

부산지역에서 분리된 *Staphylococcus aureus*의 Coagulase 혈청형 변화

황수명* · 김태운

부산기톨릭대학교 보건과학대학 임상병리학과

1994년에서 2005년사이 부산지역의 임상검체와 건강인의 비강에서 분리된 *Staphylococcus aureus*의 coagulase 혈청형의 변화를 조사하였다. 총 715균주에서 methicillin 내성 *S. aureus* (MRSA)는 임상균주로 408주였으며, 나머지 307주는 methicillin 감수성(MSSA) 균주로서, 8종(I-VIII)의 coagulase 혈청형이 분리되었다. MRSA 균주에서 가장 분리율이 높은 coagulase 혈청형은 II형(54.3%, 222/408)이었으며, 다음으로 IV형(24.7%), III형(10.9%), V형(5.2%)순으로 나타났으며, MSSA균주에서는 VII형(30.9%, 95/307), IV형(22.2%), V형(22.2%), II형(7.1%)의 순으로, 균주간에 큰 차이를 나타내었다. 분석 연도별 coagulase 혈청형을 비교한 결과 큰 변화가 관찰되었다. MRSA 균주에서 혈청형 V형은 1997년까지 분리되지 않았으나, 2005년에는 18.5% (20/108)로 증가되었고, III형은 1994년 27.0% (31/115)에서 2005년 0.9% (1/108)로 감소되었다. 또한 MSSA 균주에서도 유사한 경향을 나타내었으나, II형의 경우 2005년도 균주에서는 분리되지 않았다. 이와 같은 결과에서 *S. aureus*의 coagulase 항원성 전이에 따른 혈청형의 변화를 확인하였다.

Key words □ coagulase serotyping, MRSA, *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (황색포도상구균)는 병원 및 지역사회 감염증의 중요한 원인균으로 농양이나 창상감염 등의 피부감염, 골관절염, 폐렴, 패혈증, 독소쇼크증후군, 식중독 등의 광범위 질환을 일으키는 병원성 세균이다(5, 7). 또한 건강한 사람의 피부나 비강에서도 빈번히 집락을 형성하는 균으로 잘 알려져 있다(2, 8). 1960대 초에 영국에서 *S. aureus* 감염의 치료제로 광범위하게 사용하던 methicillin에 내성을 가지는 methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 균주의 출현이 알려지면서(19), 1970년 후반에 이르러서는 병원내 감염을 일으키는 중요한 세균이 되었고, 다약제 내성 MRSA 분리율의 증가는 사회적으로 심각한 문제로 인식되고 있다(9, 12). 우리나라에서도 최근에 MRSA 분리율이 70%에 이르고 있음이 보고되었다(1, 4). MRSA 감염은 병원내 감염 뿐 아니라 지역사회에서의 집단생활 환경에서 쉽게 전파되어지고 있어, 지역사회 획득 MRSA (community acquired, CA-MRSA) 감염 및 유행성 균주출현에 대한 역학적 연구가 전 세계적으로 활발히 이루어 지고 있다(10, 28, 33).

*S. aureus*는 세포 분비성 단백질 성분으로, coagulase, enterotoxin, toxic shock syndrome toxin-1, Panton-Valentine leukocidin 등과 같은 여러 종류의 병독성 물질을 생성한다(6, 11). Coagulase는 사람이나 동물의 prothrombin을 활성화하여 섬유소원을 섬유소로 변환시켜 혈장응고에 관여하는 효소로서 *S. aureus*의 분리동정에 결정적인 요인으로 잘 알려져 있다(14, 22). *S. aureus*가 생성하는 coagulase는 630~720개의 아미노산으로 구성되어져 있으며,

분자량이 63~77 kDa이며, prothrombin 활성영역(N-region), 중심영역(Central-region)과 말단영역(C-repeat region)으로 구성되어져 있다(18, 20, 21). 이 단백질의 N 영역과 중심영역의 구조적인 변화에 따른 항원성 차이에 의하여 8종(I-VIII)의 혈청형(serotype)이 알려져 있으며(33), 최근에는 동물에서 분리된 *S. aureus*에서의 새로운 혈청형 2종(IX, X)이 추가되어, 10종의 혈청형이 보고되었다(34). Coagulase의 혈청형과 유전자형 분석은 *S. aureus*의 역학적 연구에 유용한 자료로 이용되고 있으며, 다약제 내성균주와 분리된 검체의 종류에 따라 coagulase의 형별 특성을 나타내고 있다(15, 30, 31).

환경오염, 항생제 남용 등에 의한 점차적 생태계의 변화는 다약제 내성인자의 획득을 비롯한 병독성 인자의 변형으로 이어져 새로운 환경에 적응을 위한 변이균주의 출현을 가져올 것이며, 변이균주에 의한 감염은 치료에 어려움은 물론 치명적인 결과를 가져올 수 있으리라 생각된다. *S. aureus*에 대한 약제내성 획득 기전과 유행성 균주의 출현에 대한 역학적 연구가 많이 이루어지고 있으나, 우리나라에서 분리된 *S. aureus*의 coagulase 혈청형과 유전자 변이에 관한 지속적인 연구는 거의 없는 실정이다. 저자들은 집단생활을 하는 건강한 학생들을 대상으로 주기적으로 비강에서 *S. aureus*의 분리율과 항생제 내성율을 조사하면서, 임상 검체에서 분리된 균주와 함께 coagulase 혈청형을 분석한 결과 흥미로운 변화를 관찰할 수 있었기에 소개하고자 한다.

재료 및 방법

실험균주

부산시 소재 3개 종합병원의 임상검체에서 분리 동정된

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-51-510-0563, Fax: 82-51-510-0568
E-mail: smhwang@cup.ac.kr

methicillin 내성 *S. aureus* (MRSA) 408주(1994년~2005년)와 methicillin 감수성 *S. aureus* (MSSA) 61주(2005년)를 수집하였고, 건강한 20대 남녀대학생 890명(1994년~2000년)과 유치원생 261명(2005년)의 1,151명을 대상으로 비강 검체에서 분리 동정된 MSSA 246주를 포함하여 총 715주를 실험균주로 사용하였다. 임상균주가 분리된 검체의 종류는 농, 귀 분비물, 객담, 혈액, 뇨, 기타 순이었으며, 화농성 검체가 70%로 대부분을 차지하였다.

건강인의 비강검체에서 *S. aureus*의 일차 분리 동정은 보통한 천배지에 접종하여 자란 황색집락을 선택, 순수분리 배양하였고, 그람염색, coagulase 시험, catalase 시험, mannitol salt agar 시험으로 선별하였다. 선별된 *S. aureus*의 동정과 항생제 감수성 시험은 Dade Behring Dried Positive Combo Panel type 1A (MicroScan, Dade International Inc., USA)로 시험하였다. 임상 검체에서 분리 동정된 *S. aureus*는 위와 동일한 방법으로 재동정하여 확인하였다.

MRSA 판정 및 *mecA* 유전자 확인

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) 지침(27)에 따라 디스크 확산법으로 MRSA균주를 선별하였다. MacFarland No.0.5의 탁도로 세균부유액을 만든 후 면봉으로 Mueller-Hinton 배지상에 고르게 도말한 후 1 µg/ml oxacillin 디스크(BBL, microbiology system, Cockeysville, MD, USA)을 놓고 35°C에서 18~24시간 배양하여 억제대의 직경이 10 mm이하인 집락을 MRSA로 판정하였다. MRSA로 판정된 균주에서 methicillin 내성 *mecA* 유전자를 확인하기 위하여 균체 DNA 추출은 AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit (BIONEER Co. Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 분리하였으며, Murakami 등(26)의 방법에 따라 primer는 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGC-3', 5'-AGITCTGCAGTACCGGATTTGC-3' (BIONEER Co. Ltd., Seoul, Korea)을 사용하여 중합효소연쇄반응에 의한 증폭산물인 533 bp의 *mecA* 유전자를 확인하였다.

Coagulase 혈청형 시험

*S. aureus*의 coagulase 혈청형 분석은 8종(Type I-VIII)의 항혈청(Denka Seiken Co, Tokyo Japan)을 사용하여 Hwang 등(16)의 방법으로 분석하였다. 보통한천배지에 자란 한 집락을 5 ml Brain Heart Infusion broth (BHI)에 접종하여 37°C shaking incubator에서 하루밤 배양한 후, 0.1 ml의 균배양액을 새로운 5

ml BHI broth에 접종하여 4~5시간배양을 하여 균의 농도가 10⁸ CFU/ml 되게 조정하여, 6,000×g, 20분 동안 원심 분리하여 그 상층액을 분석시료로 사용하였다. Coagulase 기질용액으로는 Polyethylene glycol-Aminocarponic acid-Fibrinogen (PAF)를 사용하였다(16). U-microplate 각 well에 항혈청 8종(Type I-VIII, Denka Seiken Co. Japan) 각각 10 µl 취하고, 시료 10 µl를 각 항혈청이 들어 있는 well에 가하여 가볍게 혼합한 다음 실온에서 5분 방치하였다. 그 다음으로 PAF 기질용액을 각 well에 20 µl 넣은 후 37°C incubator에서 2시간이후 부터 30분 간격으로 형 특이 coagulase와 항혈청간의 중화 반응에 의한 응고억제반응 여부를 관찰하였다. 대조균주는 Cowan I (IV형) 균주와 기존 균주를 사용하였다.

결과 및 고찰

1994년부터 2005년까지 3년에서 5년 주기로 임상검체와 건강인의 비강에서 분리 동정된 총 715주의 coagulase 혈청형 결과는 Table 1과 같다. Coagulase II형이 34.1%로 가장 분리율이 높았으며, 다음으로 IV형(23.6%), VII형(14.8%), V형(12.4%), III형(8.8%), I형(2.8%), VIII형(1.4%), VI형(0.7%)의 순이었으며, 혈청형이 결정되지 않은 형(ND)이 1.4%를 차지하였다. 임상검체에서 분리된 methicillin 내성 *S. aureus* (MRSA) 총 408균주의 coagulase 혈청형별 특성을 살펴보면(Table 2), 가장 분리율이 높은 혈청형은 II형(54.3%, 222/408)이었으며, 다음으로 IV형(24.7%), III형(10.9%), V형(5.2%), VII형(2.7%), I형(1.2%), ND(0.7%) 순으로 나타났으며, VIII형은 분리되지 않았다. 연도별 각 형별 변화에서, II형의 경우 1994년: 53% (61/115), 1997년: 46.7% (42/90), 2000년: 64.2% (61/115), 2005년 53.7% (58/108)으로 지속적으로 가장 높은 분리율을 나타내었으며, IV형의 경우 그 다음 순으로 나타났다. 그러나 1997년까지는 분리되지 않았던 V형은, 2000년 1.1% (1/95), 2005년에 18.5% (20/108)로 큰 폭의 증가율을 나타내었고, III형은 1994년 27% (31/115)에서 2005년에는 0.9% (1/108)로 감소를 나타냄으로써, methicillin 내성을 갖는 coagulase V형 균주의 출현과 혈청형의 변화를 관찰할 수 있었다.

건강한 대학생 890명(1994년~2000년)의 비강에서 분리된 *S. aureus*는 182주로 20.7%의 보균율을 나타내었으며, methicillin 내성균주는 분리되지 않았다. 261명의 유치원생(2005년)에서 분

Table 1. Distribution of coagulase serotypes of *S. aureus* isolates

Strains	No. of strains (%)	Coagulase serotype								
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	ND
MRSA	408	5	222	44	101	21	1	11	0	3
MSSA	307	15	22	18	68	68	4	95	10	7
Total	715 (100)	20 (2.8)	244 (34.1)	62 (8.8)	169 (23.6)	89 (12.4)	5 (0.7)	106 (14.8)	10 (1.4)	10 (1.4)

MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-susceptible *S. aureus*
ND, Not determined

Table 2. The phenotypic trait of coagulase serotype of MRSA isolates from clinical sources

Coagulase serotype	No. of strains (%) of the year				Total
	1994	1997	2000	2005	
I	0(0.0)	5(5.6)	0(0.0)	0(0.0)	5(1.2)
II	61(53.0)	42(46.7)	61(64.2)	58(53.7)	222(54.4)
III	31(27.0)	9(10.0)	3(3.2)	1(0.9)	44(10.8)
IV	23(20.0)	29(0.0)	27(28.4)	22(20.4)	101(24.8)
V	0(0.0)	0(0.0)	1(1.1)	20(18.5)	21(5.1)
VI	0(0.0)	0(0.0)	1(1.1)	0(0.0)	1(0.2)
VII	0(0.0)	5(5.6)	2(2.1)	4(3.7)	11(2.7)
VIII	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
ND	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(2.8)	3(0.7)
Total	115(100)	90(100)	95(100)	108(100)	408(100)

ND, Not determined

리된 *S. aureus*는 75주(28.7%)이었으며, 이 중에서 methicillin 내성 균주는 11주였다. MRSA 11주의 coagulase 혈청형은 V형: 8주, VII형: 2주, I형: 1주이었다. 연구대상 연령층의 차이는 있었지만, 집단생활을 하는 유치원생에서 MRSA 출현은 지역사회 관련 *S. aureus*의 역학적 연구가 필요한 것으로 사료되며, 현재 연구 중에 있다. Table 3은 건강인의 비강에서 분리된 MSSA 246주(1994년~2005년)와 임상검체에서 분리된 MSSA 61주(2005년)를 포함한 307주의 coagulase 혈청형을 비교한 결과로서, VII형(30.9%, 95/307)이 가장 높은 분리율을 보였고, IV형(22.2%), V형(22.2%), II형(7.1%), III형(5.8%), I형(4.9%), VIII형(2.0%), VI형(0.8%) 순으로 나타났다. 이와같은 결과는 MRSA 균주에서의 coagulase 혈청형 특성과 상당한 차이가 있음을 확인 할 수 있었다. 건강인의 비강에서 분리된 MSSA균주의 연도별 변화를 살펴

보면(Table 3), V형의 경우 1994년 7.7% (4/50)에서 2005년 42.2% (27/64)로 큰 폭의 증가를 나타내었다. 반면에 II형은 점차 감소하여 2005년 균주에서는 검출되지 않았다. 건강인의 비강에서 분리된 MSSA 균주와 임상검체에서 분리된 MSSA 균주의 coagulase 혈청형을 비교하기 위하여 임상균주 61(2005년)의 혈청형을 분석한 결과(Table 3), V형이 29.5%((18/61)로 가장 많았으며, II형은 분리되지 않았다. MSSA 균주에서 V형 증가와 II형의 분리율의 감소는 검체의 종류에 관계없이 coagulase 혈청형 특성을 나타내고 있음을 확인하였다.

일본에서는 1970년 이후부터 *S. aureus*의 coagulase 혈청형과 그 유전자 다형성에 관한 연구가 활발히 이루어져 많은 연구가 보고되고 있는 반면에 우리나라에서는 이에 관한 연구자료는 매우 적은 편이다. Ishino 등(18)은 MRSA 472균주의 coagulase 혈청형 분석결과에서 II형: 389(82.4%), IV형: 37(7.8%), VII형: 18(3.8%), III형: 11(2.3%), I형: 8(1.7%), NT: 8(1.7%) 순으로, 또한 MSSA 206균주의 경우 VII형: 72(34.9%), II형: 47(22.8%), V형: 25(12.1%), IV와 VIII형: 각각 13(6.3%), VI형: 3(1.5%), I형: 2(0.97%), NT: 9(4.3%) 보고하였는데 본 실험의 MRSA와 MSSA의 각 형별 특성과 상당한 차이를 나타냄으로서 국가간에 *S. aureus* 균종의 큰 차이가 있음을 확인하였다. 우리나라에서의 연구로서, 김 등(1)은 임상 검체에서 분리된 MRSA 79균주로 분석한 결과, II형: 46.8%, IV형: 15.2% I, III 및 VII형이 각각 6.3%, VI와 VII형이 각각 3.8%, NT: 11.5%로 보고하였고, 류 등(3)은 임상 검체에서 분리된 MRSA 86주에서 II형: 50%, IV형: 12.5%, III형: 6.8%, V형을 제외한 나머지 I, VI, VII, VIII형이 각각 4.5%임을 보고한 바 있다. 이와 같은 결과에서 II형과 IV형의 분리율은 본 실험과 유사하였으나 V형의 분리율에 있어서 큰 차이를 나타내었다.

*S. aureus*는 건강인의 비강이나 피부에 균 집락을 형성하며, 지역사회 감염의 주요 원인균으로 전 세계적으로 문제가 되고 있다. 최근에는 지역사회 내성획득 MRSA (Community acquired-

Table 3. The phenotypic trait of coagulase serotype of MSSA isolates from nasal cavities of healthy persons and clinical sources

Coagulase serotype	No. of strains (%) of the year					Total
	1994	1997	2000	2005	2005 ^a	
I	6(11.5)	4(8.0)	0(0.0)	3(4.7)	2(3.3)	15(4.9)
II	4(7.7)	9(18.0)	9(11.3)	0(0.0)	0(0.0)	22(7.1)
III	5(9.6)	2(4.0)	3(3.8)	2(3.1)	6(9.8)	18(5.8)
IV	9(17.3)	12(24.0)	21(26.3)	15(23.5)	11(18.0)	68(22.2)
V	4(7.7)	9(18.0)	10(12.3)	27(42.2)	18(29.5)	68(22.2)
VI	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(3.1)	2(3.3)	4(1.3)
VII	19(36.5)	14(28.0)	32(40.0)	13(20.3)	17(27.9)	95(30.9)
VIII	5(9.6)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	5(8.2)	10(3.2)
ND	0(0.0)	0(0.0)	5(6.3)	2(3.1)	0(0.0)	7(2.3)
Total	52(100)	50(100)	80(100)	64(100)	61(100)	307(100)

^a Strains isolated from clinical sources in 2005

ND, Not determined

MRSA) 균주의 증가와 세포독성인자의 생성으로 MRSA가 superbacteria로 작용하여 치료에 어려움은 물론 치명적 사례의 경우가 보고되었다(23, 24). Methicillin 감수성인 *S. aureus* (MSSA)가 methicillin약제에 내성균으로의 진화과정은 *mecA* 유전자를 갖고 있는 거대한 유전요소인 Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*)의 획득에 의하여 이루어진다(25, 29). SCC*mec* 인자는 구조적 특성에 따라 여러 가지 유전자형 (Type I-V)으로 존재하며, MRSA의 새로운 변이종, 유행 균주 등에 관한 역학적 연구에 SCC*mec* type의 연구가 많이 이루어지고 있다(32). 본 연구결과에서 *S. aureus* coagulase 항원성 변화에 의한 V형의 증가와 methicillin 내성을 갖는 coagulase V형 균주의 출현은 숙주의 면역환경에 대처하기 위한 병원성균의 진화과정의 하나로 생각되어지며, 지역사회 감염 *S. aureus*의 특성과 관련성이 있을 것으로 추정되어, 앞으로 분자역학적 연구가 이루어져야 할 부분으로 생각된다. *S. aureus* 715주의 coagulase 혈청형을 Hwang 등(16)의 방법에 따라 분석한 결과, 간편하고, 경제적이며, 재현성 있는 결과를 얻었을 수 있음을 재확인하였다. *S. aureus* coagulase 혈청형 분석은 분자역학적인 방법인 random amplified polymorphism DNA analysis (RAPD) 연구에서 유의성 있는 결과를 얻었고(17), *S. aureus* 균주의 생물학적 특성의 기초자료로 활용될 수 있으리라 사료된다.

10여 년 기간동안 임상검체와 건강인의 비강에서 분리된 *S. aureus*의 coagulase 혈청형을 분석하여 비교한 결과, methicillin 내성 균주와 methicillin 감수성 균주의 coagulase 혈청형의 큰 차이가 있음을 확인하였고, 실험연도별 coagulase 혈청형의 변화를 관찰할 수 있었다. 특히 coagulase 항원성 변화에 따른 V형 균주의 증가와 methicillin 내성 V형 균주의 출현 결과는 지역사회 감염과 연관된 새로운 MRSA 유행균주의 가능성을 시사하는 것으로 사료되며, SCC*mec*형 분석을 비롯하여 MRSA의 다양한 분자역학적 연구에 기초자료로 이용될 수 있으리라 기대한다.

참고문헌

1. 김정만, 김아성, 김경희, 김태겸, 한진영, 김인후. 1997. Methicillin 내성 황색포도상구균에 의한 원내감염의 역학조사를 위한 *mec* 유전자형 및 coagulase형에 관한 연구. 대한임상병리학회지 17, 558-597.
2. 김춘관, 이혁, 김신우, 김성민, 백경관, 최윤호, 김광원, 이상일, 송재훈. 1998. 지역사회내 메티실린 내성 황색포도상구균의 비강 보균율. 감염 30, 527-531.
3. 류지환, 이훈구. 2000. 부산지역 환자로부터 분리된 methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)의 응고효소형 및 항균제 내성에 관한 연구. 한국미생물학회 36, 216-220.
4. 이영선, 김홍빈, 유재일, 양숙자, 사종문, 최연화, 김봉수. 1999. 메티실린 내성황색포도구균에 대한 분자역학적조사. 국립보건원보 36, 67-76.
5. Archer. G.L. and C.G. Mayhall. 1983. Comparison of epidemiologic markers used in investigation of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J. Clin. Microbiol.* 18, 395-399.
6. Becker, K., R. Roth, and G. Peters. 1998. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: Use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. *J. Clin. Microbiol.* 36, 2548-2553.
7. Bouvet, A., J.M. Fournier, A. Audurier, C. Branger, A. Orsoni, and C. Girard. 1990. Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolates in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 28, 1338-1341.
8. Cole, A.M., S. Tahk, A. Oren, D. Yoshioka, Y.H. Kim, A. Park, and T. Ganz. 2001. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 8, 1064-1069.
9. Cuevas, O., E. Cercenado, E. Castellares, P. Trincado, R. Cabrera, A. Vindel. 2002. Spanish group for the study of staphylococcus. 2007. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: a multicentre prevalence study. *Clin. Microbiol. Infect.* 3, 250-256.
10. Diep, B.A., H.A. Carleton, R.F. Chang, G.F. Sensabaugh, and F. Perdreau-Remington. 2006. Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital- and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.* 193, 1495-1503.
11. Durand, G., M. Bes, H. Meugnier, M.C. Enright, F. Forey, N. Liasine, A. Wenger, K. Kikuchi, G. Lina, F. Vandenesch, and J. Etienne. 2006. 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.* 44, 847-853.
12. Fujino, T., J. Sekiguchi, A. Kawana, H. Konosaki, H. Nishimura, K. Saruta, K. Kudo, T. Kondo, Y. Yazaki, T. Kuratsuji, and T. Kirikae. 2004. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Tokyo hospital in 2003. *Jpn. J. Infect. Dis.* 57, 83-85.
13. Galdbart, J.O., A. Morvan, and N. El Sohl. 2000. Phenotypic and molecular typing of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains susceptible to gentamicin isolates in France from 1995 to 1997. *J. Clin. Microbiol.* 38, 185-190.
14. Goh, S.H., S.K. Byrne, J.L. Zhang, and A.W. Chow. 1992. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* on the basis of coagulase gene polymorphisms. *J. Clin. Microbiol.* 30, 1642-1645.
15. Hookey, J.V., V. Edwards, B.D. Cookson, and J.F. Richardson. 1999. PCR-RFLP analysis of the coagulase gene of *Staphylococcus aureus*: application to the differentiation of epidemic and sporadic methicillin-resistant strains. *J. Hosp. Infect.* 42, 205-212.
16. Hwang, S.M., K. Seki, J. Sakurada, M. Ogasawara, M. Murai, S. Ohmayu, K. Kurosaka, and S. Masuda. 1989. Improved methods for detection and serotyping of coagulase from *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Immunol.* 33, 175-182.
17. Hwang, S.M. and K.S. Oh. 2005. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by random amplified polymorphic DNA analysis. *J. Health Sciences* 2, 9-20.
18. Ishino, K., N. Tsuchizaki, J. Ishikawa, and K. Hotta. 2007. Usefulness of PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism typing of the coagulase gene to discriminate arbekacin-resistant Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. Clin. Microbiol.* 45, 607-609.
19. Jevons, M.P. 1961. Celbenin-resistant Staphylococci. *Brit. Med. J.* 1, 124-125.
20. Kaida, S., T. Miyata, Y. Yoshizawa, H. Igarashi, and S. Iwanaga. 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences of staphylo-

- coagulase gene from *Staphylococcus aureus* strain 213. *Nucleic Acids Res.* 17, 8871.
21. Kanemitsu, K., H. Yamamoto, H. Takemura, M. Kaku, and J. Shimada. 2001. Relatedness between the coagulase gene 3'-end region and coagulase serotypes among *Staphylococcus aureus* strains. *Microbiol. Immunol.* 45, 23-27.
 22. Kawabata, S., T. Miyata, T. Morita, T. Miyata, S. Iwanaga, and H. Igarashi. 1986. The amino acid sequence of the procoagulant- and prothrombin-binding domain isolated from staphylocoagulase. *J. Biol. Chem.* 261, 527-531.
 23. Kilic, A., H. Li, C.W. Stratton, and Y.W. Tang. 2006. Antimicrobial susceptibility patterns and staphylococcal cassette chromosome mec types of, as well as Pantone-Valentine leukocidin occurrence among, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children and adults in middle Tennessee. *J. Clin. Microbiol.* 44, 4436-4440.
 24. Ma, X.X., T. Ito, P. Chongtrakool, and K. Hiramatsu. 2006. Prevalence of clones carrying pantone-valentine leukocidin genes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Japanese Hospitals from 1979 to 1985. *J. Clin. Microbiol.* 44, 4515-4527.
 25. Ma, X.X., T. Ito, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, P. Chongtrakool, S. Boyle-Vavra, R.S. Daum, and K. Hiramatsu. 2002. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 1147-1152.
 26. Murakami, K., W. Minamide, K. Wada, E. Nakamura, H. Teraoka, and S. Watanabe. 1991. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 29, 2240-2244.
 27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1998. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 6th ed. approved standard, M2-A6, Wayne, PA, USA.
 28. Piao, C., T. Karasawa, K. Totsuka, T. Uchiyama, and K. Kikuchi. 2005. Prospective surveillance of community-onset and health-care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a university-affiliated hospital in Japan. *Microbiol. Immunol.* 49, 959-970.
 29. Qi, W., M. Ender, F. O'Brien, A. Imhof, C. Ruef, N. McCallum, and B. Berger-Bchl. 2005. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Zurich, Switzerland (2003): Prevalence of type IV SCCmec and a new SCCmec element associated with isolates from intravenous drug users. *J. Clin. Microbiol.* 43, 5164-5170.
 30. Seki, K., J. Sakurada, H.K. Seong, M. Murai, H. Tachi, H. Ishii, and S. Masuda. 1998. Occurrence of coagulase serotype among *Staphylococcus aureus* strains isolated from healthy individuals-special reference to correlation with size of protein-A gene. *Microbiol. Immunol.* 42, 407-409.
 31. Shimizu, A., M. Fujita, H. Igarashi, M. Takagi, N. Nagase, A.S. Asaki, and J. Kawano. 2000. Characterization of *Staphylococcus aureus* coagulase VII isolates from staphylococcal food poisoning outbreaks (1980-1995) in Tokyo, Japan, by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.* 38, 3746-3749.
 32. Teixeira, L.A., C.A. Resende, L.R. Ormonde, R. Rosenbaum, A.M. Figueirdo, H. De Lencastre, and A. Tomasz. 1995. Geographic spread of epidemic multiresistant *Staphylococcus aureus* clone in Brazil. *J. Clin. Microbiol.* 33, 2400-2404.
 33. Tenover, F.C., R. Arbeit, G. Archer, J. Biddle, S. Byrne, R. Goering, G. Hancock, G.A. Hbert, B. Hill, R. Hollis, W.R. Jarvis, B. Kreiswirth, W. Eisner, J. Maslow, L.K. McDougal, J.M. Miller, M. Mulligan, and M.A. Pfaller. 1994. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 32, 407-415.
 34. Ushioda, H., T. Terayama, S. Sakai, H. Zen-Yoji, M. Nishiwaki, and A. Hidano. 1981. Coagulase typing of *Staphylococcus aureus* and its application in routine work. In J. Jeljaszewicz (ed.), *Staphylococci and staphylococcal infections. Zbl. Bakt. Suppl.* 77-83.
 35. Watanabe, S., I. Ito, E. Takeuchi, M. Endo, E. Okuno, and K. Hiramatsu. 2005. Structural comparison of ten serotypes of staphylocoagulases in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 187, 3698-3707.

(Received November 19, 2007/Accepted December 20, 2007)

ABSTRACT: Changes in Coagulase Serotype of *Staphylococcus aureus* Isolates in Busan, 1994-2005
 Soo-Myung Hwang* and Tae-Un Kim (Department of Clinical Laboratory Science, Catholic University of Pusan, Busan 609-757, Korea)

We analyzed the phenotypic changes in coagulase serotype of *S. aureus* isolated from clinical sources and nasal cavities of healthy persons, 1994-2005. A total of 715 isolates, 408 methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) from clinical sources and 307 methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA), were classified into eight coagulase serotypes, I to VIII. The most prevalent serotype in MRSA was type II (54.3%, 222/408) and followed IV (24.7%), III (10.9%), and V (5.2%), whereas the majorities in MSSA were type VII (30.9%, 95/307), IV (22.2%), V (22.2%) and II (7.1%). Among the isolates collected periods, significant changes of coagulase serotypes in both strains were observed. In MRSA strains, the serotype V was not detected until 1997, but rapidly increased to 18.5% (20/108) in 2005, and the serotypes III decreased from 27% (31/115) in 1994 to 0.9% (1/108) in 2005. A similar trend in MSSA strains was observed but serotype II strain was not detected in 2005. The antigenic shift and changes in the coagulase of *S. aureus* were confirmed.