

황색포도구균과 대장균의 기준형별 결정에 있어서 Infrequent Restriction Site Polymerase Chain Reaction과 Pulsed-Field Gel Electrophoresis의 변별력 비교

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실, 미생물학교실*, 소아과학교실**

신완식 · 김태규* · 최정현 · 이동건 · 최희백* · 유진홍
김종현** · 강진한** · 민우성

=Abstract=

Comparison of Infrequent Restriction Site-Polymerase Chain Reaction and Pulsed-Field Gel Electrophoresis for Molecular Typing of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Wan-Shik Shin, Tai-Gye Kim*, Jung-Hyun Choi, Dong-Gun Lee, Hee-Baeg Choi*,
Jin-Hong Yoo, Jong-Hyun Kim**, Jin-Han Kang** and Woo-Sung Min

Department of Internal Medicine, Department of Microbiology*, Department of Pediatrics**,
College of Medicine, Catholic University of Korea, Seoul, Korea*

Background: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) are major pathogens in community and hospital. And they sometimes cause the outbreak in hospital in the immunocompromised patients. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) has been regarded as a standard method for genotyping in epidemiologic studies, but it is laborious and time-consuming. Infrequent restriction site-polymerase chain reaction (IRS-PCR), a new genotyping methods, was performed to compare the applicability with PFGE.

Methods: We performed PFGE and IRS-PCR on *S. aureus* (n=120) and *E. coli* (n=117) which were collected clinically in 4 different hospitals. We assessed each method in terms of discriminatory power, quality, and efficiency.

Results: In *E. coli*, the discriminatory power of IRS-PCR was 46.7~86.7%, and that of PFGE was 88.9~96.7% according to hospital. But in *S. aureus*, the discriminatory power of IRS-PCR was 20~56.7%, and that of PFGE was 40~90% according to hospital. The typability and reproducibility of IRS-PCR were 100% of each. PFGE needed four days to complete the procedure, but IRS-PCR could be performed within one day, IRS-PCR showed better resolution than PFGE.

Conclusion: In case of gram negative bacteria (like *E. coli*), IRS-PCR could be a reliable alternative for epidemiologic typing due to better efficiency and comparable discriminatory power. But in the case of gram positive bacteria (like *S. aureus*), IRS-PCR does not seem to be suitable for the strain-to-strain differentiation. More trials and changes of restriction enzymes or primers could reveal the efficacy of

접수: 2000년 8월 23일, 게재결정: 2000년 12월 1일

Reprint request to: 신완식, 서울시 영등포구 여의도동 62번지, 150-010, 가톨릭대학교 의과대학 성모병원 내과학교실
전화: 02-3779-1151, Fax: 02-780-3132, E-mail: tobra@unitel.co.kr

*이 논문은 1998년 한국학술진흥재단의 학술연구비에 의하여 지원되었음

IRS-PCR in the field of molecular typing.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Pulsed-field gel electrophoresis, Infrequent restriction site-polymerase chain reaction

서 론

황색포도구균 (*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*)과 대장균 (*Escherichia coli*; *E. coli*)은 병원감염의 주요 균주로 균혈증을 비롯한 다양한 임상증상을 흔히 유발하는 것으로 알려져 있다^{11,17}.

황색포도구균은 병원성 균혈증, 중심정맥관 감염, 인공기관 감염 등의 주요 원인균으로 의료기구나 의료진의 손을 통한 환자간 전파로 중환자실과 같은 특수 병동에서 폭발적 발생이 가능할 뿐 아니라 근래 들어서는 methicillin 내성 포도구균 (methicillin resistant *S. aureus*)의 증가로 인해 항생제 선택의 폭이 좁아지고 값비싼 항생제를 사용해야 하는 경제적 부담이 큰 문제로 대두되고 있다^{2-4,12}.

대장균은 균혈증, 요로감염, 소화기감염 등 다양한 임상증상을 유발하며 병원내 감염균의 우위를 달리고 있다. 대장균에 의한 감염은 다양한 항균제의 개발로 치료가 비교적 용이하여 경구 quinolone계 항생제 사용으로도 치료가 가능하다. 그러나 최근 quinolone계 항생제 사용이 늘어나면서 병원에서 분리되는 대장균의 quinolone 내성이 증가하고 있다. Quinolone계 항생제는 면역기능이 저하된 호중구 감소증 환자에서 감염의 발생을 예방하기 위해 예방적으로 투여하고 있으며 이러한 사용에 의해 내성이 증가하는 것으로 생각된다^{5,7,9,19}.

가톨릭대학교 의과대학 성모병원 조혈모세포 이식 센터에서는 다양한 혈액 및 암 질환 환자를 대상으로 조혈모세포 이식 및 항암치료를 시행하고 있으며 본 기관에서도 역시 황색포도구균과 대장균이 주 감염균으로 분석되고 있다^{7,9}.

저자들은 가톨릭대학교 의과대학 산하 4개 병원에서 분리된 황색포도구균과 대장균을 대상으로 가장 최근에 개발된 infrequent restriction site polymerase chain reaction (IRS-PCR)법을 사용하여 유전자 수준의 상관도를 분자역학적인 면에서 분석하여 국내 역학 구도를 파악하고자 하였고, 현재로서는 형질분석법의 기준이라 할 수 있는 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 방법을 이용한 형질분석법과 분별력 및 효용성을 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1998년 1월부터 1999년 1월까지 가톨릭대학교 의과 대학 부속 A 병원 (서울 소재), B 병원 (경기도 수원 소재), C 병원 (경기도 부천 소재), D 병원 (인천 소재)에서 환자로부터 분리된 황색포도구균 120균주 (각 병원 30균주)와 대장균 117균주 (A병원 27균주, 기타 각 병원 30균주)를 대상으로 하였다.

2. IRS-PCR

1996년 Mazurek 등이 발표한 방법을 일부 수정하여 사용하였다^{11,13,18}.

분리된 균주의 chromosomal DNA는 QIAamp tissue kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 추출하였다. Adaptor는 *HhaI* adaptor인 AH와 *XbaI* adaptor인 AX를 사용하였다. AH는 22개의 염기인 AH1 (5'-AGA ACT GAC CTC GAC TCG CAC G-3')과 7개의 염기로 된 AH2 (5' TGC GAG T-3')가 anneal 되었고 5'의 끝에는 CG-3'의 모서리를 갖게 하였다 (Fig. 1A). 각각을 10 µL씩 같은 molar 농도로 혼합하여 1시간 동안 80°C에서 4°C로 냉각시켜 만든 후 -20°C에 보관하였다.

AX는 18개의 염기로 된 AX1 (5'-PO₄ CTA-GTA CTG GCA GAC TCT-3')과 7개의 염기로 된 AX2 (5'-GCC AGT A-3')로 되어 있고 annealed되어 5'의 끝에 5'-CTAG의 모서리를 갖게 하였다 (Fig. 1B). AX1을 T4 polynucleotide kinase (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany)를 이용하여 인산화한 후 인산화된 AX1과 AX2를 동량으로 섞어서 최종농도가 각각 10 pmol/

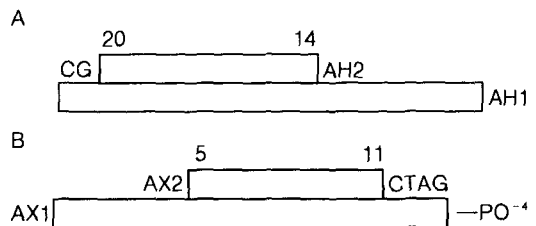


Figure 1. Schematic presentation of adaptors used in IRS-PCR *HhaI* adaptor (A). *XbaI* adaptor (B).

μL가 되도록 혼합한 후 1시간 동안 80°C에서 4°C까지 냉각시켜 -20°C에 보관하였다.

Primer로는 AH1과 PX를 사용하였다. PX는 19개의 염기 (5'-AGA GTC TGC CAG TAC TAG A-3')로 AX와 상보적인 염기서열을 갖도록 하였다. 추출된 DNA 5 μL에 *Hha*I (Boehringer Mannheim) 10 U와 *Xba*I (Boehringer Mannheim) 12 U를 첨가한 후 37°C에서

1시간 동안 처리하였다. 잘라진 DNA 5 μL, AH 20 pmol, AX 20 pmol, DNA 회석 buffer (5 ×) 2 μL를 혼합하여 rapid DNA ligation kit (Boehringer Mannheim)을 이용하여 ligation하였다. 이 과정을 Fig. 2에 도식화하였다.

혼합물 template DNA 2 μL, 10 × PCR buffer 10 μL, dNTP mixture (2.5 mM each) 2 μL, PX primer 50 pmol,

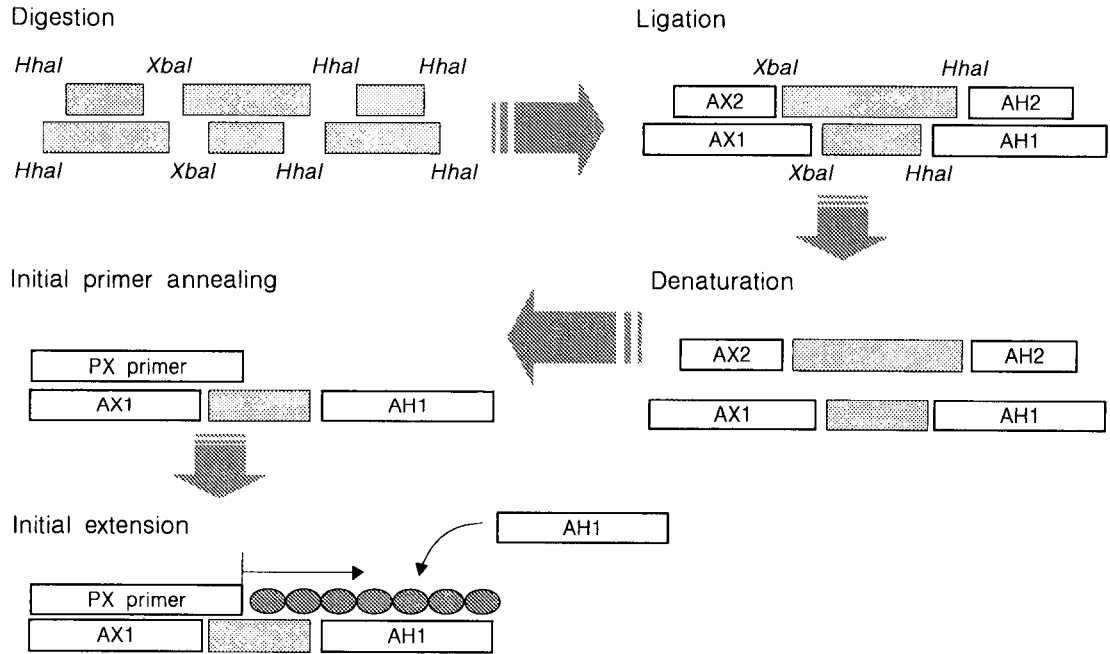


Figure 2. Schematic presentation of process of IRS-PCR.

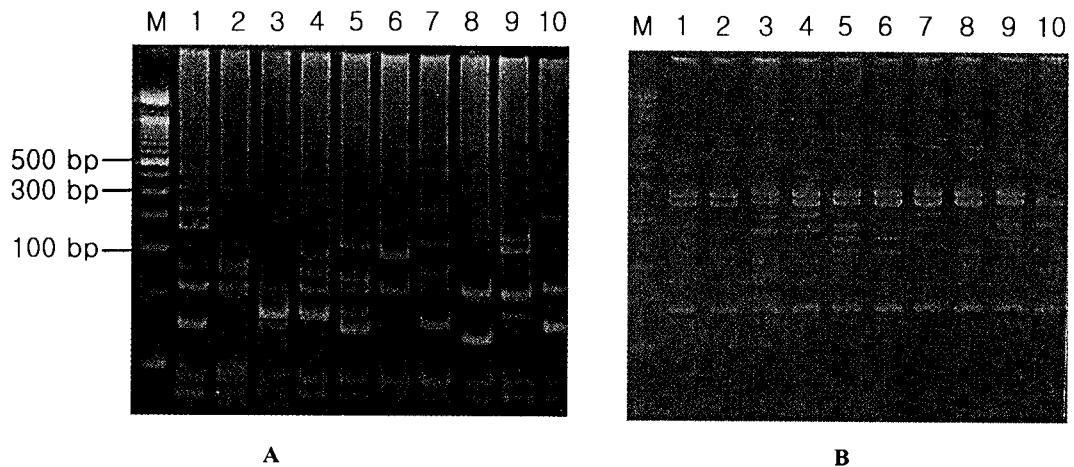


Figure 3. Representative products of IRS-PCR. *E. coli* isolated from hospital C (A). *S. aureus* isolated from hospital A (B). Lane M, DNA marker; lane 1-10, clinically isolated strains.

AHI primer 50 pmol, Taq DNA polymerase diluent 5 μ L를 섞어 PCR cyclor 2400 (Perkin-Elmer, Branchburg, NJ)를 이용하여 증합효소 연쇄반응을 이용하여 증폭하였다. 초기 denaturation 단계는 5분간 95 $^{\circ}$ C에서 시행하였고, denaturation 94 $^{\circ}$ C에서 1분, annealing 60 $^{\circ}$ C 1분, extension 72 $^{\circ}$ C에서 90초로 30회 시행 후 마지막 extension은 72 $^{\circ}$ C 5분으로 하였다. PCR product를 0.5 \times TBE (Tris-borate-EDTA) buffer, 100 volt에서 3시간 동안 polyacrylamide gel (6.5% T [total monomer concentration], 2.7% C [cross-linker concentration])에서 전기영동하여 ethidium bromide로 염색하고 UV광 조영으로 사진을 얻었다 (Fig. 3).

3. PFGE

1) DNA 분리

DNA 분리는 Schwartz 법을 변형하여 사용하였다¹⁴⁾. 5 mL의 Muller-Hinton 배지와 brain heart infusion 배지에 각각 *E. coli*와 *S. aureus*를 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 120 rpm으로 16시간 동안 배양하였다.

1 mL의 균액을 4,000 \times g, 3분간 원심분리한 후 침전된 균체를 1 mL의 TEEN (10 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, 10 mM EGTA, 1 M NaCl [pH 7.6])으로 2회 세척하였다. 균체를 1 mL의 TEEN에 다시 풀어서 이중 0.1 mL의 균액을 1.5 mL의 새 원심시험관으로 옮겼다. 이 균액을 low melting point agarose인 1% InCert agarose (FMC Corp. USA)와 혼합하여 mold (0.2 \times 0.6 \times 1.6 cm)에 주입하고 4 $^{\circ}$ C에서 20분간 굳혀 plug을 만들었다.

*E. coli*의 경우 agarose plug을 1 mg/mL의 lysozyme (Boehringer Mannheim)이 들어 있는 lysis 용액 (6 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA, 1 M NaCl, 0.5% Brij58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% lauroyl sarcosin [pH 7.6]) 1 mL에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 18시간 동안 방치하였다.

*S. aureus*의 경우 plug을 1 mg/mL의 lysozyme과 10 units/mL lysostaphin (Sigma, USA)이 들어 있는 lysis 용액 1 mL에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 18시간 동안 방치하였다. Plug을 proteolysis 용액 (0.25 M EDTA, 20 mM EGTA [pH 9.0])으로 1회 세척 후 500 μ g/mL의 proteinase K (Boehringer Mannheim)가 들어 있는 proteolysis 용액 1 mL에 넣고 50 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 70 rpm으로 교반하였다. TE 완충액 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA [pH 8.0])으로 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 세척하고 다시 TE 완충액으로 4시간씩 2회 세척하였다. Agarose plug은 사용 전까지 TE 완충액에 넣어 4 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

2) 제한효소 처리

0.2 \times 0.6 \times 0.4 cm의 agarose plug을 1 \times restriction endonuclease buffer 100 μ L에 넣어 4 $^{\circ}$ C에 30분간 방치하였다.

제한효소는 *E. coli*는 10 U의 *Xba*I (Boehringer Mannheim), *S. aureus*는 *Sma*I (Boehringer Mannheim)을 사용하였고 37 $^{\circ}$ C에서 6시간 방치하여 처리하였다.

3) PFGE^{1,14)}

제한효소 처리한 agarose plug을 75 $^{\circ}$ C에서 1분간 가열하여 녹인 후 1% Seakem gold agarose로 굳힌 후 HE-100 Super Sub Horizontal Unit와 Switch Back Pulse Controller (Hoefer Scientific Instrument, San Francisco,

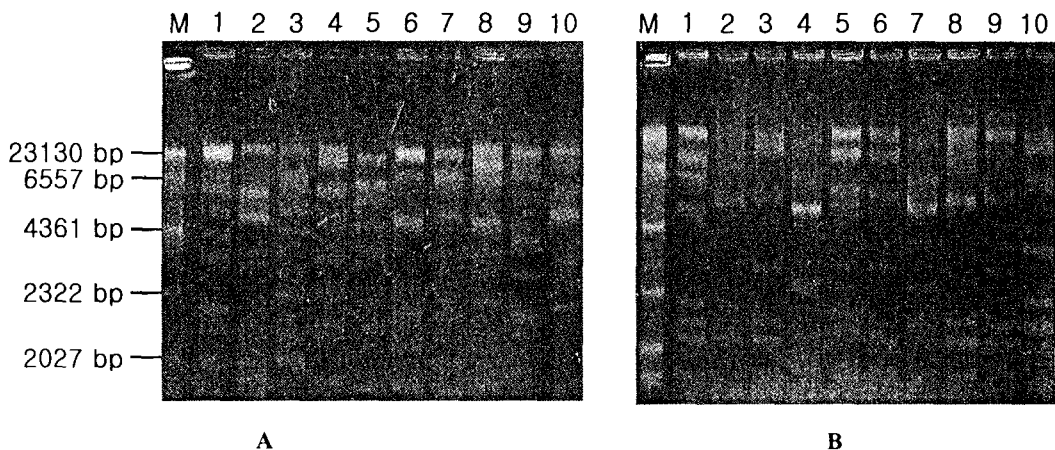


Figure 4. Representative products of PFGE. *E. coli* isolated from hospital C (A). *S. aureus* isolated from hospital A (B). Lane M, DNA marker; lane 1-10, clinically isolated strains.

USA)를 이용하여 140 V (5.5 V/cm)에서 1초에서 25초까지의 pulse time과 3:1의 forward/reverse ratio로 20시간 동안 전기영동하였다. DNA size marker는 λ DNA Concatemer (Boehringer Mannheim, 48.5-970 kb)를 사용하였다

전기영동이 끝난 후에는 0.5 μ g/mL 농도의 ethidium bromide로 염색하고 1시간 동안 물로 세척한 후 UV transilluminator로 확인하였다 (Fig. 4).

4. 군집분석

DNA 절편 양상에 따른 분자형별의 판정은 Tenover 등¹⁹⁾이 제시한 분석기준을 이용하였으며, SPSS (7.0)의 군집분석 (cluster analysis) 프로그램 (squared Euclidian distance 측정)을 이용하여 dendrogram을 작성하였다. Dendrogram에서 90% 이상의 동질성을 가지는 균주를 같은 균주로 간주하였다.

결 과

1. 병원별 *E. coli*의 군집분석

병원별 *E. coli*에 대한 IRS-PCR의 변별력 (discriminatory power)은 다음과 같다. A 병원에서 분리된 *E. coli* 27개 균주로부터 22가지 형별 구별이 가능하여 81.5%의 변별력을 보였다. 이와 같은 방법으로 B 병원의 경우 86.7%, C 병원의 경우 46.7%, D 병원의 경우 66.7%의 변별력을 확인할 수 있었다. Typability와 reproducibility는 모두 100%였다.

A 병원의 경우 25와 26이 같은 균주이고, 10과 11이 같은 균주로 3균주 이상이 같은 형별로 분류되는 경우가 없어 특정 균주를 대표성을 가진 균주로 파악할 수 없었다. 그러나 B 병원의 경우 21, 23, 12, 15, 18이 같은 형별로 분류되었고 (B 병원 *E. coli* type 1), 17, 24, 7, 14가 또 다른 같은 형별로 분류되었다 (B 병원 *E. coli* type 2). C 병원의 경우 24, 26, 13, 21, 22, 15가 같은 형별의 균주 (C 병원 *E. coli* type 1)이고, 16, 23, 2가 또 다른 같은 형별의 균주 (C 병원 *E. coli* type 2)로 분류할 수 있었다. D 병원의 경우는 A 병원과 마찬가지로 대표 균주를 선정할 수 없었다 (Fig. 5A).

반면, 병원별 *E. coli*에 대한 PFGE 수행하여 측정된 변별력은 다음과 같다. A 병원에서 분리된 *E. coli* 27개 균주로부터 24가지 형별 구별이 가능하여 88.9%의 변별력을 보였다. 이와 같은 방법으로 C 병원의 경우 90%, B와 D 병원의 경우 96.7%의 변별력을 확인할 수 있었다. Typability와 reproducibility는 모두 100%였다.

E. coli PFGE의 경우 4개 해당 병원에서 분리된 균주는 병원별 대표 균주 없이 모두 각각의 균주로 분류되어 IRS-PCR과는 다른 결과를 나타내었다 (Fig. 5B).

2. 병원별 *S. aureus*의 군집분석

병원별 *S. aureus*에 대한 IRS-PCR의 변별력은 다음과 같다. A 병원에서 분리된 *S. aureus* 30개 균주로부터 12가지 형별 구별이 가능하여 40%의 변별력을 보였고, 이와 같은 방법으로 B 병원의 경우 20%, C 병원의 경우 26.7%, D 병원의 경우 56.7%의 변별력을 확인할 수 있었다. Typability와 reproducibility는 모두 100%였다.

A 병원의 경우 26-11의 15개 균주가 같은 형별 (A 병원 *S. aureus* type 1)로 분류되어 대표 균주로 선정할 수 있었다. *S. aureus*는 *E. coli*와 달리 병원마다 2-3개의 균주가 대표성을 가지는 것으로 관찰되었다 (Fig. 6A).

반면, 병원별 *S. aureus*에 대한 PFGE를 수행하여 측정된 변별력은 다음과 같다. A 병원에서 분리된 *S. aureus* 30개 균주로부터 27가지 형별 구별이 가능하여 90%의 변별력을 보였다. 이와 같은 방법으로 B 병원의 경우 40%, C 병원의 경우 83.3%, D 병원의 경우 73.4%의 변별력을 확인할 수 있었다. Typability와 reproducibility는 모두 100%였다.

S. aureus 역시 A, B, C 병원의 경우 *E. coli*와 마찬가지로 모두 각각의 독립된 균주로 분별 가능하였고, 다만, D 병원의 경우 29-3의 16균주가 동일한 균주로 분류되었다 (Fig. 6B).

고 찰

*E. coli*와 *S. aureus*는 지역사회 및 원내감염의 가장 문제가 되는 균주로 패혈증, 카테터 관련 감염의 가장 흔한 원인이다. 서두에 밝힌 바와 같이 최근 급속한 내성 획득이 문제가 되며, 중환자실, 화상병동, 그리고 혈액 중앙 병동 등 특수 병동에서는 발생빈도와 내성률이 급증하고 있고 의료진이나 의료기구를 통한 전파가 가능하여 언제든지 발생폭발 (outbreak)이 가능하다^{2,11,12,17)}. 그러므로 본 연구에서는 가톨릭대학교 의과대학 산하 4개 부속병원에서 분리된 *E. coli*와 *S. aureus*를 대상으로 역학을 규명하여 대표 균주 여부를 파악하고 이에 따른 병원내 폭발 가능성 및 병원간 연관성을 파악하는 것을 주된 목표로 하였다.

또한, 본 연구에서는 최근에 개발되어 의학분야에서 응용되고 있는 분자생물학적 기법중 IRS-PCR의 병

신완식 등: IRS-PCR and PFGE for Molecular Typing of *S. aureus* and *E. coli*

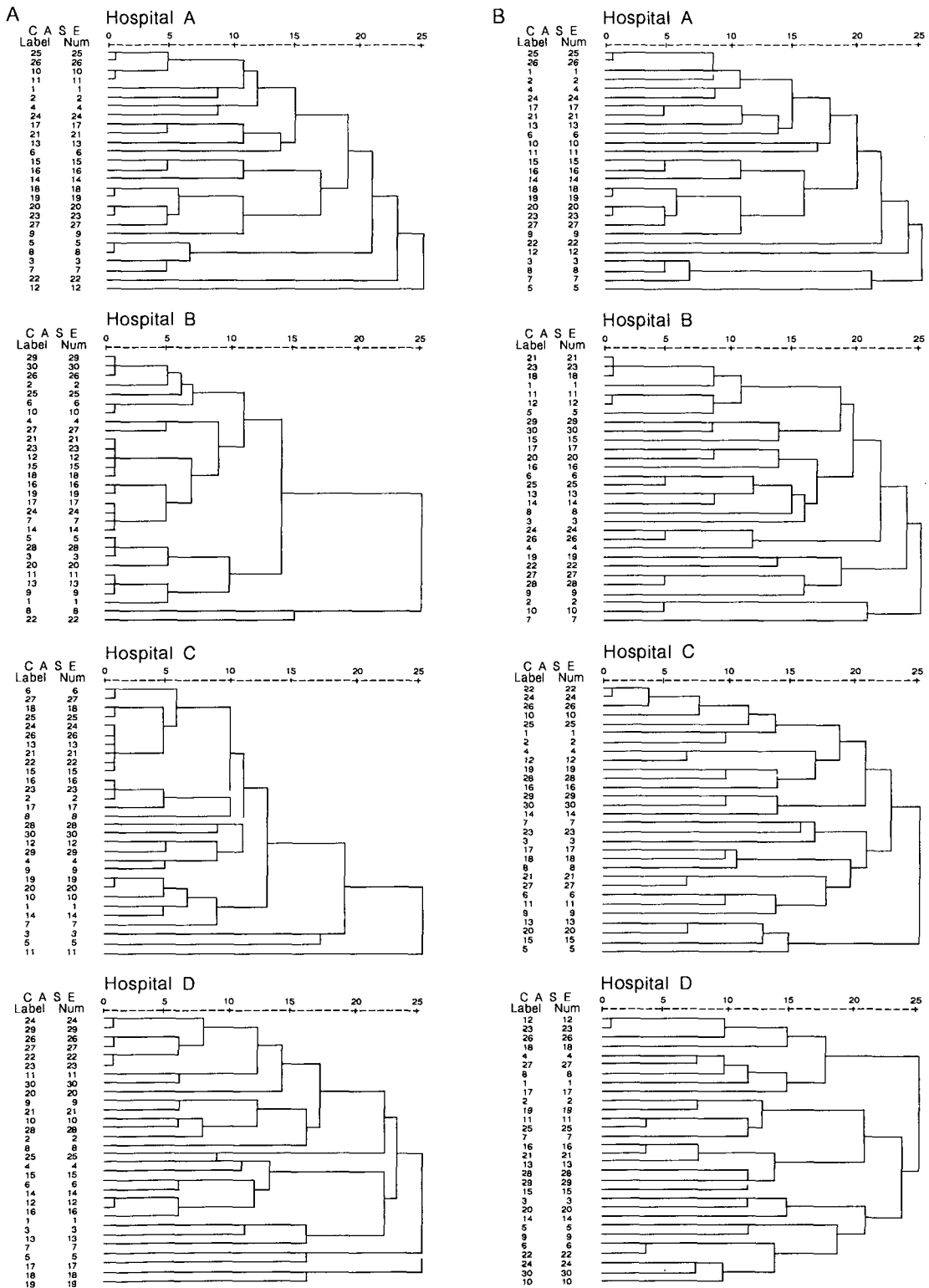


Figure 5. Dendrogram of *E. coli* produced by IRS-PCR and PFGE. Left column, results of IRS-PCR (A). Right column, results of PFGE (B).

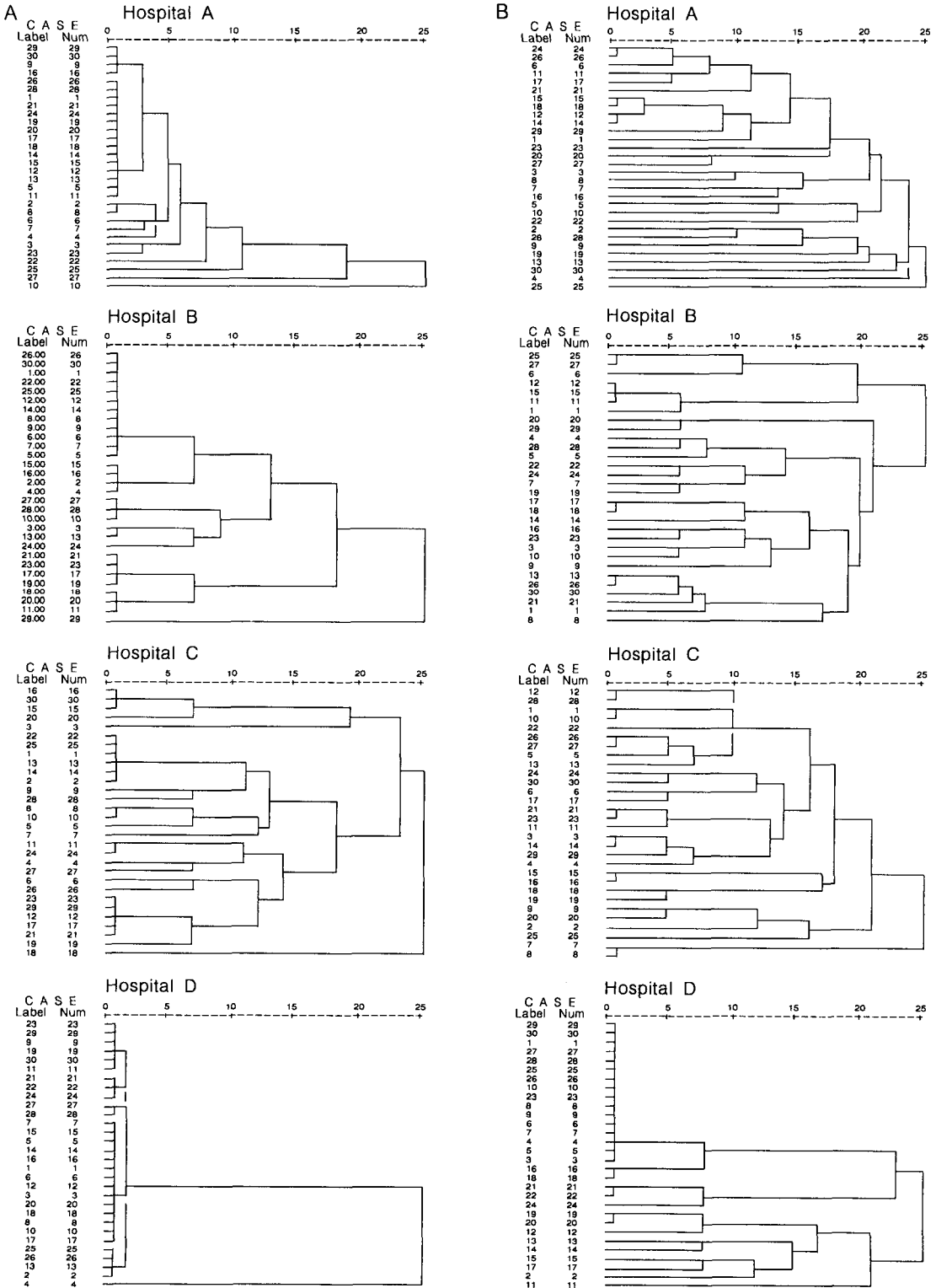


Figure 6. Dendrogram of *S. aureus* produced by IRS-PCR and PFGE. Left column, results of IRS-PCR (A). Right column, results of PFGE (B).

Table 1. The comparison of discriminatory power between IRS-PCR and PFGE

Organism	Hospital	Discriminatory power (%)		P value
		IRS-PCR	PFGE	
<i>E. coli</i>	Hospital A	81.5	88.9	0.22
	Hospital B	46.7	90	<0.05
	Hospital C	66.7	96.7	<0.05
	Hospital D	86.7	96.7	0.08
<i>S. aureus</i>	Hospital A	40	90	<0.05
	Hospital B	26.7	83.3	<0.05
	Hospital C	56.7	73.3	0.09
	Hospital D	20	40	<0.05

원균 형별분석에의 적용 가능성도 같이 평가하고자 하였다. 병원균의 감별을 위해서는 항생제 감수성 양상, phage 형별, 혈청형별 및 bacteriocin 형별 등의 표현형별 방법이 이용되어 왔다. 이에 반하여 PFGE는 현재까지 변별력 및 재현도 면에서 다른 형별분류 방법인 ribotyping이나 random amplification of polymorphic DNA 보다 우월하지만 이 방법을 수행하기 위해서는 고가의 장비를 따로 구입해야 하고 능숙할 때까지 많은 시간이 필요하며 한 과정의 완료에 시일이 오래 걸리는 단점 등이 문제이다. 최근 하루내외로 완료하는 고속 PFGE 방법에 대한 보고가 있지만 아직 정립되어 있지 않다^{6,8,10,16}.

IRS-PCR은 PCR을 이용한 DNA typing중 가장 최근에 시도되기 시작한 것으로 기존의 PCR 형별법과 달리 infrequent 및 frequent cutter 두 가지의 제한효소를 함께 사용하며, 각 효소에 해당하는 adaptor와 linker를 primer와 함께 사용하여 필요한 부분만을 선택적으로 증폭할 수 있는 것이 특징이다. Adaptor는 *HhaI*-adaptor (AH)와 *XbaI*-adaptor (AX)가 있고 각각은 AH1, AH2, AX1, AX2로 구성되어 있다. Primer PX는 AX1에 상보적으로 3' 말단의 하나의 염기에 붙어 PX-G, PX-C, PX-T, PX-A를 만들게 되고 이는 primer 결합 확률을 1/4로 낮추게 된다. 그렇게 함으로써 primer가 특정부위만을 증폭하여 짧은 시간내에 필요한 부위만을 선택적으로 증폭할 수 있다^{1,13,18}.

본 연구결과 *E. coli* IRS-PCR의 경우 병원별로 46.7~86.7%, *S. aureus* IRS-PCR의 경우 20~56.7%의 변별력을 보여 그람음성균에서 그람양성균에 비해 상대적으로 변별력이 뛰어난을 확인할 수 있었다. IRS-

PCR이 그람양성균에서 변별력이 떨어지는 이유는 아마도 그람음성균에서 infrequent cutter로 작용했던 *XbaI*이 그람양성균에서는 그렇지 못했을 가능성이 높을 것으로 생각된다. 따라서 그람양성균에서 IRS-PCR을 시행하고자 하는 경우에는 다른 infrequent cutter, 즉 *SmaI* 등을 이용한 새로운 효소 조합을 시도함으로써 변별력을 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다.

균주의 역학적 측면에서 *E. coli*는 A 병원과 B 병원의 경우처럼 대표 균주를 선정할 수 없었던 경우와 C 병원이나 D 병원처럼 특정 균주가 대표성을 가지는 경우로 구별되어 대부분은 환자 자신이 장내 보유하고 있는 균주가 병원균으로 작용하지만 각 해당 병원별로 대표 균주가 상주할 가능성도 배제할 수 없음을 시사하였다. 이러한 대표성은 아마도 해당 기관의 주요 환자군, 예방적 항생제 요법, 지역사회로부터의 유입 등 다양한 인자가 영향을 미칠 것으로 생각되며 이에 대해서는 추후 공통된 protocol에 따른 대단위 연구가 이어져야 할 것으로 생각된다.

반면 *S. aureus*는 4개 해당 기관 모두 2-3개의 대표성을 가진 균주가 있는 것으로 보이지만 IRS-PCR의 그람양성균에 대한 취약점을 생각한다면 이를 그대로 받아들이기는 어렵다. 실제로 *S. aureus*에 대한 PFGE의 결과는 40~90%의 변별력을 보이며 D 병원을 제외하고 나머지 병원에서는 특정한 대표 균주를 선정할 수 없었던 점으로 미루어 방법상의 차이를 신중히 고려해야 할 것으로 생각된다.

본 연구결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

역학적 분석을 목적으로 한 형별분석법 중 본 연구에서 사용한 IRS-PCR은 *E. coli*와 같은 그람음성균에서는 *S. aureus*와 같은 그람양성균에 비해 상대적 변별력이 뛰어나기는 하지만 PFGE에는 변별력이 미치지 못하는 것으로 생각된다 (Table 1). 그러나 병원별 차이가 심하여 이러한 차이에 대한 분석과 추후 제한효소 조합 변경 등 새로운 시도가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구의 대상이 되었던 *E. coli*와 *S. aureus*는 해당 기관별로 서로 다른 양상을 보였으며 IRS-PCR과 PFGE의 결과를 함께 생각한다면 특정한 대표성을 가진 균주를 선정하기는 어렵지만 일부 자료에서 대표성이 확인된 경우도 있는 만큼 병원내 수평적 전파의 가능성을 완전히 배제할 수는 없었다.

이 후 *E. coli*와 *S. aureus* 이외의 다른 병원성 균주 (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* 등)에 대한 역학적 분석과 항생제 내성 양상에

따른 차이를 규명하는데 있어 IRS-PCR의 효용성 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 김상일, 유진홍, 조윤경, 이동건, 위성현, 최정현, 김양리, 신완식, 강문원: *Escherichia coli*와 *Staphylococcus aureus* 균주들에서 유전자 형별 분류 방법의 비교연구: Pulsed-field gel electrophoresis, amplified fragment length polymorphism, 및 infrequent restriction site-polymerase chain reaction 방법의 비교. *감염* 6: 474-480, 1999.
- 2) 김의석, 방지환, 김홍빈, 박상원, 오명돈, 김철호, 송영욱, 김의중, 최강원: 지역사회 및 병원내에서 발생한 황색포도구균 균열중에서 메티실린 내성률과 위험인자. *감염* 4: 325-331, 1999.
- 3) 김준명, 박은숙, 정재심, 김경미, 김정미, 오향순, 윤성원, 이상일, 이무송, 송재훈, 강문원, 최강원, 박승철, 배직현: 1996년도 국내병원 감염률 조사 연구. *병원감염관리* 2: 157-176, 1996.
- 4) 김홍빈, 신동현, 박경운, 오명돈, 김의중, 최강원: 지역사회 성인의 전비공에서 분리된 황색포도구균의 메티실린 내성률. *감염* 30: 527-531, 1998.
- 5) 박윤희, 유진홍, 허동호, 조윤경, 최정현, 신완식: Molecular analysis of fluoroquinolone resistance in *E. coli* on the aspect of gyrase and multiple antibiotic resistance (*mar*) genes. *Yonsei Medical Journal* 39: 534-540, 1998.
- 6) 신완식: 분자역학적 형별. *감염* 27: 585-594, 1995.
- 7) 신완식, 최정현, 유진홍, 김희재, 민창기, 엄현석, 조빈, 김동욱, 이종욱, 한치화, 한경자, 홍영선, 민우성, 최일봉, 한훈, 김학기, 김춘추, 김원일, 김동집: 골수이식후 감염의 분석. *대한조혈모세포이식학회지* 3: 87-98, 1998.
- 8) 유진홍: 병원감염관리에서 molecular epidemiologic typing의 활용. *병원감염관리* 2: 61-71, 1997.
- 9) 최정현, 김유정, 이동건, 신완식, 김선우, 배상수, 김세희, 유진홍, 김경미, 한경자, 이종욱, 민우성, 김춘추: 급성백혈병의 감염 양상. *감염* 31: 217-224, 1999.
- 10) Birren B, Lai E: Introduction to conventional and pulsed field gel electrophoresis, In: Birren B, Lai F.

Pulsed Field Gel Electrophoresis: A Practical Guideline, 1st ed, Academic Press Inc., California, 1993.

- 11) Finberg R, Fingerth J: Nosocomial infections, In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JE, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL: Principles of Internal Medicine. 14th ed, McGraw-Hill, New York, pp840-851, 1998.
- 12) Lowy FD: *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 339: 520-532, 1998.
- 13) Mazurek GH, Reddy V, Marston BJ, Haas WH, Crawford JT: DNA fingerprinting by infrequent-restriction-site amplification. *J Clin Microbiol* 34: 2386-2390, 1996.
- 14) Riffard SL, Presti F, Vandenesch F, Forey F, Reyrolle M, Etienne J: Comparative analysis of infrequent restriction-site PCR and pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. *J Clin Microbiol* 36: 161-167, 1998.
- 15) Schwartz DC, Cantor CR: Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell* 37: 67-75, 1984.
- 16) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 33: 2233-2239, 1995.
- 17) Tomasz A, De Lencastre H: Molecular microbiology and epidemiology: coexistence or alliance, In: Wenzel RP. Prevention and Control of Nosocomial Infections, 3rd ed, Williams & Wilkins, Maryland, pp307-332, 1997.
- 18) Yoo JH, Choi JH, Shin WS, Huh DH, Cho YK, Kim KM, Kim MY, Kang MW: Application of infrequent-restriction site PCR to clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Serratia marcescens*. *J Clin Microbiol* 37: 3108-3112, 1999.
- 19) Yoo JH, Huh DH, Choi JH, Shin WS, Kang MW, Kim CC, Kim DJ: Molecular epidemiologic analysis of quinolone resistant *E. coli* bacteremia from neutropenic patients with leukemia in Korea. *Clin Infect Dis* 25: 1385-1391, 1997.