

## 유전자형 분석에 의한 신경외과 중환자실의 메티실린 내성 황색포도알균의 전파양상

김 윤 경<sup>1)</sup> · 홍 해 숙<sup>2)</sup>

1) 대구과학대학 간호과 교수  
2) 경북대학교 간호대학 간호학과 교수

### Transmission Aspect of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Neurosurgical Intensive Care Unit by Analysing Genotype

Kim, Yun Kyung<sup>1)</sup> · Hong, Hae Sook<sup>2)</sup>

1) Professor, Department of Nursing, Taegu Science College  
2) Professor, College of Nursing, Kyungpook National University

#### Abstract

**Purpose:** The aim of this study was to identify the present situation of hospital infection and route of infection by clarifying the transmission aspect of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) in a Neurosurgical Intensive Care Unit by analysing genotype. **Methods:** MRSA was cultured from twenty five patients with a tracheostomy, twenty five health care workers, and environments in the Neurosurgical Intensive Care Unit of one hospital in D city. Data was collected from December 21, 2004 to November 5, 2005. MRSA isolates representing each genotype were analyzed by *spaA* typing and a multiplex PCR method capable of identifying the structural type of the staphylococcal cassette chromosome *mec*(SCC*mec*) carried by the bacteria. **Results:** As the same genotype

and gene sequence were found among health care workers, patients, and environments, it was assumed that there was cross transmission among them.

**Conclusion:** This study suggests that first, as the hospital infection by MRSA between health care workers and patients in the Neurosurgical Intensive Care Unit was due to result of cross transmission and the relevance of transmission between them was verified, it is necessary to take preventive measures and conduct education. Secondly, development of nursing interventions and study of infection are needed. Thirdly, consistent investment in prevention against hospital infections and environmental renovation is needed.

Key words : *Staphylococcus aureus*, Genotype

주요어 : 유전자형 분석, 메티실린 내성 황색포도알균

투고일: 2007년 5월 1일 심사완료일: 2007년 8월 29일

• Address reprint requests to : Hong, Hae Sook

College of Nursing, Kyungpook National University

101, Dongin-2ga, Jung-gu, Daegu 700-422, Korea

Tel: 82-53-420-4932 Fax: 53-421-2758 E-mail: hshong@knu.ac.kr

## 서 론

### 연구의 필요성

병원감염은 불필요한 재원일수의 증가, 의료비의 상승, 항균제 내성균주의 전파 등으로 의료의 질 저하를 가져올 수 있으며, 환자의 회복을 지연시키고 신체적, 정신적 고통이 되고 있다. 그리고 병원 측이나 의료인이 병원감염 예방을 위한 주의의무 소홀과 관련된 법적인 문제를 야기할 수도 있으며, 의료의 윤리적인 측면에서도 환자나 병원 모두에게 원하지 않는 결과를 초래할 수 있다(Cho, 2000).

특히, 중환자실에서의 병원감염은 일반병실에 비해 2-5배 이상 높은 빈도로 발생하여 전체 병원감염의 20% 이상을 차지할 정도로 많은 비중을 차지하고 있는데 이는 중환자실에서 입원중인 환자들이 대부분 심각한 기저질환을 갖고 있으며, 병원감염의 위험을 증가시키는 각종 의료행위를 받을 수 있는 기회가 많기 때문이다(Cheong, Kim, Kim, Park, & Cho, 1995).

국내 병원 감염률은 5-10%로 추정할 수 있으며(Song, 2001), 병원감염은 입원비용을 증가시킬 뿐 아니라 환자의 사망률을 증가시킨다. 미국의 병원감염의 부위별 순위는 요로감염, 수술부위창상감염, 호흡기계 병원감염, 패혈증 등이다(Dietrich, Demmler, Schulgen, Fekec, & Mast, 2002). Korean Society for Nosocomial Infection Control(1996)의 보고에 따르면 우리나라 병원감염의 부위별 순위는 비뇨기계감염, 호흡기계감염, 창상감염, 균혈증의 순으로 나타났다. 그 원인균으로 황색포도알균이 전체 병원 감염의 17.2%로 가장 많았고 그 중 78.8%가 메티실린 내성 황색포도알균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)이었다(Song, 1996). 이와 같이 MRSA는 이미 우리나라에 널리 퍼져 있어 병원감염관리의 가장 중요한 균 중 하나이다(Song, Lee, Kim, Park, & Lee, 2001).

또한, 중환자실에서 보고되고 있는 병원감염의 대표적인 균은 황색포도알균이며, 그중 약 90% 이상이 MRSA로 알려져 있다(Song, 1996).

미국의 경우 병원에서 검출된 MRSA는 1975년 2.4%에서 1991년 29%로 증가하였고, 1998년부터 2001년 사이에 중환자실에서 검출된 황색포도알균 가운데 50% 이상이 메티실린 내성을 보였다고 보고하였다(Lee, 2004).

MRSA는 병원 내로 유입된 후에는 전파경로를 정확하게 파악하기 어렵고, 기존의 여러 병원감염관리 방법을 적용하여도 효과적인 관리가 어렵다. 이러한 MRSA는 패혈증, 감염성 심내막염, 골수염, 피부 및 연조직 감염, 골관절염, 폐렴 및 식중독 등을 일으키며, 주요 전파경로는 공기전염보다는 의료진

의 손을 통하여 이루어지고 사람과 사람의 직접 접촉에 의한 것으로 알려져 있다(Hartstein, Denny, Morthland, LeMonte, & Pfaller, 1995; Oh, Lee, Kim, Lee, Oh, & Choe, 2001). 또한 MRSA는 사람의 비강 내에서 잘 증식한다. 비강은 MRSA의 주요 병원소 역할을 하며, 환자를 직접 접촉하는 의료인은 환자를 다루면서 MRSA에 의한 비강 보균상태가 될 가능성이 높고 보균자인 의료인은 다른 환자나 직원들에게 전파할 가능성이 높다. 따라서 환자나 병원내 의료인의 비강 MRSA 선별검사 및 관리는 MRSA에 의한 병원감염관리에서 매우 중요하다(Hee, Young, & Yong, 2004).

또한 감염원의 제거가 중요하며, 이를 위해서는 병원내에서 일단 토착화 MRSA의 클론이 몇 가지이며, 토착화되어 있는 MRSA균이 제거되지 않고 병원내에서 계속문제를 일으키는지 아니면 지역사회에서 획득된 MRSA클론이 유입되어 새로운 클론으로 병원내에서 정착되어 자리를 잡는지 등의 변화양상을 규명하는 것이 중요하다(Lee et al., 2001).

병원감염과 관련된 국외의 연구에서는 병원간의 MRSA의 유전학적 연관성(Marilyn, Gordon, Herminia, & Alexander, 2004)과 MRSA의 유형 분리에 대한 분자학적 기술(Trindade, McCulloch, Oliveira, & Mamizuka, 2003)에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

그러나 병원감염과 관련된 국내 간호연구에서는 간호사의 병원감염 예방행위에 대한 인지도와 수행정도(Cho & Yoo, 2001), 중환자실 간호사의 호흡기계 병원감염관리 인지도와 실천정도(Yoo, Ban, & Yoo, 2002)등으로 병원감염관리의 현황, 문제점 파악과 지식 태도에 관련된 연구는 있으나, 실질적인 병원감염의 원인균인 MRSA 감염에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

현재 MRSA의 확인을 위해서는 PCR(Polymerase Chain Reaction)로 *mecA* 유전자를 확인하는 방법이 표준방법으로 인정되고 있다(Park & Shin, 2004), 따라서 황색포도알균에만 특이적으로 존재하고 있는 DNA 염기서열에 대한 primer와 메티실린내성을 발현하는 데 있어서 가장 핵심적인 유전자인 *mecA*에 대한 primer를 동시에 사용하는 Multiplex PCR과 *spaA*(*Staphylococcus aureus* encodes protein A gene) type을 이용하여 MRSA에 특이적으로 존재하고 있는 유전자형을 확인하고 DNA 염기서열 비교를 통해 병원내 균 전파 양상을 추적할 수 있을 것이다.

그러므로 본 연구는 유전자형 분석에 의한 신경외과중환자실의 메티실린 내성 황색포도알균의 전파 양상을 규명하여 병원감염 관리 현황과 균의 전파경로를 밝혀 병원감염을 예방하며 발생을 줄일 수 있는 효과적인 감염환자 간호의 대책을 수립하기 위한 기초 자료를 제공하고자 시도되었다.

## 연구 목적

본 연구는 신경외과 중환자실 의료인, 기관절개환자, 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경에서의 MRSA의 전파 양상을 확인하고자 한다. 본 연구의 구체적인 목적은 다음과 같다.

- 의료인과 기관절개환자에서 검출된 황색포도알균의 분리율을 확인한다.
- 의료인과 기관절개환자에서 검출된 황색포도알균의 항생제 내성을 확인한다.
- 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경에서 검출된 황색포도알균의 MRSA의 전파 빈도를 확인한다.
- 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경에서 검출된 MRSA의 유전자형 분석을 통한 전파양상을 확인한다.
- 의료인과 기관절개환자에서 검출된 MRSA의 유전자형 분석을 통한 전파양상을 확인한다.

## 용어의 정의

### • 의료인

의료행위에 종사하는 의사, 간호사, 약사, 조산사를 말하며, 본 연구에서는 신경외과 중환자실에서 근무하고 있는 의사, 간호사, 간호조무사, 병원보조원을 포함한다.

### • 환경

생활하는 주위 상태로 본 연구에서는 신경외과 중환자실에서 청소하기 전에 기관절개환자와 의료인이 사용한 물품을 말한다.

### • MRSA(methillin-resistant *Staphylococcus aureus*)

그램양성구균으로서 페니실린계 항생제인 메티실린에 내성을 보이는 것으로 *mec*과 *nuc* gene을 가지고 있는 것을 의미한다.

### • 유전자형 분석

Multiplex PCR과 *spaA* typing에 의하여 나온 유전자 I형, II형, III형 IV형 중에서 유전자 염기서열을 분석한 것을 의미한다.

## 연구 방법

### 연구 설계

본 연구는 유전자형 분석에 의한 신경외과중환자실의 MRSA 전파양상을 확인하기 위한 서술적 조사연구이다.

## 연구 대상

본 연구는 D시내 소재한 1개 A병원의 신경외과 중환자실에 근무하는 의료인과 입원할 당시에 MRSA가 발견되지 않은 기관절개환자 중 2004년 12월 1일부터 2005년 11월 5일까지 연구에 동의한 각각 25명을 대상으로 하였다.

## 자료 수집 방법

### • 균채취 및 동정

#### • 의료인과 기관절개환자

신경외과중환자실 의료인에게 목적과 방법을 설명한 후 양손 다섯 손가락과 비강을 멸균된 면봉으로 골고루 문질러 각각 mannitol salt agar에 접종하였으며, 기관절개환자는 중환자실 입원후 24시간 이내에 양측 비강을 각각 5회씩 돌려 채취하여 배양검사 결과가 MRSA 보균자가 아닌 대상으로 기관절개 내관을 24시간마다 5일 동안 멸균된 면봉으로 골고루 도말하여 mannitol salt agar에 접종하여 실험실로 수송한 후 이 검체를 35℃ 배양기에 48시간 배양하였으며, *Staphylococcus aureus*로 의심되는 노랑색의 집락을 동정하였다.

#### • 환경

신경외과중환자실 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경은 청소하기 전에 멸균된 면봉으로 침대레일, 침대 옆 탁자, 컴퓨터자판기, 드레싱 카, 가습기, 정맥주사시 연결된 3-way stopcock, IV폴대, 청진기, 흡인용 컵, 전화기, 체온기, 간호사 처치대, 창문틀등의 표면을 골고루 문질러 각각 mannitol salt agar에 접종한 후 동일한 방법으로 세균 배양검사를 하였다.

### • 균 내성검사

균내성검사는 ampicillin(Ap), oxacillin(Ox), cefotaxime(Ct), cefotazole(Cz), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), tobramycin(Tm), chloramphenicol(Cm), ciprofloxacin(Ci), erythromycin(Em), teicoplanin(Tei), vancomycin(Va), rifampin(Rif) 및 trimethoprim(Tp) 등 14종을 사용하였다. 각 약제를 적당한 용매에 용해시켜 phosphate buffer 또는 증류수로 희석하여 사용하였다. 항생제 내성 검사는 Mueller-Hinton agar를 사용한 평판희석법에 의하였다. Tryptic soy broth에서 37℃에서 20시간 배양한 균 부유액을 생리식염수로 100배 희석하여 각 약제의 내성 농도를 함유시킨 평판 배지에 접종한 다음 37℃에서 20시간 배양 후 접종 부위의 균발육 유무를 보아 내성여부를 판정하였다. Methicillin에 대한 내성검사는 4% NaCl(wt/vol)과 oxacillin를 포함하는 Mueller-Hinton agar에 접종하여 35℃에서 20시간 배양하여 다시 한번 확인 동정하였으며, oxacillin

내성검사의 대조균주로 *S. aureus* ATCC 29213을 이용하였다. 검사방법 및 내성균의 판정은 임상검사표준지침(National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 기준을 따랐다.

● MRSA의 유전자형 분석

MRSA의 유전자형분석은 PCR에 의한 *mecA*, *nuc* gene의 검출, Multiplex PCR과 *spaA* typing을 하였다.

● PCR에 의한 *mecA*, *nuc* gene의 검출

• 균 배양

배양된 균액을 mannitol salt agar에 접종하여 35℃에서 48시간 배양한 후 노랑색으로 자란 각각의 3개의 균을 증류수 100μl에 혼합하여 100℃에서 10분 동안 가온한 후 얼음에서 15분간 방치하였다. 4℃에서 12,000rpm으로 15분간 원침하여 상층액 70μl을 PCR에 사용하였다.

• Primer DNA의 준비

본 연구에 사용된 primer들은 포도알균 속 메티실린내성 균주와 관련 있는 유전자의 특정부위를 선택적으로 증폭하기 위한 primer 1(MR 1 AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC/MR 2 AGTTCT

GGCACTACCGGATTTGC, PCR product size 533bp)과 황색포도알균 균주와 관련 있는 유전자의 특정부위를 증폭하기 위한 primer 2(*nuc* 1 GCGATTGATGGTGATACGGTT/*nuc* 2 AGCCAAGCCTTGACGAATAAAGC, PCR product size 279bp)를 사용하였다.

• 중합효소연쇄반응

중합효소연쇄반응 증폭은 thermal cycler(Nippon Genetics CO., Tokyo, Japan)에서 재조합 Taq DNA polymerase(TaKaRa Taq, TaKaRa Shuzo C., Ltd. Seta, Japan)를 이용하여 수행하였다.

MRSA *mecA* gene, *nuc* gene의 증폭을 시행하기 위한 총용량은 25μl로 하였으며, 반응혼합액은 1μl의 세균용해액에 primer 1(MR 1/MR 2)과 primer 2(*nuc* 1/*nuc* 2)를 각각 0.5μl씩, mixture reagent(dNTP, Taq polymerase, MgCl<sub>2</sub>) 4.125μl, 멸균된 증류수를 넣어 중합효소연쇄반응의 최종액을 맞추었다. 중합효소연쇄반응으로 산물은 DNA fingerprint 확인을 위해 PCR 생성물 5μl, loading buffer 2μl 섞은 다음 2% agarose gel에 전기영동 장치를 이용하여 50mV로 전기영동하였다. 전기영동 후 0.5μg/μl ethidium bromide로 10분간 염색하고 증류수로 10분 탈색하였다. Gel을 UV transilluminator에 옮겨 증폭된 DNA 절편을 확인하고 디지털 카메라를 이용하여 촬영하였다. 100bp Ladder를 DNA size maker로서 사용하였다.

● Multiplex PCR에 의한 유전자형분석

• 배양균액으로부터 DNA분리

BHI에서 20시간 배양한 균주 1ml를 4℃에서 15000rpm으로 5분간 원침하여 상층액을 제거한 후 50mM EDTA(pH8.0) 480μl, 10mg/ml lysozyme 60μl, 1mg/ml lysostphin 60μl를 혼합하여 37℃에서 30분간 반응시키고, 4℃에서 15000rpm으로 5분간 원침하여 상층액을 제거하여 Nuclei lysis Solution (Promega kit) 600μl를 넣어 혼합하여 80℃에서 5분간 반응시킨 후 실온에서 10mg/ml RNase을 3μl를 첨가하여 37℃에서 30-60분 반응시켰다. 실온에서 Protein Precipitation solution (Promega kit) 200μl를 혼합하여 얼음에 5분간 반응시킨 후 4℃에서 15000rpm으로 10분간 원침하여 침전물을 제거하고 isopropanol 600μl를 분주한 후 4℃에서 15000rpm으로 10분간 원침하여 상층액을 제거하고 침전물을 건조시켜 70% ethanol 600μl를 첨가하여 4℃에서 15000rpm으로 10분간 원침하여 상층액을 제거한 후 10분간 건조하였다. 건조된 침전물에 DNA Rehydration solution(Promega kit) 100μl를 혼합하여 65℃에서 1시간 반응시킨 후 황색포도알균 DNA로 사용하였다.

• Primers

Multiplex PCR에 사용한 primers는 포도알균 속 메티실린내성 균주와 관련 있는 유전자의 8개 특정부위를 선택적으로 증폭하기 위한 primer 16개를 사용하여 SCC*mec*(staphylococcal cassette chromosome *mec*) 유형을 파악하였다.

• 중합효소연쇄반응

중합효소연쇄반응 증폭은 thermal cycler(Nippon Genetics CO., Tokyo, Japan)에서 재조합 Taq DNA polymerase(TaKaRa Taq, TaKaRa Shuzo C., Ltd. Seta, Japan)를 이용하여 수행하였다.

배양액으로부터 분리한 DNA에서 gene의 증폭을 시행하기 위한 총용량은 25μl로 하였으며, 반응혼합액은 1μl의 세균용해액에 primer 16개를 각각 0.2μl, 0.4μl, 0.8μl씩, mixture reagent(dNTP, Taq polymerase, MgCl<sub>2</sub>) 4.125μl, 멸균된 증류수를 넣어 중합효소연쇄반응의 최종액을 맞추었다.

중합효소연쇄반응으로 산물은 DNA fingerprint 확인을 위해 PCR 생성물 5μl, loading buffer 2μl 섞은 다음 2% agarose gel에 전기영동 장치를 이용하여 50mV로 전기영동 하였다. Gel을 UV transilluminator에 옮겨 증폭된 DNA 절편을 확인하고 디지털 카메라를 이용하여 사진을 촬영하였다. 100bp Ladder를 DNA size maker로서 사용하였다.

• *spaA* typing에 의한 유전자형분석

배양액으로부터 분리한 DNA에서 gene의 증폭을 시행하기 위하여 *spaA* primer로 F1 5'GACGATCCTTCGGTGAGC3', R1 5'CAGCAGTAGTGCCGTTTGC3'를 사용 하였다. 총용량은 25μl로 하였으며, 반응혼합액은 1μl의 배양액으로부터 분리한 DNA에 primer F1과 R1 각각 1μl, mixture reagent(dNTP, Taq

polymerase, MgCl<sub>2</sub>) 4.125μl, 멸균된 증류수를 넣어 중합효소 연쇄반응의 최종액을 맞추었다. 중합효소연쇄 변성반응은 95℃에서 30초, 결합반응은 60℃에서 30초, 중합반응은 72℃에서 45초 반응시키며 29주기 시작 전의 제 1주기에서는 변성반응을 10분으로 연장하고 30주기 후의 마지막 1주기에서는 중합반응을 10분으로 연장하여 온도 및 시간을 자용으로 조절하여 반응한다. 중합효소연쇄반응을 30회 실시하여 나온 중합효소연쇄반응 산물은 전기영동하고 UV transilluminator상에서 결과를 관찰하여 나온 결과를 jet sorb kit을 사용하여 DNA sequencing(바이오닉스, 한국) 보내어 판독하였다.

### 자료 분석 방법

자료의 분석은 SPSS 10.0/PC를 이용하여 분석하며, 그 분석 방법은 다음과 같다.

- 대상자의 일반적 특성은 실수와 백분율로 구하였다.
- 의료인, 기관절개환자 및 환경에서 검출된 황색포도알균은 실수와 백분율로 구하였고 항생제 내성률과의 차이에 대한 유의성 검정을 위하여  $\chi^2$ -test로 검정하였다.
- 의료인, 기관절개환자 및 환경에서 검출된 MRSA는 전기영동 하여 UV transilluminator에서 관찰하고 디지털 카메라로 사진을 찍어서 DNA Band를 관찰하여 나온 결과를 유전자 염기서열 분석하여 유전자형을 판독하였다.

### 연구 결과

#### 대상자의 일반적 특성

대상자의 일반적 특성은 <Table 1>과 같다. 의료인의 일반적 특성으로 성별, 연령, 중환자실 근무경력 및 직무가 조사되었다. 성별은 남성이 16.0%, 여성이 84.0%이었고, 연령은 24세 이하가 44.0%로 가장 높았으며, 중환자실 근무경력은 13-36개월과 36개월 이상이 각각 36.0%이었고, 직무별로는 간호사가 68.0%였다. 기관절개환자의 일반적 특성으로 성별, 연령, 의식상태, 입원경로, 항생제와인공호흡기사용, 기관내삽관 유무를 조사하였다. 성별은 남성이 80.0%, 여성이 20.0%이었고, 연령은 50-59세가 32.0%이었고, 의식상태에서는 혼수가 72.0%이었고, 입원경로는 응급실을 통한 입원이 96.0%로 가장 높았다. 항생제는 사용한 대상자가 96.0%이었고, 인공호흡기는 사용한 대상자가 20.0%를 차지하였으며, 기관내삽관을 하지 않은 대상자가 92%이었다.

#### 신경외과중환자실 의료인의 MRSA 분리

<Table 1> General characteristics of the health care workers and the patients in neurosurgical intensive care unit

Characteristics	Distribution	N	%	
Sex	Male	4	16.0	
	Female	21	84.0	
Age(year)	≤ 24	11	44.0	
	25-29	10	40.0	
	≥ 30	4	16.0	
Health care workers (n=25)	Career(month)	≤ 12	7	28.0
		13-36	9	36.0
		≥ 37	9	36.0
	Occupation	Nurse	17	68.0
Medical doctor		2	8.0	
Nurse's aid		2	8.0	
Hospital assistant		4	16.0	
Sex	Male	20	80.0	
	Female	5	20.0	
Age(year)	≤ 39	4	16.0	
	40-49	4	16.0	
	50-59	8	32.0	
	60-69	7	28.0	
	≥ 70	2	8.0	
Mental state	Alert	0	0.0	
	Drowsy	4	16.0	
	Stupor	18	72.0	
	Semicoma	2	8.0	
Coma		1	4.0	
Admission route	Other wards	1	4.0	
	Emergency room	24	96.0	
Use of antibiotics	Yes	24	96.0	
	No	1	4.0	
Use of ventilator	Yes	5	20.0	
	No	20	80.0	
Use of intubation	Yes	2	8.0	
	No	23	92.0	

신경외과중환자실의 의료인 25명에서 MRSA 분리 조사를 실시한 결과는 <Table 2>와 같다. 간호사 17명 중 손에서 2명(11.7%), 비강에서 6명(35.2%), 병원보조원은 4명 중 1명(25%)이 분리되었으며, 간호사 중 2명은 손과 비강에서 동시에 분리되었다.

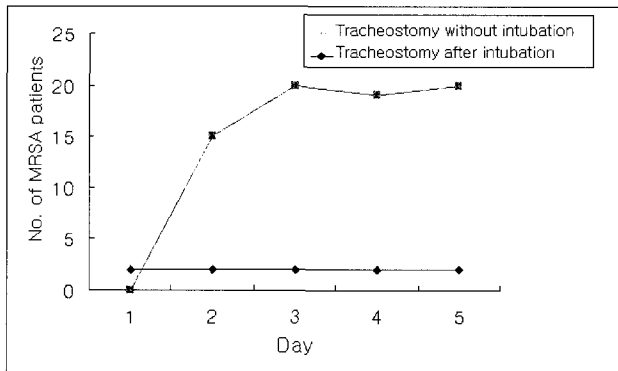
#### 기관절개환자의 MRSA 분리

기관절개환자 25명을 대상으로 경과일수에 따라 기관내관 부위에서 MRSA가 검출된 기관절개환자수를 측정한 결과, <Figure 1>에서 보는 바와 같이 25명 중 24명에서 MRSA가 나타났지만 24명 중 2명은 MRSA가 나타난 후 각각 4일째, 5일째에서는 검출되지 않았다 기관내 삽관을 한 후 기관절개를 실시한 환자 2명 모두에서는 1일째부터 MRSA가 검출되었으며, 기관내 삽관을 시행하지 않고 기관절개를 한 경우에

<Table 2> Rates of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among health care workers in neurosurgical intensive care unit

Health care workers*	No. of workers examined	No. of <i>S. aureus</i> (%)		No. of MRSA (%)		
		Nasal cavity	Hands	Nasal cavity	Hands	Total
RN	17	12(70.5)	12(70.5)	6(35.2)	2(11.7)	8(47.0)
MD	2	1(50.0)	2(100)	0( 0 )	0( 0 )	0( 0 )
NA	2	1(50.0)	1(50.0)	0( 0 )	0( 0 )	0( 0 )
HA	4	3(75.0)	1(25.0)	1(25.0)	0( 0 )	1(25.0)
Total	25	17(68.0)	16(64.0)	7(28.0)	2( 8.0)	9(36.0)

\* RN: Registered nurse, MD: Medical doctor, NA: nurse's aide, HA: Hospital assistant

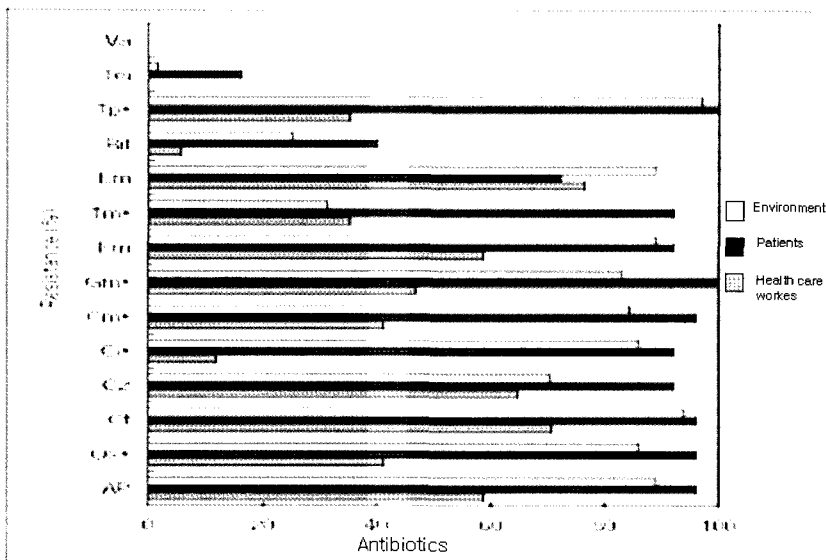


<Figure 1> Daily colonization rates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the tracheostomy patients without/after intubation

는 1일째 MRSA가 나타나지 않았다. 그러나 2일째부터는 MRSA가 검출되었는데, 2일째 15명, 3일째 20명, 4일째 19명, 5일째 20명이 나타났다.

### 항생제 내성 검사

각 25명의 의료인의 비강, 기관절개환자의 기관절개내관, 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경에서 검출된 황색포도알균에 대한 Oxacillin을 비롯한 14종의 항생제 내성검사 결과는 <Figure 2>과 같다. Oxacillin 내성이 있는 황색포도알균은 의료인41.1%, 기관절개환자 96.0%, 환경 85.9%가 내성을 나타내었으며, 의료인과 기관절개환자에서 통계적으로 유의한 관계를 보였다(P<.0001). vancomycin 내성은 의료인,



<Figure 2> Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from health care workers nasal carriers, tracheal cannula site in the patients, and environments of neurosurgical intensive care unit

\* P<.0001: P value by  $\chi^2$ -test for the significant difference in drug resistance among health care workers, colonized patients, and environment

Ap: ampicillin, Ox: oxacillin, Ct: cefotaxim, Cz: cefotazole, Ci: ciprofloxacin, Cm: chloramphenicol, Gm: gentamicin, Km: kanamycin, Tm: tobramycin, Em: erythromycin, Rif: rifampin, Tp: trimethoprim, Tei: teicoplanin, Va: vancomycin

기관절개환자 및 환경 모두에게 나타나지 않았다.

**의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경 오염률**

중환자실 청소를 하기 전에 기관절개환자가 사용한 물품의 환경을 검사한 결과는 <Table 3>와 같다. 총 94주 가운데 27주(28.7%)에서 MRSA가 분리되었으며, 그 가운데 25주의 흡인용 컵 중에서는 23주(92.0%)에서 MRSA가 분리되었다.

<Table 3> Isolation of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from contaminated environments in neurosurgical intensive care unit

Environment	No. of specimens	No. of S. aureus (%)	No. of MRSA (%)
Bedside rail	5	5(100)	0( 0 )
Bedside table	5	5(100)	1(20.0)
Computer keyboard	1	1(100)	0( 0 )
Dressing cart	2	2(100)	0( 0 )
Humidifier	5	0( 0 )	0( 0 )
3-way stopcock in IV	25	0( 0 )	0( 0 )
IV pole	4	4(100)	0( 0 )
Sphygmomanometer	5	5(100)	0( 0 )
Suction of the cup	25	25(100)	23(92.0)
Telephone	4	4(100)	0( 0 )
Thermometer	6	6(100)	1(16.6)
Treatment table for nurse	2	2(100)	1(50.0)
Window bar	5	5(100)	1(20.0)
Total	94	64(68.0)	27(28.7)

**DNA분석에 의한 유전자형과 유전자염기서열분석**

● 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경 DNA분석  
중환자실 청소를 하기 전에 기관절개환자가 사용한 물품의 환경에 대한 DNA분석결과는 <Table 4>와 같다. 기관절개환자가 사용한 흡인용 컵 25주 중 23주에서 MRSA가 나타났으며, 23주에 대한 유전자유형을 분석한 결과 SCCmec type IIa는 17주, SCCmec type III는 6주으로 나타났다.

23건의 유전자유형에 대한 염기서열을 분석한 결과 spaA type t002는 17주, spaA type t037은 6주으로 나타나 두 가지 유형이 같은 양상을 보였다.

● 의료인과 기관절개환자의 DNA분석

의료인과 기관절개환자의 multiplex PCR에 의한 DNA분석 결과는 <Table 5>과 같이 의료인에 있어서는 유전자가 검출된 7명 가운데 SCCmec type IIa는 4명, SCCmec type III는 3명으로 나타났고, 기관절개환자에 있어서는 SCCmec type IIa는 17명, SCCmec type III는 7명으로 나타났다.

또한 의료인에 있어서 유전자가 검출된 7명 가운데 spaA type t002는 4명, spaA type t037은 3명으로 나타났고, 기관절개환자에 있어서는 spaA type t002는 17명, spaA type t037은 7명으로 나타나 두 가지 유형이 같은 양상을 보였다.

**논 의**

본 연구는 유전자형 분석에 의한 신경외과중환자실의 메티

<Table 4> Genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from contaminated environments in neurosurgical intensive care unit

Specimen	No. of MRSA isolates	SCCmec type	spaA type
Thermometer (n=6)	1	IIA	26-23-17-34-17-20-17-12-17-16(t002)
Window bar (n=5)	1	IIA	26-23-17-34-17-20-17-12-17-16(t002)
Suction of the cup (n=25)	17	IIA	26-23-17-34-17-20-17-12-17-16(t002)
	6	III	15-12-16-02-25-17-24(t037)
Bedside table (n=5)	1	III	15-12-16-02-25-17-24(t037)
Treatment table for nurses(n=2)	1	III	15-12-16-02-25-17-24(t037)

<Table 5> Comparison of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) genotypes isolated from health care workers nares, cannular sites of tracheostomy patients, and environments in Neurosurgical Intensive Care Unit

SCCmec type	spaA type	No. of MRSA isolates		
		Health care workers nares (n=7)	Cannulaer sites in patients (n=24)	Environments (n=43)
I	-	0	0	0
II	-	0	0	0
IIA	6-23-17-34-17-20-17-12-17-16(t002)	4	17	19
III	15-12-16-02-25-17-24(t037)	3	7	8
IV	-	0	0	0

실린 내성 황색포도알균의 전파 양상을 통하여 병원감염의 현황과 균의 전파경로를 밝혀 병원감염을 예방하며 발생을 줄일 수 있는 효과적인 감염환자 간호의 대책을 수립하기 위한 기초 자료를 제공하고자 시도되었다.

D시내에 소재한 한 종합병원 신경외과중환자실의 직원 25명에서 MRSA 보균자 조사를 실시한 결과, 손에서 간호사 11.7%, 비강에서는 간호사 35.2%, 병원보조원 25%의 분리율을 나타내었고, 간호사 17명 중 2명은 손과 비강에서 동시에 분리되었다.

Cho와 Paik(1994)의 MRSA의 분리율 및 의료인의 보균율에 대한 연구에서 환자의 검체로부터 분리한 MRSA의 빈도는 57%였고 의료인의 보균자 조사에서는 환자를 직접 접하는 의료인군의 비강에서 MRSA 분리빈도는 11건으로 분리된 *Staphylococcus aureus* 중 78.6%, 손은 7%였지만, 환자를 직접 접하지 않는 의료인 군에서의 비강과 손에서는 각각 35.1%와 21.6%의 *Staphylococcus aureus*가 분리되었다. Oh 등(2001)의 메티실린 내성 황색포도알균 유행발생시 병원직원들에 대한 보균자 실태 및 유행차단효과 연구에서 환자를 직접 접촉하는 병원직원들에게서 일시적인 비강내 MRSA 보균상태는 10.8%로 나타났다. 이러한 결과는 손을 통해 환자와 직접 접촉하는 의료인의 보균율이 높은 본 연구결과와 일치한다.

또한 Youn 등(2002)의 연구에서도 172명의 의료인 및 병원 직원(의사 49명, 간호사 88명, 물리치료사 1명, 간호보조원 21명, 간호실습생 9명, 간병인 2명, 미화원 2명)에서 검체를 채취하여 vancomycin-resistant *enterococci*(VRE)를 분리한 검사결과 4명에서 VRE가 분리되어 2.3%의 보균율을 나타내었고, 환경청소를 하기 전에 실시한 환자가 사용한 물품 및 환경 455주를 검사한 결과 38.4%에서 VRE가 분리되었다.

본 연구에서도 환경청소를 하기 전에 기관절개환자가 사용한 물품 94주를 검사한 결과 28.4%에서 MRSA가 분리되었다. 이러한 사실은 기관절개환자와 직접 접촉하는 의료인의 감염 경로를 보여주고 있다. 따라서 원내 감염을 줄이는 최선의 방법은 기관절개환자에 의하여 의료인이 감염되는 것을 방지하고 또 이미 감염된 의료인 보균자에 의한 균의 전파를 방지하는 것이다.

본 연구에서는 의료인 25명과 기관절개환자 25명에서 검출된 황색포도알균주에 대한 oxacillin을 비롯한 14종의 항생제 내성검사 결과, oxacillin 내성이 있는 황색포도알균은 의료인에서는 41.1%, 기관절개환자에서는 96.0%로 나타났다.

최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정 에 의한 oxacillin 감수성 양상에 관한 연구결과(Woo et al, 2000), 총 90개의 균주 중 87균주(96.7%)에서 oxacillin 내성을 나타냈는데, 이러한 사실은 본 연구 결과와 일치한다.

중환자실 청소를 하기 전에 기관절개환자가 사용한 물품의

환경, 중환자실 의료인과 기관절개환자에서 분리된 MRSA에 대하여 DNA분석을 실시하였다. 먼저, 중환자실 청소를 하기 전에 기관절개환자가 사용한 흡인용 컵 25주 가운데 23주에서 MRSA가 나타났으며, 23주에 대한 유전자유형을 분석한 결과 SCCmec type IIa는 17주, SCCmec type III는 6주로 나타났다. 이러한 23주의 유전자유형에 대한 염기서열을 분석한 결과 spaA type t002는 17주, spaA type t037은 6주로 나타나 두 가지 유형이 같은 양상을 보였다.

중환자실 의료인과 기관절개환자에서 검출된 MRSA의 4가지 유전자유형을 분석한 결과 SCCmec type IIa는 의료인이 4명, 기관절개환자가 17명으로 나타났고, SCCmec type III는 의료인이 3명, 기관절개환자가 7명으로 나타나 의료인과 기관절개환자가 같은 양상을 보였다.

또한 MRSA 염기서열분석 결과 spaA type t002는 의료인이 4명, 기관절개환자가 17명, spaA type t037은 의료인이 3명, 기관절개환자는 7명으로 나타나 마찬가지로 의료인과 기관절개환자가 같은 양상을 보였다.

본 연구결과는 광주, 전남지역의 4개 병원에서 분리된 *Staphylococcus aureus* 균주에 대한 DNA분석법과 PFGE (pulsed-field gel electrophoresis)를 시행한 결과 다수의 균주가 40.2%와 30.5% 등 두 가지 유형의 연구결과(Kim et al., 1997)와도 일치한다.

이러한 결과로 미루어 볼 때 중환자실내의 감염전파경로는 MRSA 보균자인 기관절개환자로부터 의료인에게 전파되어 의료인의 손이나 비강 등에 보균상태로 있다가 다른 기관절개환자에게 MRSA를 전파시키는 것으로 추정된다. 따라서 중환자실의 감염률을 줄이는 최선의 방법은 병원감염의 감시체계를 확립하여 의료종사자들의 교육과 함께 의료인들이 손을 자주 씻는 등의 자기 위생관리를 철저히 하는 것이라 하겠다.

## 결론

본 연구는 유전자형 분석에 의한 신경외과중환자실의 MRSA 전파 양상을 통하여 병원감염의 현황과 전파경로를 밝히고자 D시내에 소재한 1개 종합병원의 신경외과 중환자실에서 입원한 기관절개환자와 중환자실에서 근무하는 의료인 중 2004년 12월 1일부터 2005년 11월 5일까지 각각 연구에 동의한 25명을 대상으로 하였다.

연구의 결과는 다음과 같다. 신경외과중환자실의 직원 25명에서 MRSA 보균자 조사를 실시한 결과, 간호사 17명 가운데 손에서 11.7%, 비강에서 35.2%, 병원보조원은 25%가 분리되었으며, 간호사 중 2명은 손과 비강에서 동시에 분리되었다. 기관절개환자 25명을 대상으로 경과일수에 따라 기관내관부위에서 MRSA가 검출된 기관절개환자수를 측정한 결과, 1일



째 2명이 검출되었으며, 2일째 17명, 3일째 22명, 4일째 21명, 5일째 22명이 검출되었다. 의료인 25명과 기관절개환자 25명에서 검출된 황색포도알균을 Oxacillin을 비롯한 14종에 대한 항생제 내성검사 결과, Oxacillin 내성이 있는 황색포도알균은 의료인 41.1%, 기관절개환자 96.0% 환경 85.9%가 내성을 나타내었다.

중환자실 청소를 하기 전에 기관절개환자가 사용한 물품의 환경 94주를 검사한 결과 28.7%에서 MRSA가 분리되었는데, 그 가운데 25주의 흡인용 컵 중 92.0%에서 MRSA가 분리되었다. 의료인과 기관절개환자가 사용한 물품의 환경에 대한 Multiplex PCR분석 결과, 기관절개환자가 사용한 흡인용 컵 25주 가운데 23주에서 MRSA가 나타났으며, 유전자유형을 분석한 결과 SCCmec type IIA는 17주, SCCmec type III는 6주으로 나타났고, 유전자염기서열을 분석은 spaA type t002는 17주, spaA type t037은 6주으로 드러났다. 또한, 중환자실 의료인과 기관절개환자에서 검출된 MRSA의 유전자유형을 분석은 의료인 7명 가운데 SCCmec type IIA는 4명, SCCmec type III는 3명으로 나타났고, 기관절개환자 24명 가운데 SCCmec type IIA는 17명, SCCmec type III는 7명으로 나타났고, MRSA 유전자 염기서열 분석은 의료인 7명 가운데 spaA type t002는 4명, spaA type t037은 3명으로 나타났고, 기관절개환자 24명 가운데 spaA type t002는 17명, spaA type t037은 7명으로 나타났다.

이상의 연구결과로 살펴볼 때, 신경외과중환자실에서 MRSA 전파는 의료인과 기관절개환자 사이에 교차전파에 의하여 발생한다는 것을 확인할 수 있었으며, 의료인과 오염된 의료기구나 환경에서도 동일한 유전자형과 유전자염기서열이 나타나는 것으로 보아 의료인, 기관절개환자, 환경간의 교차전파로 확인이 가능하였다.

## References

- Cho, H. S. (2000). *A study on the level of recognition and performance of the clinical nurses about the prevention of nosocomial infection*. Unpublished master's thesis, Soonchunhyang University, Chungnam.
- Cho, H. S., & Yoo, K. H. (2001). A study on the level of recognition and performance of the clinical nurses about the prevention of nosocomial infection. *J Korean Occupational Health Nurs*, 10(1), 5-23.
- Cho, C. R., & Paik, I. K. (1994). The isolation rate of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients and hospital personnels. *Inje Medical Journal*, 15(3), 439-443.
- Cheong, H. J., Kim, W. J., Kim, M. J., Park, S. C., & Cho, K. H. (1995). A prospective study on nosocomial infection in the intensive care unit. *Infection*, 27(2), 105-117.
- Dietrich, E. S., Demmler, M., Schulgen, G., Fekec, K., & Mast, O. (2002). Nosocomial pneumonia: A cost-of-illness analysis. *Infection*, 30, 61-67.
- Hartstein, A. I., Denny, M. A., Morthland, V. H., LeMonte, A. M., & Pfaller, M. A. (1995). Control of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in hospital and an intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 16, 405-411.
- Hee, K. S., Young, S. B., & Yong, H. K. (2004). The epidemiological survey of nasal colonization of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in patients and doctors. *J Exp Biomed Sci*, 10, 309-315.
- Kim, S. M., Lee, H., Peck, K. L., Song, J. H., Yang, J. w., Jin, J. H., Pae, H. J., Oh, M. D., & Choe, K. W. (1997). Genetic relatedness of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from 3 different hospital in Korea. *Infection*, 29(6), 453-462.
- Korean society for nosocomial infection control (1996). *Infection control guideline*. Seoul: Medicine Publication Inc.
- Lee, J. S., Park, O., Woo, H. J., Jung, H. J., Kim, W. J., Kim, M. J., & Park, S. C. (2001). A longitudinal molecular epidemiologic study of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a university hospital. *infection*, 33(1), 32-40.
- Lee, M. A., Kang, E. S., Hong, K. S., & Chung, W. S. (1999). Molecular epidemiology of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak by plasmid restriction analysis. *Korean J Clin Microbiol*, 2(2), 125-130.
- Lee, W. R. (2004). *Molecular epidemiology of infections diseases. principles and practices*, Washington, 249-271.
- Marilyn, C., Gordon, K., Herminia, L., & Alexander, T. (2004). International clones of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in two hospitals in Minami Florida. *J Clinlcal Microbiology*, 42(2), 542-547.
- Oh, H. S., Lee, S. E., Kim, E. C., Lee, H. J., Oh, M. D., & Choe, K. W. (2001). Health care workers' nasal carriage and outbreak control of epidemic Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection*, 33(3), 194-201.
- Park, Y. S., & Shin, W. S. (2004). Multiplex PCR for rapid detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Kwandong Medical Journal*, 8(2), 23-32.
- Sohn, Y. H. (1995). A study of literature of the hospital infection control. *J Korean Funda Nurs*, 2(1), 213-227.
- Song, M. S. (2001). *A study on the level of recognition and performance of the clinical nurses about the management of noscomial infection control*. Unpublished master's thesis, Dankook University, Cheonan.
- Song, W. K., Lee, T. J., Kim, S. J., Park, M. J., & Lee, K. M. (2001). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in intensive care unit patients: Relation to nasal carriage of patients or ICU personnels. *Korean J Clin Microbiol*, 4(1), 45-51.
- Song, J. H. (1996). Prevention and management of infection for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nosocomial Infection control*, 1, 73-83.
- Trindade, P. A., McCulloch, J. A., Oliveira, G. A., &

- Mamizuka, E. M. (2003). Molecular techniques for MRSA typing: Current issues and perspectives. *Journal of Infectious Diseases*, 7(1), 32-43.
- Youn, S. W., Kim, Y. S., Peck, K. L., Cho, H. L., Oh, W. S., Jung, S. Y., Kim Y. S., Kim, S. M., Lee, J. H., Lee, M. Y., & Song, J. H. (2002). The effects of nosocomial infection control for Vancomycin-resistant *Enterococci* from a university hospital. *Infection*, 34(2), 81-88.
- Yoo, M. S., Ban, K. O., & Yoo, I. Y. (2002). Recognition, self and objective evaluations of nosocomial respiratory infection control practices by ICU nurses. *J Korean Funda Nurs*, 9(3), 349-359.
- Woo, H. Y., Lee, N. Y., Maeng, S. H., Han, S. H., Ihn, K. S., Kim S. W., Seong S. Y., Kim, I. S., & Choi, M. S. (2000). Molecular epidemiological study and analysis of genomic diversity of mec regulator genes in mecA positive Methicillin-resistant *staphylococci*. *J Korean Soc Chemother*, 18(3), 335-354.
- Jeong, J. S. (2003). *The effect of hand washing improving programs on the adherence of hand washing and nosocomial infections in a surgical intensive care unit*. Unpublished doctoral dissertation, Seoul National University, Seoul.