primer sequence 는 Table 1 에 나타내었으며 *mec*A primer[23]는 Sigma-Proligo (The Woodlands, TX, USA) 사에서 제작하여 사용하였으며 그외 primer 는 Genotech (Taejeon, Korea)에서 제작하여 사용하였다. PCR 산물의 염기서열은 Genotech (Taejeon, Korea)에 의뢰하여 DNA 서열을 결정 후 미국국립의학도서관(PubMed)에서 제공하는 염기서열분석(nucleotide blast) 을 하여 염기서열

Table 1. Primers used for this study

target gene	primer	Sequence (5'-3')	size	SCC*mec* type
ccrAs-B	B	ATTGCCTTGATAATAGCCYTCT	937	II, IV
	a3	TAAAGGCATCAATGCACAAACACT		
ccrC	ccrCF	CGTCTATTACAAGATGTTAAGGATAAT	518	III, V
	ccrCR	CCTTTATAGACTGGATTATTCAAAATAT		
ISI272	1272F1	GCCACTCATAACATATGGAA	415	I, IV
	1272R1	CATCCGAGTGAAACCCAAA		
mecA/IS431	5RmecA	TATACCAAACCCGACAACTAC	359	V
	5R431	CGGCTACAGTGATAACATCC		
*mec*A gene	*mec*AF	TTTAGGCGTTAAAGATATAAACATTCAGG	209	
	*mec*AR	TGCTTTGGTCTTTCTGCATTCC		
pvl gene	*pvl*F	ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA	432	
	*pvl*R	GCATCAAATGTATTGGATAGCAAAAGC		

의 동질성을 확인하였다. Methicillin 내성 유전자인 *mecA* 유전자와[23] 병독소 유전자인 Panton-Valentine Leukocidin (PVL, *pvl* gene)독소 *pvl* 유전자의[24] 검출을 위한 PCR 반응은 *AccuPower*™ PCR PreMix제품(Bioneer, Taejeon, Korea)을 사용하여 DNA template 2 μl (200 ng), forward 및 reverse primer 각 10 pmole을 가하고 DNase free H_2O를 가하여 최종 부피를 20 μl 로 하여 실시하였다. PCR 반응은 94°C 5분간 denaturation 반응 후 94°C 30초, 58°C 30초, 72°C 30초 반응을 30회 반복 후 72°C에서 10분간 마무리 elongation 하였다. 반응 후 1.8% agarose gel에서 전기영동 하여 각각 증폭된 DNA 조각을 확인하였다. *mec*A 양성으로 확인된 균주에 대해 SCC*mec*분석은 multiplex PCR 방법[25]을 이용하여 결정하였다. Multiplex PCR은 AccuPower® Gold Multiplex PCR PreMix시약(Bioneer, Taejeon, Korea)을 사용하였으며 DNA 1 μg, 각각의 primer를 5 pmole 함유 하도록 하여 총 부피를 50 μl 로 하여 94°C 15분간 denaturation 반응 후 94°C 30초, 57°C 90초, 72°C 90초 반응을 30회 반복 후 72°C에서 10분간 마무리 elongation 하였다. 반응 후 PCR 산물은 2% agarose gel에서 전기영동 하여 증폭된 DNA 조각을 확인하였다. 양성대조균으로 사용한 *mecA* 양성 *S. aureus* 균주는 항생제내성균주은행(Culture Collection of Antibiotic Resistant Microbe, 서울여자대학교) 에서 분양 받은 *S. aureus* CCARM 3792 (type IV reference strain) 및 CCARM 3798 (type II reference strain)균주를 사용하였다.

결과 및 고찰

본 연구 결과 698개의 원유시료에서 분리한 포도알균속 세균중 94개의 균이 *S. aurues* 로 동정되었으며 이 균중 총 7개의 균주에서 209 bp 크기의 *mecA* 유전자가 확인되었다(Fig. 1). *mecA*양성인 7개의 균주에 대한 oxacillin의 MIC 값은 모두 8 μg/ml 이상으로 내성이었으며 그 외 ampicillin 및 erythromycin에도 내성을 나타내었으나 teicoplanin, vancomycin 및 ciprofloxacin에 대해서는 모두

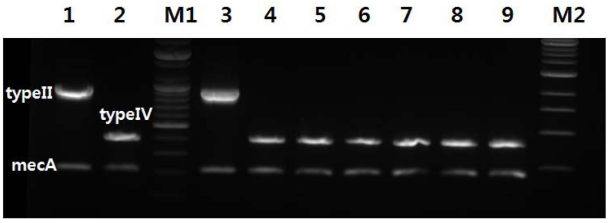

Fig. 1. Multiplex PCR reaction of 7 *mec*A positive MRSA isolates. M1: 100 bp ladder, M2: 1 kb ladder, lane 1: CCARM 3798 (typeII), lane 2: CCARM 3792 (typeIV), lane 3: S-8, lane 4: S-13, lane 5: S-17, lane 6: S-19, lane 7: lane S-31, lane 8: S-51, lane 9: S-62.

감수성임을 알 수 있었다(Table 2). 전체 *S. aureus* 균주 중 *mec*A 양성 균주의 비율은 7.4%(7/94)로 2005년 보고된 Kwon 등의[19] 연구결과인 1.8% 보다는 높은 빈도였으며 2013년 보고된 Kee[26]등의 우리나라 지역사회 중 MRSA 분포비율인 8.4% 보다는 약간 낮은 분포도를 알 수 있었다. *mecA*양성 MRSA 로 확인된 균주들에 대해 SCC*mec* type을 multiplex PCR 을 이용하여 분석한 결과 7개의 균주중 S-8 균주는 937 bp 크기의 DNA 가 증폭된 type II 로 그외 나머지 6개의 균주는 415 bp 크기의 DNA가 증폭된 type IV 로 확인되었다(Fig. 1). 지금까지 알려진 MRSA의 SCC*mec* type은 HA-MRSA의 경우 type I, II, III 인 것으로 알려졌으며, CA-MRSA의 경우 type IV, V가 주로 존재하는 것으로 보고되었으나 최근에는 CA-MRSA 에서도 HA-MRSA type으로 알려졌던 type II, III균주가 분리된다는 연구 결과가 보고되었다[11]. 본 연구결과에서도 7개의 *mec*A 양성균 중 6개는 type IV 로 확인되었으나 S-8 균주는 type II로 확인되어 최근의 역학적 분포양상과 일치함을 확인할 수 있었다. 이는 기존 우리나라 축산물 유래 연구 결과와도 일치하는 것으로 주로 현재 우리나라 축산물 유래 *mec* type은 type IV 및 type V가 많으나 type II 균주도 분리되고 있는 것으로 보고되고 있다[19-21,26]. 한편 CA-MRSA 균의 특징인 *pvl* 병독소 유전자의 분포를 확인한 결과 7개의 균주 모두에서 검출되지 않았다. 일반적으로 CA-MRSA의 경우 병독소유전자인 *pvl* 유전자가

Table 2. Characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw tank milk samples

strains	MIC (μg/ml)	*mec*A	SCC*mec*	*pvl* gene	Antimicrobial[a] resistance (except oxacillin)
	oxacillin				
S-8	25	+	II	-	Amp, Cam, Em,Gm,Tc
S-13	> 100	+	IV	-	Amp,Em,Gm,TC
S-17	25	+	IV	-	Amp, Em, Gm
S-19	50	+	IV	-	Amp, Em,Tc
S-31	12.5	+	IV	-	Amp, Em, Tc
S-51	12.5	+	IV	-	Amp, Gm
S-62	25	+	IV	-	Amp, Em, Gm

Amp; ampicillin, Cam; chloramphenicol, Em; erythromycin, Gm; gentamicin, Tc; tetracycline.
a) Determination of resistance was based on the CLSI guideline

검출되는 것으로 보고되고 있으나[14] 본 실험에 사용된 균주의 경우 *pvl* 음성임을 알 수 있었으며 이러한 결과는 Lim 등의[20,21] 연구결과와도 일치함을 알 수 있었다. 본 연구 결과를 통해 경기북부지역에 국한된 지역적인 조사 결과이기는 하지만 CA-MRSA가 우리나라 축산물에서도 비교적 높은 빈도로 분포함을 확인할 수 있었으며 SCC*mec* type IV 균주가 주로 분리됨을 알 수 있었으며 앞으로도 지속적인 모니터링을 실시하여 CA-MRSA의 역학적 연구를 위한 기초자료 제공에 기여하고자 한다.

요 약

원유시료에서 분리한 methicillin 내성 황색포도알균의 분표율과 내성유전자의 분석을 분자수준에서의 실시하였다. 총 698종의 원유시료에서 286개의 포도알균속 세균을 Staphylococcus Medium 110을 이용하여 분리 후 Vitek 2 system을 이용하여 동정한 결과 94개의 황색포도알균을 확인하였다. 94개의 황색포도알균 중 총 7개의 균에서 methicillin 내성 *mec*A 유전자가 존재함을 확인하였다. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)로 확인된 7 균주에 대해 수종의 항생제 에 대한 감수성 시험, staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) typing, 및 병독소유전자인 Panton-Valentine Leukocidin (*pvl*)유전자를 분석하였다. 그 결과 7종의 *mec*A 양성 MRSA 모두 ampicillin과 oxacillin에 내성이었으며 teicoplanin, vancomycin 및 ciprofloxacin에는 모두 감수성임을 확인하였다. 한편 SCC*mec* typing결과 7균 중 1균주는 SCC*mec* type II로 확인되었고 6균주는 SCC*mec* type IV로 확인되었으며 병독소 유전자인 *pvl*유전자는 검출되지 않았다.

참고문헌

1. Timoney, J.F., Gillespie, J.H., Scott, F.W. and Barlough, J.E.: Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals, 8th ed. Ithaca: Comstock Publishing Associates, pp. 171-196 (1988).
2. Diederen, B.M. and Kluytmans, J.A.: The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Infect*. **52**, 157-168 (2006).
3. Goetz, A., Posey, K., Fleming, J., Jacobs, S., Boody, L., Wagener, M.M. and Muder, R.R.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community: a hospital-based study. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*., **20**, 689-691 (1999).
4. Kallen, A.J., Driscoll, T.J., Thornton, S., Olson, P.E. and Wallace, M.R.: Increase in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Naval Medical Center. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*., **21**, 213-222 (2000).
5. Song, J.H., Hsueh, P.R., Chung, D.R., Ko, K.S., Kang, C.I., Peck, K.R., Yeom, J.S., Kim, S.W., Chang, H.H., Kim, Y.S., Jung, S.I., Son J.S., Kitso, T.m., Lalitha, M.K., Yang, Y.H., Huanh, S.G., Wang, H., Lu, Q., Carlos, C.C., Perera, J.A., Chiu, C.H., Liu, J.W., Chongthaleong, A., Tamlikitkul, V. and Van, P.H.: Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORPstudy. *J. Antimicrob. Chemother*., **66**, 1061-1069 (2011).
6. Kim, E.S., Song, J.S., Lee, H.J., Choe, P.G., Park, K.H., Cho, J.H., Park, W.B., Kim, S.H., Bang, J.H., Kim, D.M., Park, K.M., Shin, S., Lee, M.S., Choi, H.J., Kim, N.J., Kim, E.C., Oh, M.D., Kim, H.B. and Choe, K.W.: A survey of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.,* **60**, 1108-1114 (2007).
7. Mun, H.M., Kim, S.D., Chun, B., Lee, S., Kim, M.N., Sim, J.J., Choi, H.R., Park, H.J., Han, M.K. and Kwak, S.H.: Community and hospital onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care teaching hospital. *Korean J. Nosocomial Infect. Control*, **14**, 24-35 (2009).
8. Lee, J.S., Park, O., Woo, H.J., Jung, H.J., Kim, W.J., Kim, M.J. and Park, S.C.: A longitudinal molecular epidemiologic study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from a university hospital. *Korean J. Infect. Dis*., **33**, 32-39 (2001).
9. Kim, H.B., Jang, H.C., Nam, H.J., Lee, Y.S., Kim, B.S., Park, W.B., Lee, K.D., Choi, Y.J., Park, S.W., Oh, M.D., Kim, E.C. and Choe, K.W.: *In vitro* activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. *Antimicrob. Agents Chemother*., **48**, 1124-1127 (2004).
10. Chambers, H.F.: Methicillin resistance in Staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.*, **10**, 781-791 (1997).
11. Hiramatsu, K., Ito, T., Tsubakishita, S., Sasaki, T., Takeuchi, F., Morimoto, Y., Katayama, Y., Matsuo, M., Kuwahara-Arai, K., Hishinuma, T. and Baba, T.: Genomic basis for methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *Infec*. *Chemothe*., **45**, 117-136 (2013).
12. Oliveira, D.C. and de Lencastre, H.: Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother*., **46**, 2155-2161 (2002).
13. Ito, T., Ma, X.X., Takeuchi, F., Okuma, K., Yuzawa, H. and Hiramatsu K.: Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccr*C. *Antimicrob. Agents Chemother*., **48**, 2637-2651 (2004).
14. Boyle-Varva, S., Ereshefsky, B., Wang, C.C. and Daum, R.S.: Successful multiresistant community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineage from Taipei, Taiwan, that carries either the novel staphylococcal chromosome cassette *mec* (SCC*mec*) type V_T or SCC*mec* type IV. *J. Clin. Microbiol*., **43**, 4719-4730 (2005).
15. Chongtrakool, P., Ito, T., Ma, X.X., Kondo, Y., Trakulsomboon, S., Tiensasitorn, C., Jamklang, M., Chavalit, T., Song, J.H. and Hiramatsu, K.: Staphylococcal cassette chromo-

some *mec* (SCC*mec*) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCC*mec* elements. *Antimicrob. Agents Chemother.,* **50**, 1001-1012 (2006).

16. Cha, E.K., Chang, K.S. and Hwang, S.M.: Correlation between staphylococcal cassette chromosome *mec* type and coagulase serotype of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol. Virol.,* **39**, 71-78 (2009).
17. Park, J.Y., Kim, H.O., Jeong, Y.G., Kim, S. and Bae, I.G.: Clinical characteristics and risk factors of community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections: comparison of community-acquired methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infections. *Infect. Chemother*., **38**, 109-115 (2006).
18. Choe, Y.J., Lee, S.Y., Sung, J.Y., Yang, M.A., Lee, J.H., Oh, C.E., Lee, J., Choi, E.H. and Lee, H.J.: A review of *Staphylococcus aureus* infections in children with an emphasis on community-associated methicillin-resistant *S.aureus* infections. *Korean J. Pediatr. Infect. Dis.,* **16**, 150-161 (2009).
19. Kwon, N.H., Park, K.T., Moon, J.S., Jung, W.K., Kim, H.S., Kim, J.M., Hong, S.K., Koo, H. C., Joo, Y.S. and Park, Y.H.: Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) characterization and molecular analysis for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and novel SCC*mec* subtyping IVg isolated from bovine milk in Korea. *J. Antimicro. Chenother*., **56**, 624-632 (2005).
20. Nam, H.M., Lee, A.L., Jung, S.C., Kim, M.N., Jang, G.C., Wee, S.H. and Lim, S.K.: Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Korea. *Foodborne Patho. Dis.,* **8**, 231-238 (2011).
21. Lim, S.K., Nam, H.M., Jang, G.C., Lee, H.S., Jung, S.C. and Kwak, H.S.: The first detection of methicilin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pigs in Korea. *Vet. Micorbio.,* **155**, 88-92 (2012).
22. Clinical and Laboratory Standards Institute.: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth information supplement, M100-S18. Wayne, PA: CLSI (2008).
23. Anyliffe, G.A.J.: The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Infect. Dis*., **24** (*Suppl.*1), S74-79 (1997).
24. Lina, G., Piémont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M.O., Gauduchon, V., Vandenesch, F. and Etienne, J.: Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin. Infect. Dis*. **29**, 1128-1132 (1999).
25. Boye, K., Bartels, M.D., Anderson, I.S., Moller, J.A. and Westh, H.A.: New multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCC*mec* type I-V. *Clin. Microbiol. Infect.*, **13**, 725-727 (2007).
26. Kee, H.Y., Kim, M.J., Kim, S.H., Lee, S.M., Kim, S.K., Ha, D.R., Kim, E.S. and Chung, J.K.: Characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Gwangju, Korea. *J. Bacteriol. Virol.,* **43**, 99-110 (2013).