

이 3.2-8.2%[5, 6]로 보고된 바 있다.

VRE는 내성 유전자에 따라 6가지 형으로 분류가 되는데 내성 획득형인 VanA, VanB, VanD, VanE 및 VanG형과[7] 자연 내성을 가지고 있는 VanC형이다. 그중 VanA형 VRE는 vancomycin에 고도내성, teicoplanin에 중등도에서 고도내성을 가지고 있어 VRE 중 가장 심각한 문제가 되며, 내성유전자는 염색체나 플라스미드내에 10.8-kb 크기의 트랜스포손 형태로 위치하고 있다. 내성 유전자의 전파는 유행성 균주의 단클론성 전파나 내성유전자의 균주간 수평전파로 가능하며 균 전체의 DNA분석과 함께 내성 유전자의 구조적 특징도 같이 분석되어야만 VRE 균주의 내성 전파양상을 추정할 수 있다.

본 연구에서는 아주대학병원 임상 검체에서 분리된 VanA형 VRE와 미국 Atlanta지역에서 분리되어 Centers for Disease Control & Prevention (CDC)에 수집된 VanA형 VRE를 대상으로 세균 DNA의 형질분석과 내성유전자의 구조를 분석하였다. 이를 통해 각 균주들 간의 유전적 관련성과 함께 *vanA* 내성유전자의 구조를 비교하여 병원 내 전파양상과 대륙 간 전파양상을 규명하고, conjugation study를 통하여 내성유전자의 전이력을 평가하였다.

대상 및 방법

1. 대상균주

미국 CDC에서 수집된 VanA형 vancomycin 내성 *E. faecium* 20주(C1-20)와, 1998년 1월부터 1999년 4월동안 아주대학병원 임상 검체에서 분리된 VanA형 vancomycin 내성 *E. faecium* 16주(AJ22, 28, 33, 37, 38, 43, 45, 47, 53, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 64)와 *E. faecalis* 1주(AJ48)를 대상으로 하였다. 각 균주는 vancomycin 6 µg/mL을 함유한 brain heart infusion (BHI) agar를 이용한 한천희석법으로 vancomycin 내성여부를 검색하였고, VRE로 검색된 모든 균주에 대하여 기존의 수기법, API 20 STREP (bioMerieux, Hazelwood, MO, USA) strip 및 자동동정기기인 Vitek system (bioMerieux)을 이용하여 동정하였다.

2. 최저발육저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC)

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에서 제시한 한천희석법에 따라[8] vancomycin, teicoplanin 및 ampicillin에 대한 MIC를 측정하였다. Vancomycin은 32 µg/mL 이상을 내성으로 판독하였고, teicoplanin과 ampicillin은 16 µg/mL 이상을 내성으로 판독하였다.

3. 내성유전자형 결정

혈액한천배지에 배양한 2-3개의 집락을 trypticase soy broth (TSB) 10 mL에 접종하여 24시간 배양한 후 Dynabeads DNA DIRECT kit (DYNAL, Oslo, Norway)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 전반응액인 동결건조액 PreMix-Top [Bioneer, Daejeon, Korea: Taq polymerase 1 unit, dNTP 250 µM, 10 mM Tris (pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂] 0.5 mL 시험관에 대상균주 DNA 1 µL와 시발체 1.5 µL씩을 넣었다. GeneAmp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT, USA)을 이용하여 PCR을 시행(94°C 5분; 1 cycle/94°C 30초, 60°C 1분, 72°C 1분; 30 cycle/72°C 5분; 1 cycle)한 후 증폭 산물을 전기영동하여 UV에서 관찰하였다. 사용되었던 시발체[9, 10]는 Table 1과 같다.

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

PFGE는 Murray 등[11]의 방법을 이용하였다. 고형화시킨 세균의 DNA는 *Sma*I (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA)으로 처리하였고 CHEF-DR II system (BioRad Lab., Hercules, CA, USA)을 이용하여 ramped pulse time을 시작 1초, 끝 20 초로 하고 6 V/cm의 조건으로 24시간 전기영동하였다. 분석은 Bio-Gene software (Vilber Lourmat, Marne la-valles, France)를 이용하여 UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages)법으로 군집 분석하여 유전적 연관성을 결정하였다.

5. 유전자 구조 분석: Long PCR restriction fragment length polymorphism (long-PCR RFLP)

Long PCR을 이용해 10.4 kb 크기의 *vanA* gene cluster의 증폭산물을 구한 후 변별력이 있는 제한효소로 절단하여 띠의 양상을 분석하였다. 시발체[12]는 5'-AAC CTA AGG GCG ACA TAT GGT G-3'/5'-GGT ACG GTA AAC GAG CAA TAA

Table 1. Sequence of PCR primers used for detection of vancomycin resistant genes*

Gene	Primers (5'→3')	Size (bp)
vanA	CCC ACT TTG CTT TTA TCC CGC ACC CGT CAA TCC CAA GTT TCG	356
vanB	CGC CAT ATT CTC CCC GGA TAG AAG CCC TCT GCA TCC AAG CAC	667
vanC1	GCG GTA TTG GGA AAC AGT GCC GCG GTC AAT CAG TTC GGG AAG TGC	429
vanC2	CGG GGA AGA TGG CAG TAT CGC AGG GAC GGT GAT TTT	484

*From references [8, 9].

Table 2. Sequence of PCR primers used for PCR mapping*

Gene	Location	Primers (5'→3')	Size (bp)
ORF1 10	42-62	ATT TTC CTG ACG AAT CCC TCG	308
	349-327	TCG GAA AAC AAG GTG AGC TTA GA	
ORF1 11	164-185	AAC CTA AGG GCG ACA TAT GGT G	758
	921-901	AAA AGG AGC CAC CAT CTA CCG	
ORF1 21	949-975	GCA TGT AGT GAT GAA ACA CCT AGC TGC	2,028
	2,976-2,952	TCA AGA TGA ATG GAT ACT GGG GAC C	
vanS-vanH	5,692-5,716	AAT TAT TGT TCA GCA TGG AGG GCA G	455
	6,146-6,126	TTT GGC CTT GGA TTC CGA CAC	
vanX	8,082-8,101	ACT TGG GAT AAT TTC ACC GG	424
	8,505-8,486	TGC GAT TTT GCG CTT CAT TG	
vanY-vanZ	9,341-9,362	ATG GAT ACG GGT TGC TTG ATA T	1,375
	10,715-10,694	TTT CCC CTC ACT TCA CAC CTA C	
vanZ	10,446-10,468	AAT ACT GTT GGA GGC TTT CTT GG	132
	10,577-10,553	GGT ACG GTA AAC GAG CAA TAA TAC G	
IS1216		AAA GCA ATT TCA GCA GGA TG GTA CGA TGT TCT GTC CCT TG	456

*From references [13, 14].

TAC G-3'를 사용하였다. 방법은 GeneAmp XL PCR kit (PE Applied Biosystems, Branchburg, NJ, USA)를 사용하여 3.3X XL BufferII 30 μ L, GeneAmp 10 mM dNTP Blend 8 μ L, Mg (OAc)₂ 25 mM 6 μ L, rTth DNA polymerase 1 μ L, bacterial DNA 5 μ L, 시발체 4 μ L, distilled water 46 μ L를 전 반응액으로 하여 long PCR (94°C 1분; 1 cycle/98°C 20초, 68°C 10분, 30 cycle/72°C, 10분; 1 cycle)을 시행한 후 증폭산물을 0.7% agarose gel에 전기영동하여 UV하에 관찰하였다. QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용해 정제된 증폭산물을 *EaeI* (New England BioLabs, Inc., Beverly, MA, USA)로 절단하여 1.0% agarose gel에 전기영동한 후 띠의 양상을 비교 분석하였다. 정도관리 균주로는 *E. faecalis* A256 [13]을 사용하였다.

6. PCR mapping

Long PCR의 증폭산물이 얻어지지 않는 균주에 대하여 *vanA* gene cluster의 부분별 PCR을 시행하여 내성유전자의 구조를 분석하였다. 사용되었던 시발체[14, 15]는 Table 2와 같다. DNA의 추출과 PCR의 조건은 내성유전자형의 결정과 동일하게 시행하였다.

7. Conjugation study

Vancomycin 내성유전자의 전이력을 평가하기 위하여 PFGE와 long-PCR RFLP의 양상이 다른 CDC와 아주대학병원 균주를 각각 2균주씩 선별해 공여 균주로 하고 rifampin-resistant, fusidic acid-resistant *E. faecalis* JH2-2를 수여 균주로 하여 filter mating법[16]으로 conjugation study를 시행하였고 전이

계수(transfer efficiency)는 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Transfer efficiency} = \frac{\text{Transconjugants number} \times \text{dilution 배수}}{\text{Donors number} \times \text{dilution 배수}}$$

각 공여 균주와 *E. faecalis* JH2-2를 멸균된 면봉으로 3-5개의 집락을 취해 BHI broth에 5-6시간 배양시킨 후 공여 균주의 균액 1 mL와 20배로 희석한 수여 균주의 균액 1 mL를 혼합하여 membrane filter (0.22 μ m, Millipore Corp., Bedford, MA, USA)에 통과시킨다. 통과시킨 membrane filter를 혈액천배지에 얹어 48시간 배양한 후 공여 균주의 균액은 vancomycin (10 μ g/mL)이 포함된 BHI agar에 단계 희석하여 접종하고, 혈액천배지에서 배양한 membrane filter는 5 mL BHI broth에 부유시킨 후 단계 희석하여 vancomycin (10 μ g/mL), rifampin (25 μ g/mL) 및 fusidic acid (20 μ g/mL)가 포함된 BHI agar 배지에 접종하였다. 35°C에서 24시간 배양한 후 집락수를 세어 전이 계수를 계산하고 내성유전자가 전이된 transconjugant는 long PCR-RFLP를 시행하여 공여 균주의 내성유전자와 동일함을 확인하였다.

결 과

1. 최저발육저지농도(MIC)

항균제 감수성 결과는 CDC와 아주대학병원 균주 전부에서 vancomycin의 MIC는 256 μ g/mL 이상, teicoplanin MIC는 32 μ g/mL 이상으로 고도내성을 보여 VanA형 VRE의 표현형과 일치하였다. Ampicillin MIC는 2균주(AJ48, AJ64)가 16 μ g/mL 이하로 감수성이 있다고 평가되었으나, 그 외 35균주는 64 μ g/

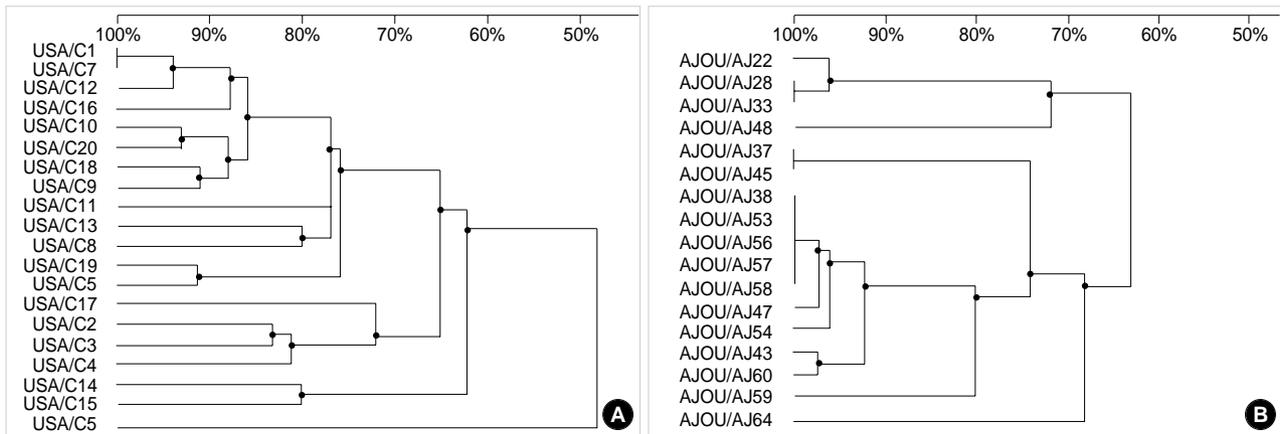


Fig. 1. (A) Dendrogram of similarity based on pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of VRE from Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (B) Dendrogram of similarity based on PFGE patterns of VRE from Ajou University Hospital.

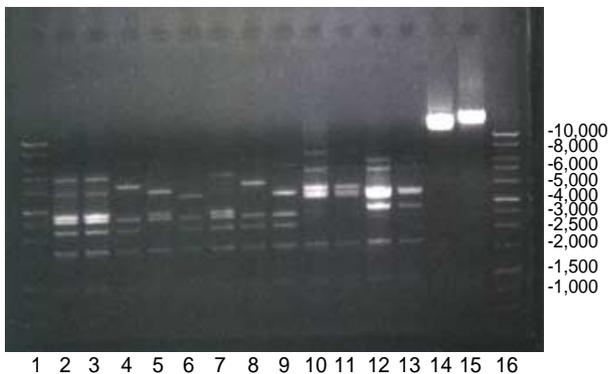


Fig. 2. Restriction fragment length polymorphism of Tn1546 amplicons digested with *EaeI*. 1 & 16, 1 kb DNA ladder; 2, *E. faecalis* A256; 3, C4; 4, C19; 5, C6; 6, C7; 7, C12; 8, C13; 9, C20; 10, AJ33; 11, AJ48; 12, AJ60; 13, AJ64; 14, C20 (long PCR amplicons); 15, AJ22 (long PCR amplicons).

mL 이상으로 내성을 나타내었다.

2. 내성유전자형 결정

Multiplex PCR을 이용하여 CDC와 아주대학병원의 VRE 37 균주에서 356 bp 크기의 *vanA* 내성유전자를 확인하였다.

3. 유전적 형별 분석: PFGE

Similarity 90%를 기준으로 분석하였을 때 CDC 균주는 4개의 군(cluster)을 포함한 15개형으로 나타났고(Fig. 1A), 아주대학병원 균주는 3개의 군을 포함한 6개형으로 나타났다(Fig. 1B).

4. 유전자 구조 분석: Long-PCR RFLP

CDC 균주는 20균주 중 18균주(90%), 아주대학병원 균주는

Table 3. Groups of restriction fragment length polymorphism of Tn1546 amplicons digested with *EaeI*

Institution	RFLP Group	Isolates
Centers for Disease Control & Prevention (CDC)	A	C1, C5, C7, C9, C10, C18, C20
	B	C4, C11, C12, C14, C15, C16
	C	C2, C13, C19
	D	C6
	E	C7
Ajou University Hospital	F	AJ22, AJ28, AJ33, AJ48
	G	AJ37, AJ38, AJ43, AJ45, AJ47, AJ53, AJ54, AJ56, AJ57, AJ58, AJ60, AJ64

17균주 중 16균주(94%)가 long PCR에서 내성유전자가 증폭되었고, 증폭산물을 *EaeI*으로 절단한 결과 CDC 균주는 RFLP상 5개의 군(A-E)으로 아주대학병원 균주는 2개의 군(F, G)으로 분류되었다(Fig. 2, Table 3).

5. PCR mapping

Long PCR에서 vancomycin 내성유전자가 증폭되지 않는 균주와 RFLP분류의 각 군에서 한 균주씩 선택하여 시행한 내성유전자의 PCR mapping 결과는 Table 4와 같다. Long PCR 음성인 균주들은 양성인 균주와는 상이한 PCR mapping 결과를 보였다.

6. Conjugation study

평균 전이 계수는 CDC 균주는 2.0×10^{-8} transconjugant/donor, 아주대학병원 균주가 4.9×10^{-5} transconjugant/donor였고, transconjugant의 long PCR-RFLP 양상은 각각의 공여 균주와 동일하였다(Table 5).

Table 4. PCR mapping of Tn1546-like elements in long PCR-negative strains

	RFLP group	Strain No.	ORF1 10	ORF1 11	ORF1 21	vanS-vanH	vanX	vanY-vanZ	vanZ	IS1216
<i>E. faecalis</i> A256	B		○	○	○	S	○	○	○	○
Centers for Disease Control & Prevention (CDC)	A	C1	×	○	○	S	○	○	○	○
	B	C4	×	○	○	S	○	○	○	○
	C	C13	×	○	○	L	○	○	○	○
	-	C3	×	×	○	L	○	○	○	○
	-	C8	×	×	○	L	○	○	○	○
Ajou University Hospital	F	AJ22	×	○	○	L	○	○	○	○
	G	AJ53	×	○	○	S	○	○	○	○
	-	AJ59	×	×	○	S	○	○	○	○

Abbreviations: -, long PCR-negative; ○, presence of PCR products; ×, absence of PCR products; L, PCR products of large molecular weight; S, PCR products of small molecular weight.

Table 5. Transfer efficiency of vancomycin-resistant enterococci with vanA gene cluster

Strain No.	Transfer efficiency (transconjugant/donor)
AJ22	8.7×10^6
AJ43	9.0×10^5
C5	4.0×10^8
C14	2.0×10^8

고 찰

1986년 영국과 프랑스에서 VRE가 처음 보고된 후 미국에서도 VRE가 보고되었고[17], 이후로 최근까지 VRE는 급격히 분리 빈도가 증가하고 있다. 미국의 보고는 주로 중환자실을 중심으로 한 대형병원에서의 VRE의 증가로, 항생제의 과다사용과 장기간의 질병으로 인한 환자들의 면역력의 약화가 VRE의 장내집락화나, 감염의 위험인자로 추정된다[13]. VRE의 전파양상을 알아내기 위한 분자생물학적 연구 결과들에 의하면 VRE가 분리되기 시작한 초기에는 균주들이 유사한 PFGE 결과를 보여 단일 균주에 의한 VRE의 유행이 전파의 주요기전이 라고 여겨졌다[17, 18]. 그러나, VRE가 분리되기 시작한 지 수년이 지난 후에는 많은 연구에서 유전적 관련성이 없는 균주들이 동일한 내성유전자의 구조를 가지는 결과가 보고되어[19-21] 미국의 경우 VRE의 분리가 증가된 최근에는 내성 유전자의 수평이동에 의한 VRE의 전파가 주요기전으로 생각되어지고 있다.

본 연구에서는 내성 유전자 구조분석법으로 long PCR-RFLP 법이 사용되었는데 이는 Haaheim 등[12]에 의하여 처음 소개된 이후 *vanA*와 *vanB* 내성유전자 구조분석에 널리 이용되고 있다. 일반적으로 *vanB* 균주의 long PCR이 대부분 성공적으로 증폭되는데[9, 21] 반해 *vanA* 균주는 long PCR 음성인 균주의 빈도가 흔히 보고되고 있다. 본 연구에서는 90% 이상의 long PCR 양성률을 나타내어 Simonsen 등[14]이 보고한 59%보다 현저히 높았다.

CDC의 VRE 균주는 PFGE상 4개의 cluster를 포함한 15개형으로 분류되었으며, 단일 균주에 의한 VRE의 유행성 전파를 시

사하는 소견은 없었다. 이는 아마도 동일병원이 아닌 다양한 병원에서 수집한 균주를 대상으로 한 결과로 사료된다. CDC 균주의 long PCR-RFLP결과는 5개의 군으로 분류가 되며, 이 중 B군은 대조균주로 사용한 *E. faecalis* A256과 동일한 양상을 보였다. 내성 유전자의 증폭산물이 생긴 18균주 중 A군과 B군에 13균주(72%)가 속해 CDC 균주는 단일 균주에 의한 VRE의 유행보다는 주로 내성유전자의 수평이동에 의해 내성이 전파되었다고 추정되었다. 아주대학병원 균주는 3개의 cluster를 포함한 6개형으로 분류되었고 그 중 한 군에는 6균주가 동일한 PFGE 양상을 나타내어 단일 균주에 의한 VRE의 소규모 유행을 시사하였다. 아주대학병원 균주의 RFLP결과는 2개의 군으로 나뉘어졌으며, F군에 균주 AJ22, 28, 33, 48, G군에 균주 AJ37, 38, 43, 45, 47, 53, 54, 56, 57, 58, 60, 64가 속하였다. 아주대학병원 균주는 동일한 PFGE양상을 나타내는 cluster와 상이한 PFGE양상을 보이는 균주 중 동일한 RFLP형을 나타내는 균주가 혼합되어 있어, CDC 균주와 달리 단일 균주에 의한 VRE전파와 내성유전자의 수평전달에 의한 전파가 혼재되어 있다고 추정하였다. CDC와 아주대학병원의 VRE 균주들 간에는 의미 있는 유전적 관련성이나, 동일한 양상의 내성유전자구조가 발견되지 않았다. Conjugation study결과는 아주대학병원 균주의 전이 계수가 4.9×10^{-5} transconjugant/donor로 CDC의 2.0×10^{-8} transconjugant/donor보다 훨씬 높은 수치를 보였는데, 이런 높은 내성 유전자의 전이빈도로 인하여 아주대학병원 균주의 RFLP 형이 2군으로만 나타난 것으로 사료된다.

Long PCR 음성인 3균주들은 증폭산물이 얻어진 균주들과 비교하여 전부 ORF1 시발체 부위(ORF1 11)가 증폭되지 않았고, 이 부분은 long PCR에서 사용된 forward primer의 위치와 일치해 내성 유전자가 증폭되지 않은 이유로 생각되었다. ORF1의 좌측 말단 부위(ORF1 10)는 정도관리 균주를 제외하면 아주대학병원과 CDC 균주에서 전부 증폭이 되지 않았고, 일부 균주(C3, C8, C13, AJ22, AJ48)에서는 *vanS-vanH* 부분이 1.4 kb 정도 더 크게 증폭되었는데 Handwerger 등[18]에 의해 발표된 IS1251이 삽입되었을 것으로 추정되었다. PCR mapping결과 내성 유전자가 증폭되지 않았던 3개의 균주는 증폭된 균주들과는 다른

양상을 나타내어 내성유전자 구조가 상이함을 알 수 있었다.

국내의 vancomycin 내성 유전자의 전파 양상을 연구한 결과들은 주로 단일 균주에 의한 원내 전파에 대한 보고가 많으나 [22-24], 이 등[21]은 PFGE상 유전적 관련성이 없는 균주 간의 내성유전자 수평전이를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 두 종류의 전파 경로가 혼합된 양상을 보여 국내의 VRE 전파경향이 미국의 경우와 같이 단일 균주에 의한 유행에서 다양한 균주들이 수평이동에 의해 동일한 내성유전자를 획득하는 양상으로 변화하는 가능성을 시사한다. 하지만 본 연구의 경우 1개 대학병원에서 분리된 VRE만을 대상으로 하였기 때문에 향후 국내 전지역에서 수집된 균주들을 대상으로 한 연구가 필요하다고 사료되며, 대륙간 전파가능성도 미국 일개 지역으로부터 분리된 균주들을 대상으로 하였기 때문에 미국 전지역을 대상으로 한 연구 역시 병행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

배경 : Vancomycin 내성 장구균(VRE)는 병원감염의 주요 원인균으로 전세계적으로 분리빈도가 증가하고 있다. 저자들은 VanA VRE 균주들 간의 유전적 관련성과 함께 vanA 내성 유전자의 구조를 비교하여 병원내 및 대륙간 전파양상을 규명하고 내성 유전자의 전이력을 평가하고자 하였다.

방법 : 미국 Centers for Disease Control and Prevention (CDC)에서 수집된 VanA형 VRE 20균주와 아주대학병원에서 분리된 VanA형 VRE 17균주를 대상으로 하여 한천희석법으로 vancomycin, teicoplanin, ampicillin에 대한 MIC를 측정하였고, multiplex PCR을 이용해 vancomycin 내성 유전자형을 확인하였다. PFGE와 long PCR-RFLP를 시행하여 균주들 간의 유전적 연관성과 내성 유전자의 구조를 분석하고, long PCR 음성인 균주의 유전자 분석을 위해 ORF1, vanS-vanH, vanX, vanY-vanZ, vanZ, IS1216에 대한 PCR을 시행하여 내성 유전자의 구조를 분석하였다. Vancomycin 내성 유전자의 전이력을 평가하기 위해 PFGE와 long PCR-RFLP의 양상이 다른 균주들을 공여 균주로, rifampin-resistant, fusidic acid-resistant *E. faecalis* JH2-2를 수여 균주로 하여 filter mating법으로 전이 계수를 구하였다.

결과 : PFGE 결과에서 CDC 균주는 4개의 cluster를 포함한 15개형으로 나타났고, 아주대학병원 균주는 3개의 cluster를 포함한 6개형으로 나타났다. Long PCR은 CDC 균주 중 18균주(90%), 아주대학병원 균주 중 16균주(94%)에서 증폭되었고, RFLP 결과 CDC 균주는 5개군으로 아주대학병원 균주는 2개군으로 분류되었다. CDC 균주와 아주대학병원 균주의 평균 전이 계수는 각각 3.0×10^{-8} 와 4.9×10^{-5} transconjugant/donor였다.

결론 : CDC의 VRE 균주는 주로 내성 유전자의 수평이동에 의해 전파되었고, 아주대학병원 균주는 단일 균주에 의한 VRE

전파와 내성 유전자의 수평전달에 의한 전파가 혼재되어 있다고 추정되었다.

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. Hayden MK. Insights into the epidemiology and control of infection with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1058-65.
4. 박지원, 김양리, 신완식, 강문원, 한경자, 심상인. Vancomycin 내성 enterococci에 대한 감수성 검사. *감염* 1992; 24: 133-7.
5. 이수현 및 배적현. 반코마이신 내성 장구균 장내군집의 임상적 및 역학적 특성. *대한임상병리학회지* 1996; 17: 743-56.
6. 백경란, 김성민, 이남용, 송재훈. Vancomycin 내성 장구균의 소화관 집락 양상. *감염* 1996; 28: 245-51.
7. Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm DF, Courvalin P. Van E, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM 4405. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2161-4.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighth informational supplement; National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1998.
9. Dahl KH, Simonsen GS, Olsvik O, Sundsfjord A. Heterogeneity in the vanB gene cluster of genomically diverse clinical strains of vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1105-10.
10. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 24-7.
11. 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.
12. Haaheim H, Dahl KH, Simonsen GS, Olsvik O, Sundsfjord A. Long PCRs of transposons in the structural analysis of genes encoding acquired glycopeptide resistance in enterococci. *Biotechniques* 1998; 24: 432-7.
13. 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.
14. Simonsen GS, Myhre MR, Dahl KH, Olsvik O, Sundsfjord A. Typeability 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.
15. 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.
 16. Clark NC, Olsvik O, Swenson JM, Spiegel CA, Tenover FC. *Detection of a Streptomycin/Spectinomycin adenyltransferase gene (addA) in Enterococcus faecalis Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 157-60.
 17. Friden TR, Munsiff SS, Low DE, Willey BM, Williams G, Faur Y, et al. *Emergence of vancomycin-resistant enterococci in New York City. Lancet* 1993; 342: 76-9.
 18. Bates J, Jordens Z, Selkon JB. *Evidence for an animal origin of vancomycin-resistant enterococci. Lancet* 1993; 342: 490-1.
 19. Handwerker S, Skoble J, Discotto LF, Pucci MJ. *Heterogeneity of the vanA gene cluster in clinical isolates of enterococci from the northeastern United States. Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 362-8.
 20. Mato R, de Lencastre H, Roberts RB, Tomasz A. *Multiplicity of genetic backgrounds among vancomycin-resistant Enterococcus faecium isolates recovered from an outbreak in a New York City Hospital. Microb Drug Resist* 1996; 2: 309-17.
 21. Lee WG, Jernigan JA, Rasheed JK, Anderson GJ, Tenover FC. *Possible horizontal transfer of the vanB2 gene among genetically diverse strains of vancomycin-resistant Enterococcus faecium in a Korean Hospital. J Clin Microbiol* 2001; 39: 1165-8
 22. 정희진, 김우주, 우홍정, 김민자, 박승철. *vanA형 vancomycin 내성 enterococci 감염에 관한 연구. 감염* 1998; 30: 10-8.
 23. 홍원표, 김 민, 송정원, 김수현, 신종희, 서순팔 등. *Vancomycin 내성 Enterococcus faecium에 대한 Plasmid DNA 및 Random Amplified Polymorphic DNA 분석. 대한임상병리학회지* 1998; 18: 379-85.
 24. 김수정, 이남용, 송재훈, 김성민, 백경란, 최명식 등. *국내에서 분리된 vancomycin 내성 장구균에 대한 분자역학적 연구. 감염* 1998; 30: 1-9.