

Patterns of Antimicrobial Resistance and Detection of *mecA* Gene from Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Healthcare Facilities and U.S. Military Hospital in Korea

Chin-Su Sin¹, Gyu-Sang Lee², Kwan-Hun Lim² and Jong-Bae Kim^{1,2†}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, Graduate School of Health and Environment,

²College of Health Science, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

A total of 108 strains of MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) clinical isolates was collected from 121st general hospital (U.S. military hospital), Korean healthcare facility from January to March in 2005 and Wonju Christian hospital in 1999. Antimicrobial susceptibility test by Vitek System and MIC test using oxacillin and cephalothin stripes by E-test were executed. PCR based detection of *mecA* gene was performed on the all of MRSA clinical isolates, too. MRSA clinical isolates were characterized with antimicrobial resistance patterns, PCR based detection of *mecA* gene and validation of the multiplex PCR strategy of SCC*mec* among clinical isolates.

Key Words: MRSA, VITEK, E-test, MIC, *mecA*, PCR, SCC*mec*

서 론

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)는 1961년 처음으로 영국에서 분리된 이래 현재는 전 세계에 널리 분포하고 있으며, 원내감염의 집단적 발생뿐만 아니라 지역사회 감염에서도 그 원인균으로 분리되는 빈도가 증가하여 문제가 되고 있다. 현재 임상에서 분리되는 황색 포도구균의 90% 이상은 penicillin에 내성 균주며 methicillin 내성 균주의 비율은 나날이 증가하고 있다 (Kim et al., 1997, Hanssen et al., 2004, Ko et al., 2005). 미국의 경우 병원 내에서 분리되는 전체 황색 포도구균 (*Staphylococcus aureus*) 중에서 methicillin 내성 균주가 차지하는 비율은 1975년 당시 2.4%에 불과하였으나 1999년에는 50% 이상으로 급격히 증가하였다 (Sakoulas et al., 2001; Matsumura et al., 2002; Coombs et al., 2004; Shukla et al., 2004). 국내 사정도 마찬가지로 1970년대에 5% 정도를 차지하던 MRSA 비율이 80년대부터 급격히 증가하였고 1996년 전국 병원감염률 조사연구에서 병원에서 분리되는 황색 포도구균 중 methicillin 내성 균주가 차지하는 비율은 83.7% 나타났다 (Lee et al., 1996; Chong et al., 1997;

Woo et al., 2000; Lee et al., 2001; Ko et al., 2005). 최근에는 지역사회에서 분리되는 MRSA 내성 비율도 점차 증가하고 있는 실정이다 (Coombs et al., 2004; Shukla et al., 2004; Lu et al., 2005).

MRSA 균주가 증가하면서 감염증 또한 심각한 문제로 대두되고 있다. 특히 병원내 감염에서 문제가 되는데 미국의 자료에 의하면 MRSA에 의한 병원내 감염이 25%에 달하는 것으로 보고되었다. 국내의 경우 1996년 실시된 병원감염률에 대한 연구에서 MRSA 균이 원인균의 14.4%를 차지하였으며 점차 증가하는 추세이다 (Lee et al., 1996, Lim et al., 1997, Sakoulas et al., 2001, Campbell et al., 2004, Ko et al., 2005). 한편 유럽각국의 MRSA의 비율은 스칸디나비아 지역은 1% 미만, 스페인, 프랑스, 이탈리아 등지에서는 30%로 지역과 국가에 따라 많은 차이가 있지만, 평균 12.8%의 높은 비율로 보고되어 있다 (Felten et al., 2002; Robinson et al., 2003; Hanssen et al., 2004, 2005; Nathalie van der Mee-Marquet et al., 2004).

우리나라의 경우 대부분의 대학병원과 종합병원에서 분리되는 MRSA는 병원내 감염 중 창상감염, 폐렴, 균혈증 등의 주요 원인균으로 작용하며, 전체 병원감염 원인균의 50% 내외를 차지한다. 현재 임상에서 분리되는 황색 포도구균의 90% 이상은 penicillin 내성 균주며 methicillin 내성 균주인 MRSA 균은 beta-lactams, aminoglycosides, macrolides와 같은 많은 항생제에 내성을 나타내며 소수의 항생제만이 치료에 유용하므로 임상분리 *Staphylococcus aureus* 중에서 methicillin

*논문 접수: 2005년 11월 3일

수정재접수: 2005년 11월 29일

†교신저자: 김종배, (우) 220-710 강원도 원주시 흥업면 매지리 234, 연세대학교 보건과학대학 임상병리학과

Tel: 033-760-2423, Fax: 033-760-2195

e-mail: kimjb@dragon.yonsei.ac.kr

내성여부의 신속한 검출과 동정이 필요하다. 그러나 methicillin 내성의 발현은 배지의 온도, 염 농도 같은 성장조건에 영향을 많이 받으므로 보통의 항생제 감수성 검사로는 판정이 부정확한 경우가 많아 문제점으로 지적되고 있다 (Hanssen et al., 2004; Ko et al., 2005).

MRSA 균의 beta-lactam제에 대한 내성기전은 beta-lactam 계열 항생제에 대한 친화성이 낮은 penicillin-binding protein 2' (PBP2')의 유도생성에 의한 것으로서 이 단백질을 code하고 있는 것이 *mecA* 유전자로 밝혀졌다 (Hanssen et al., 2004). 한편 *pbp-2a*의 발현을 조절하는 기능을 나타내는 조절유전자인 *mecI*과 *mecR* 유전자가 *mecA* 유전자의 상부에 존재하는 것이 밝혀졌으며 이들 조절유전자는 각각 *mecA* 발현 억제 단백을 합성하는 유전 정보를 지니고 있다. 한편 *mecR* 유전자는 세포내 신호전달에 관여하는 5' 말단 부위와 penicillin 결합에 관여하는 3' 말단 부위로 구성되어 있음이 밝혀졌다 (Coombs et al., 2004).

본 연구에서는 국내 대학병원과 국내에 주둔하고 있는 미8군 소속 121병원에서 분리된 MRSA를 대상으로 항균제 감수성 양상에 의한 표현형 및 내성 관련 유전자인 *mecA*에 대한 PCR 반응으로 유전형질을 비교 분석하였다. 이러한 연구를 통해 국내병원과 미국인 대상 병원에서 분리된 MRSA의 항생제 내성 유형과 분자생물학적인 특성을 분석 비교함으로써 유전형질의 분포와 다양성을 알아보고 1999년도 강원도 원주 기독교병원에서 분리되었던 MRSA 38주를 대상으로 연도별 항생제 내성 유형과 이에 따른 분자생물학적인 특성을 비교하여 포도상구균의 항생제 내성의 변화 형태를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 임상검체로부터 황색 포도상구균 (*S. aureus*)의 분리

2004년 1월부터 2004년 3월까지 서울에 주둔하고 있는 미 육군 병원 121st General Hospital과 국내의 서울과 부산지역 병원 진단의학과 (Korean Healthcare Facility)의 가검물에서 분리한 MRSA 임상분리 균주 각각 30주와 42주 (서울 17주, 부산 25주) 및 1999년 강원도 원주시에 소재한 원주 기독교병원에서 분리된 MRSA 38주를 사용하였다. 본 실험에 사용한 MRSA 균주가 분리된 가검물의 내용은 Table 1과 같다. 임상분리 균주는 5% 면양혈액이 포함된 혈액배지에 배양하고 균주의 동정은 고전적인 방법과 VITEK (Vitek System, Hazelwood Inc., U.S.A) GPI를 사용하였다. 본 실험에 사용한 MRSA 균주는 모두 catalase 검사 및 coagulase 검사에서 (BD, BBL, Staphyloslide Latex Test) 양성 결과를 나타내었으며, 이들 공시 균주를 mannitol salt agar (MSA)에 도말 후 배양하였다.

2. 감수성 실험

항생제 내성 유형을 파악하기 위한 항생제 감수성 실험은 VITEK System에 의한 최소억제농도 (minimum inhibitory concentration; MIC)를 이용하였다. 실험 방법으로는 실험 균주를 혈액배지에서 37°C, 18시간 배양한 후 단일 집락을 백금으로 취하여 멸균된 0.45% 생리식염수 1.8 ml에 부유한 후, VITEK colorimeter에서 최종 탁도를 0.5 McFarland barium sulfate turbidity standard에 맞추고 교반기로 2~3초 동안 교반한 다음 이 부유액을 취하여 VITEK GPS card와 susceptibility card에 접종하였다. 그리고 VITEK system에서 요구하는 방법 및 기준에 따라 MIC를 측정하였다. MIC에 측정된 ampicillin, ampicillin/sulbactam, cefazolin, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, nitrofrantoin, oxacillin, penicillin-G, clindamycin, tetracycline, vancomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항균물질을 사용하였다. 항균제 감수성 검사를 위한 표준 균주로는 *S. aureus* ATCC 43300, *S. aureus* ATCC 29213 및 *Escherichia coli* ATCC 25922를 사용하였다.

한편 Oxacillin과 cephalothin strip (AB Biodisk, Solna, Sweden)을 이용하여 CLSI (Clinical laboratory standard institute) guideline에 따라 Muller-Hinton agar에 공시 균주를 고루 도말하여 배지 양쪽에 oxacillin과 cephalothin strip를 올려놓고 37°C에서 18시간 배양한 후 형성된 증식 억제대에 해당하는 MIC를 판정하였다. 감수성 검사를 위한 표준 균주는 VITEK system에서 사용된 표준 균주와 동일한 균주들을 사용하였다.

3. DNA 추출 및 정제

세균의 genomic DNA를 얻기 위해서 세균을 brain heart infusion (Difco, MI, U.S.A.) broth 4 ml에 접종하여 호기성 상태로 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양액을 Eppendorf tube에 1.5 ml씩 분주하고 12,000 rpm으로 10분간 원심시킨 후 침전된 bacterial pellet을 DNA isolation kit (QIAamp[®] DNA Mini Kit, QIAGEN Inc., Chatsworth, U.S.A.)를 사용하여 genomic DNA를 추출, 정제하였다. 정제한 DNA의 농도는 260/280 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

4. *mecA* 유전자의 종합효소 연쇄반응

VITEK system을 통하여 확인된 MRSA 균주의 *mecA* gene에 특이적인 oligonucleotide를 고안하였다. NCBI (National Center for Biotechnology Information) web site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)를 통해서 *mecA*의 sequence를 수집하고, 이를 대상으로 *mecA* sequence에 대하여 multiple sequence alignment를 시행하였다. 이 결과를 바탕으로 Primer 3 program (<http://frodo.wi.mit.edu/>)을 이용하여 *mecA*-F, *mecA*-R의 PCR primer를 고안하고 주문 제작 (Bioneer Co. Daejeon, Korea)하

Table 1. Antimicrobial resistance patterns of MRSA clinical isolates by VITEK system

Antimicrobial agents	Healthcare facility			Number of isolates
	121 st	KHF	Wonju	
AMP, AMS, CZ, OX, PEN	13	4	·	17
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, ERY	13	2	·	15
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, ERY, CC	3	·	·	3
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, CIP	2	·	·	2
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, ERY, CIP	1	·	·	1
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET	·	1	·	1
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, ERY, GEN, CIP	·	2	·	2
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, ERY, GEN, CIP, CC	·	16	·	16
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, ERY, GEN, CIP, CC, SXT	·	11	·	11
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, GEN, CIP, CC, SXT	·	4	·	4
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, GEN, CIP, SXT	·	1	·	1
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, CIP, SXT	·	1	·	1
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, GEN, TET	·	·	2	2
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, GEN, TET, ERY	·	·	1	1
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, GEN, TET, CC	·	·	3	3
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, GEN, TET, ERY, CC, CIP	·	·	25	25
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, GEN, TET, ERY, CIP	·	·	2	2
AMP, AMS, CZ, OX, PEN, TET, ERY, CIP	·	·	5	5
Total	30	42	36	108

Abbreviations. AMP; ampicillin, AMS; ampicillin/sulbactam, CC; clindamycin, CIP; ciprofloxacin, CZ; cefazolin, ERY; erythromycin, GEN; gentamicin, OX; oxacillin, PEN; penicillin, SXT; trimethoprim/sulfamethoxazole, TET; tetracycline

여 본 실험에 사용하였다.

본 실험에서 고안한 primer와 Oliveira et al. (2005)이 고안한 primer (Table 4)에 대한 민감도 시험을 시행하였다. 증합효소 연쇄반응은 AccuPower[®] PCR PreMix (Bioneer. Co. Daejeon, Korea)를 사용하여 주형 DNA 농도를 최초 30 ng으로 시작하여 10 배씩 순차적으로 최종 농도가 0.3 pg이 되도록 희석하여 각각의 주형 DNA 2 µl를 첨가하고 각각의 primer set를 20 pmole/µl를 최종 농도가 2 pmol이 되도록 넣은 후 멸균 증류수로 최종 반응량이 20 µl이 되도록 하여 thermal cycler (GeneAmp[®] PCR System 2700, Perkin-Elmer Cetus, Boston, MA, U.S.A.)를 사용하여 DNA의 증폭을 시도하였다. MECA-F, R primer는 47℃에서 annealing을 실시하였다 (Oliveira et al., 2005). 반응이 종료된 후 0.5 µg/ml의 ethidium bromide를 첨가한 1.5% agarose gel에 전기영동하여 ultraviolet trans-illuminator (Vilber Louramat, Mame La Valle, France)로 각각의 증폭 산물들을 비교 관찰하였다.

mecA gene을 검출하기 위한 증합효소 연쇄반응은 *mecA*-F, *mecA*-R의 PCR primer를 사용하여 민감도 시험과 같은 방법으로 시행하였다.

결 과

1. 황색 포도상구균 (*S. aureus*)의 분리

본 실험에 사용한 모든 균주는 catalase 검사와 coagulase 검사에서 모두 양성을 나타냈으며, Mannitol salt agar (MSA)에서 배양한 결과 mannitol을 분해하여 산을 생성하는 과정에서 pH indicator인 phenol red에 의해 노란색 집락을 나타내었다.

2. 항생제 감수성 검사 결과 비교 분석

Vitek 자동 분석기를 사용한 각각의 항생제에 대한 MIC를 측정된 결과 모든 임상분리 균주들이 ampicillin, penicillin, ampicillin/sulbactam 그리고 oxacillin에 대해 내성을 나타냈으며, nitrofurantoin과 vancomycin에는 모두 감수성을 나타내었다 (Table 1).

121st General Hospital에서 분리된 30주의 MRSA 균주들은 tetracycline, gentamicin, rifampin, trimethoprim/sulfamethoxazole에 감수성을 나타내었으며, ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin에 각각 13%, 10%, 그리고 55%의 내성을 나타내었다. 서울지역 병원에서 분리된 MRSA 균주들은 tetracycline, gen-

Table 2. MIC of MRSA clinical isolates by E-test

Healthcare facilities	Antibiotics	MIC (Minimum inhibitory concentration)							Number of isolates
		>4	>8	>16	>32	>64	>128	>256	
121 st	oxacillin	14	9	2	4	1	0	0	30
	cephalothin	27	1	1	1	0	0	0	
KHF	oxacillin	0	0	0	0	0	0	17	17
	cephalothin	0	0	0	1	3	6	7	
Wonju	oxacillin	0	0	0	0	0	0	36	36
	cephalothin	0	1	0	0	14	13	8	
Total									83

Table 3. Oligonucleotide sequences used for amplification in this study

Oligonucleotide	Sequence (5' to 3')	Tm (°C)	Expected size (bp) of PCR product
<i>mecA</i> -F	GGTGAAGTAGAAATGACTGA	52	339
<i>mecA</i> -R	CTCATATGCTGTTTCCTGTAT		
MECA-F*	TCCAGATTACAACCTCACCAGG	50	162
MECA-R*	CCACTTCATATCTTGTAACGCG		

*Oliveira et al. (2005)

tamicin, ciprofloxacin, clindamycin에 모든 균주들이 내성률을 나타냈으며, erythromycin에서는 94% (16균주), rifampin에서 17% (3균주), trimethoprim/sulfamethoxazole에서는 58% (10균주)의 균주가 내성을 나타내었다. 또한 같은 기간 부산지역 병원에서 분리된 MRSA 균주들의 내성률은 tetracycline에서 64% (16균주), gentamicin에서 60% (15균주), rifampin에서 4% (1균주), trimethoprim/sulfamethoxazole에서 20% (5균주), erythromycin에서 72% (18균주), clindamycin에서 56% (14균주), ciprofloxacin에서 68% (17균주)의 내성을 보였다. 한편 1999년 원주에서 분리된 MRSA 균주들은 tetracycline에 대부분 (98%) 감수성을 나타내었으며 trimethoprim/sulfamethoxazole에서는 모두 감수성을 나타내었다. 또한 gentamicin, ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, rifampin에서는 각각 75%, 93%, 90%, 95%, 그리고 5%의 내성률을 나타내었다 (Table 2).

121st General Hospital에서 분리된 30주와 한국병원에서 분리된 17주, 그리고 원주 기독교병원에서 분리된 36주를 oxacillin과 cephalothin strip를 사용하여 MRSA 분리주들에 대한 MIC를 비교하였다. 121st General Hospital에서 분리된 MRSA 균주에서는 대부분의 균주가 oxacillin에 대한 MIC가 8 µg/ml 이하인 반면, 한국병원과 원주 기독교병원에서 분리된 균주에서는 모든 균주들이 256 µg/ml 이상의 강한 내성을 보였다. 또한 cephalothin에서는 121st General Hospital 분리 균주 30균주 중 27개의 분리 균주가 4 µg/ml 이하의 내성을 나타낸 반면 한국병원에서 분리된 균주들은 대부분 64 µg/ml 이하의 내성을 나타냈다. 이로서 121병원과 국내병원에서 분리

된 균주 간에는 내성도의 현저한 차이를 볼 수 있었다. 반면 1999년 원주 기독교병원과 2004년도에 한국병원에서 분리된 MRSA 균들의 내성도는 oxacillin 약제에서는 모두가 256 µg/ml 이상의 강한 내성을 보였고 cephalothin에서는 64 µg/ml 이상의 내성을 보였다. 1999년과 2004년도에 분리된 균주들의 내성률을 비교하여 본 결과 oxacillin에서는 모두 256 µg/ml 이상의 강한 내성을 보여주었으나, cephalothin에서는 2005년도에 분리주 중 약 80%의 균주가 128 µg/ml 이상의 내성을 나타내었으며, 1999년도에는 58%가 128 µg/ml에 내성을 나타내었다 (Table 2).

3. 중합효소 연쇄반응에 사용된 PCR primer의 민감도 시험

MRSA의 *mecA* gene을 검출하기 위해 고안된 PCR primer와 Oliveira et al. (2005)이 사용한 PCR primer들을 (Table 3) 비교해 본 결과 이번 실험에서 새롭게 고안한 primer는 3 pg DNA에서도 양성 반응을 나타내었으나 기존에 사용되었던 primer는 30 pg DNA에서 양성으로 나타났다. 따라서 본 실험에서 고안한 *mecA* primer set가 기존의 Oliveira et al. (2005)이 사용한 primer에 비하여 10배 이상 *mecA* 유전자 검출에 민감한 것으로 나타났다 (Fig. 1).

4. 중합효소 반응을 이용한 *mecA* 유전자 검출

이번 실험에서 고안한 primer를 사용하여 중합효소 연쇄반응을 시행한 결과 양성 대조균으로 사용된 *S. aureus* ATCC 43300과 108균주의 임상분리 균주에서 *mecA* gene primer를

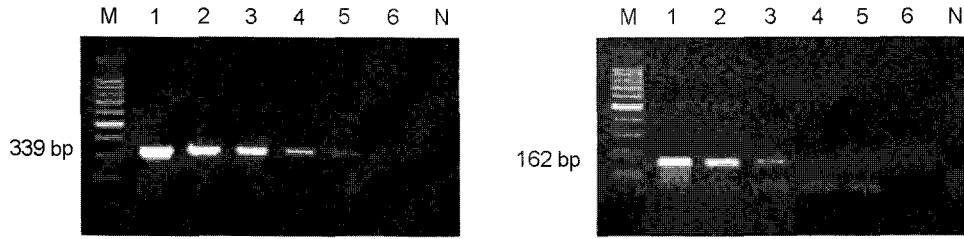


Fig. 1. Sensitivity test for PCR amplification of *mecA* gene. Left; primer designed for this study (*mecA*-F, R), right; primer used in reference (MECA-F, R) lane M; 100 bp DNA ladder (Takara), lane N; negative control, lane 1; template DNA (*S. aureus* ATCC 43300; 30 ng), lane 2~6; ten-fold serial dilution of template DNA.

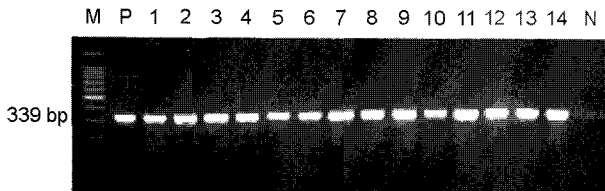


Fig. 2. PCR amplification of *mecA* gene for MRSA clinical isolates. Lane M; 100 bp DNA ladder (Takara Bio Inc, Japan), lane P; positive control (*S. aureus* ATCC 43300), lane 1~14; MRSA clinical isolates, lane N; netative control.

사용한 PCR에서 예상하였던 339 bp의 PCR 산물이 검출되었다 (Fig. 2).

고 찰

1959년 methicillin이 penicillin resistant *Staphylococcus aureus* 감염증에 사용된 이래 1961년에 영국에서 MRSA가 임상검체에서 처음으로 발견된 이래 유럽을 비롯하여 전세계적으로 MRSA는 중요한 병원감염의 중요한 원인균이 되고 있다. 본 연구에서는 국내에 주둔하고 있는 미군들의 임상 가검물에서 분리된 MRSA 균주와 국내병원 환자들의 가검물에서 분리된 MRSA 임상분리 균주들 간의 항생물질에 대한 내성을 비교 분석하였으며 MRSA를 유발하는 *mecA* gene의 검출을 시도하였다.

2005년 1월부터 4월까지 서울에 소재한 미8군 소속 121st General Hospital laboratory에서 분리한 30주의 MRSA 임상분리 균주와 국내병원 (Korean health facility, KHF)에서 분리한 42주의 MRSA 임상분리 균주, 그리고 1999년 강원도 원주시 소재의 원주 기독교병원에서 분리한 36주의 MRSA 임상분리 균주를 대상으로 하였다.

연구 결과 2005년 121st General Hospital에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들이 tetracycline, gentamicin, trimethoprim/sulfamethoxazole에 모두 감수성을 나타내었으며 서울지역에서 분리한 모든 MRSA 임상분리 균주들은 모두 내성을 나타낸 것은 MRSA 임상분리 균주들 간의 내성도의 차이가 확연하게

다른 것으로 나타났다. 그리고 clindamycin과 ciprofloxacin의 경우 121st General Hospital에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들은 약 10% 이하의 내성률을 나타내고 있으나 서울지역 병원에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들은 100%의 내성을 나타내고 있다. 또한 서울지역 병원에서 분리된 MRSA 임상분리 균주들이 같은 시기 부산에서 분리된 MRSA 임상분리 균주들에 비해 항균제에 대한 내성도가 약 10~40% 정도로 강한 내성도를 나타내고 있다. 1999년도 원주에서 분리된 MRSA 임상분리 균주들이 2005년도 부산지역에서 분리된 MRSA 임상분리 균주들에 비해 5~20% 정도의 강한 내성을 나타낸 반면 trimethoprim/sulfamethoxazole과 tetracycline에서는 모두 감수성, 그리고 2%의 내성률을 나타내었다.

본 연구의 결과로 시기에 따른 항생제의 내성도와 지역적인 차이에 따라 부산과 서울 그리고 국내에 거주하는 외국인에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들에 대하여 항생제에 따라 내성도의 차이를 알 수 있었다. 이러한 MRSA 임상분리 균주의 항생제에 대한 내성도의 지역별 차이는 국내에서의 항균물질 남용의 결과 항생제에 대한 내성률이 심각한 상황에 이르고 있음을 의미한다고 할 수 있다.

미국의 경우 병원 내에서 200만 명의 환자들이 감염되고 있으며 이 감염의 60%는 내성 세균에 의한 감염으로 그 중 40%는 MRSA에 의한 것으로 알려져 있다. MRSA 감염은 1998년에 12%이던 것이 2003년에는 43%로 증가되었으며 Ko et al. (2005)에 의하면 MRSA 임상분리 균주는 ciprofloxacin에 14%, clindamycin에 3%, tetracycline에 3%, 그리고 trimethoprim/sulfamethoxazole에 1%의 내성률을 나타내었으며 vancomycin, gentamicin, nitrofurantoin, 그리고 rifampin에는 전부 감수성을 보고한 바 있다. 그리고 미국 내의 군인 지역병원의 외래 환자에서 분리된 MRSA 임상분리 균주들 중 91%는 erythromycin에 내성임을 보고한 바 있으나 본 연구에서는 55%의 내성률을 나타낸 것은 병원입원 환자와 외래 환자의 모든 검체를 대상으로 차이를 보인 것으로 사료되며, ciprofloxacin, tetracycline, gentamicin, rifampin, 그리고 clindamycin 내성률은 약간의 미세한 차이를 보일뿐이다.

E-test를 이용한 MIC 측정에서는 121st General Hospital에

서 분리한 MRSA 임상분리 균주에서는 대부분의 균주가 oxacillin의 경우 MIC가 8 µg/ml 이하인 반면, 국내병원들과 원주 기독교병원에서 분리한 MRSA 임상분리 균주에서는 모두 256 µg/ml 이상에서 강한 내성을 나타내었으므로 집단 간의 MRSA 임상분리 균주들의 내성도의 차이를 알아볼 수 있었다. 그리고 cephalothin의 경우는 121st General Hospital 31주 중 27주의 MRSA 임상분리 균주의 MIC가 4 µg/ml 이하의 내성을 나타낸 반면 국내병원들에서는 대부분의 MRSA 임상분리 균주의 MIC가 64 µg/ml의 내성을 보여주었다. 이 결과로서 121st General Hospital과 국내병원들에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들 간에는 oxacillin에 대한 내성도의 차이를 볼 수 있었다.

연도별 국내병원들 간의 MRSA 분리 균주의 경우 2005년도에 분리한 균주들과 1999년 원주에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들의 내성도의 변화는 oxacillin의 경우 모두가 MIC가 256 µg/ml 이상의 강한 내성을 보이므로 여전히 강한 내성률을 나타내고 있었으며, cephalothin에 경우 1999년도에 원주지역에서 분리한 MRSA 임상분리 균주에 비해 2005년도에 분리한 MRSA 임상분리 균주에서 내성률이 높아진 것으로 나타났다.

분자생물학적 검출 방법인 중합효소 연쇄반응을 시행하여 총 108주의 MRSA 임상분리 균주에서 모든 임상분리 균주들이 *mecA* 유전자가 검출되어 MRSA 임상분리 균주가 *mecA* gene을 가지는 것으로 사료된다.

결론적으로 보아 3개의 집단에서 분류된 MRSA 임상분리 균주를 대상으로 VITEK system과 E-test를 통하여 시행한 항생제에 대한 MIC 결과는 121st General Hospital에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들과 국내병원들에서 분리한 MRSA 임상분리 균주들과의 항생제들 간의 내성률의 큰 차이점을 발견함으로써 국내에서 분리한 MRSA 임상분리 균주는 항생제에 대한 내성률이 매우 높은 것으로 나타났다.

REFERENCES

- Campbell KM, Vaughn AF, Russell KL, Smith B, Jimenez DL, Barrozo CP, Minarcik JR, Crum NF, Ryan MA. Risk Factors for Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in an Outbreak of Disease among Military Trainees in San Diego, California, in 2002. *J Clin Microbiol.* 2004. 42: 4050-4053.
- Chong YS, Lee KW, Shin JW, Shin HB, Lim JB. Active of Arbekacin Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Chemother.* 1997. 15: 391-327.
- Coombs GW, Nimmo GR, Bell JM, Huygens F, O'Brien FG, Malkowski MJ, Pearson JC, Stephens AJ, Giffard PM. Genetic diversity among Community Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Causing Outpatient Infections in Australia. *J Clin Microbiol.* 2004. 42: 4753-4743.
- Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of Three Techniques for Detection of Low-Level Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a Disk diffusion Method with Cefoxitin and Moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-Screen Latex Agglutination Test. *J Clin Microbiol.* 2002. 40: 2766-2771.
- Hanssen AM, Fossum A, Mikalsen J, Halvorsen DS, Bukholm G, Sollid JUE. Zissemination of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in Northern Norway: Sequence Type 8 and 80 Predominate. *J Clin Microbiol.* 2005. 43: 2118-2124.
- Hanssen AM, Kjeldsen G, Sollid JUE. Local Variants of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* in Sporadic Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci: Evidence of Horizontal Gene Transfer?. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004. 48: 285-296.
- Kim SM, Lee H, Peck KR, Song JH, Yang JW, Jin JH, Pai HJ, Oh MD, Choe KW. Genetic relatedness of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Recovered from 3 differnt Hospitals in Korea. *Infection.* 1997. 29: 453-462.
- Ko KS, Lee JY, Suh JY, Oh WS, Peck KR, Lee NY, Song JH. Distribution of Major genotypes among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in Asian Countries. *J Clin Microbiol.* 2005. 43: 421-426.
- Lee HK, Pakh JY, Han KJ, Kim BK, Kang MW, Shim SI. Comparison of PCR Detection of *mecA* with Standard Susceptibility Testing Methods to Determine Methicillin Resistance in Clinical Strains of Staphylococci. *Infection.* 1996. 28: 429-435.
- Lee JS, Park O, Woo HJ, Jung HJ, Kim WJ, Kim MJ, Park SC. A Longitudinal Molecular Epidemiologic Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from a University Hospital. *Infection.* 2001. 33: 32-40.
- Lu PL, Chin LC, Peng CF, Chiang YH, Chen TP, Ma L, Siu LK. Risk Factors and Molecular Analysis of community Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Carriage. *J Clin Microbiol.* 2005. 43: 132-139.
- Matsumura LLSO, Choi E, Louie M, Simor AE. Evaluation of Three rapid Methods for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2002. 38: 2170

- Nathalie van der Mee-Marquet, Domelier AS, Girard N, Quentin Roland, and the Bloodstream Infection Study Group of the Relais d'Hygiène du Centre. Epidemiology and Typing of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from bloodstream Infections. *J Clin Microbiol*. 2004. 42: 5650-5657.
- Oliveira DC, 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*. 2002. 46: 2155-2156.
- Robinson DA, Enright MC. Evolutionary Models of the Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003. 47: 3926-3924.
- Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, DeGirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Qinfang. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of Susceptibility Testing Methods and Analysis of *mecA*-Positive Susceptible Strains. *J Clin Microbiol*. 2001. 39: 3946-3951.
- Shukla SK, Stemper ME, Ramaswamy SV, Conradt JM, Reich R, Graviss EA, Reed KD. Molecular Characteristics of Nosocomial and Native American Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones from Rural Wisconsin. *J Clin Microbio*. 2004. 42: 3752-3757.
- Woo HY, Lee NY, Maeng SH, Han SH, Ihn KS, Lim SW, Seong SY, Kim IS, Choi MS. Molecular Epidemiological Study and Analysis of Genomic Diversity of *mec* Regulator Genes in *mecA* Positive Methicillin-Resistant Staphylococci. *J Infect Chemother*. 2000. 18: 335-354.