

서식환경에 따른 황색포도구균의 항균제감수성 및 Phage형별의 차이

경북대학교 의과대학 미생물학교실 · 계명대학교 의과대학 마취과학교실*

조동택 · 이유철 · 김진모*

= Abstract =

Variation of Antimicrobial Susceptibility and Phage Types of *Staphylococcus aureus* Derived from Different Environmental Sources

Dong-Taek Cho, Yoo-Chul Lee and Jin-Mo Kim*

Department of Microbiology, Kyungpook National University, School of Medicine
Department of Anesthesiology, Keimyung University Medical College, Taegu, Korea

A total of 211 strains of *Staphylococcus aureus* which included 118 strains isolated from various clinical specimens of admitted patients of University Hospital with systemic or severe cases of infection and 93 strains from infected skin diseases of out-patients of dermatology clinic located in rural area, were tested for the antimicrobial susceptibility to the 12 drugs of common use and the phage typing. All these were subjected to the study of plasmid profile analysis for the molecular epidemiology of nosocomial infections.

University Hospital(UH) isolates showed higher frequency of resistance than local clinic(LC) isolates against 10 drugs excluding tetracycline(Tc), and trimethoprim(Tp).

The MIC of UH isolates were above than 128 μ g/ml against 9 drugs except Tc, gentamicin(Gm), and Tp, but LC isolates did not show such a high level of MIC.

There was difference of MIC needed to inhibit 90% of strains(MIC90) against each drugs tested between two groups of UH and LC isolates. UH isolates showed 2 to 4 times higher value of MIC90 by two-fold serial dilution of drug concentration than LC isolates.

Tp was considered as an effective drug in treatment of staphylococcal infections whereas ampicillin and Gm were appeared to be ineffective.

Seventy-three strains(61.9%) of UH isolates and 70(69.9%) of LC were typable with phages from Colindale Reference Laboratory. The prevailing phage type of UH isolates belonged to lytic group III were 27 strains(22.9%) and those of LC isolates belonged to lytic group II were 23 strains(24.7%).

Thirteen strains(11.0%) of UH isolates were multiply resistant to more than 5 drugs to 10 drugs but none of LC isolates.

Through the lysis method of Kado and Liu followed by agarose gel electrophoresis, none of 211 strains showed plasmid profile. These results were confirmed by re-examination through the method of Birnboim and Doly.

서 론

서식환경에 따라 균은 다소의 변이를 나타내는데 대표적인 예를 들면 항균제로 충만된 병원환경에서

유래된 포도구균은 타환경집단의 건강인 피부의 정상균총을 구성하는 것과는 항균제감수성에 있어서 차이를 보일 수 있다. 그중 황색포도구균은 단순한 피부화농의 원인균에서부터 심각한 전신적인 질환 일례로 패혈증 같은 중증감염의 원인균이 될 수도

있다¹⁾. 따라서 황색포도구균은 유발할 수 있는 질병의 종류와 심각성의 정도에 수반된 항균제 선택의 어려움을 고려하면 단순하게 취급되어서는 아니되나, 현재는 맹목적인 항균제 치료에 과잉의존하는 타성때문에 의료인들의 관심밖으로 밀려나 있다. Gram양성인 포도상구균으로 황색의 집락형태를 보인다는 사실 이외에는 뚜렷한 생물학적 성상이나 혈청학적 성상으로 확실히 구별할 수 있는 자세한 분류방법은 별 의미가 없으므로 역학적인 자료라고는 phage 형별 외에는 표지가 될만한 자료가 없다. 그러나 phage 형별에 따른 항균제감수성의 차이를 비교하면 황색포도구균의 유래를 추적할 수 있는 합리적인 근거를 찾을 수 있다.

외과적인 제수술의 술후경과에 있어서 균의 감염에 의한 합병증이 미치는 영향을 무시할 수 없다. 더욱이 첨단의학분야인 장기이식이나 악성 종양의 화학요법이나 방사선요법으로 면역기능이 저하된 환자의 상태때문에 발생하는 기회감염에 대한 적절한 대응책이 그 치료의 성패를 좌우할 수 있다²⁾. 이들 술후 창상감염이나 기회감염의 원인균의 상당수는 병원환경에서 유래되었을 가능성이 있으므로 원내감염은 첨단의학의 필수품 그 중요성이 크다고 할 수 있다. 이들 병원내 감염의 자세한 역학적인 규명에 필요한 체계적인 조사를 시도한다는 것은 현재의 여건으로는 어렵다. 이는 기술적인 한계성 때문이 아니라 병원당국의 대외적인 체면관계가 개입된 결과 병원내감염의 자세한 실태에 관한 공개를 기피하고 비밀에 붙여두고자 하는 나쁜의 제약 때문에 기초자료조차 얻기 힘든 실정에 비롯된다. 관심있는 대학병원에서 원내감염의 대책을 담당하는 소위 원회³⁾ 있으나 미생물학의 해당분야 전문인이 가담되어 학술적인 업무를 수행할 수 있는 여건이 못되고 위면수습이나 하고자 하는 구성원으로 조직되어 있는 예도 볼 수 있다. 항균제의 사용빈도가 높기 때문에 병원환경은 타조건에 비해서 내성균이 출현할 가능성이 큰것은 분명한 사실이지만⁴⁾ 내성균의 빈도나 내성양상에 관한 구체적인 자료는 전무하므로 막연한 추측에 그치고 있다. 따라서 감염증이 원내감염이라고 단정한 경우조차 찾기가 힘들다. 구미제국에서는 이들 원내감염에 관한 역학적인 조사방법이 수립되어 단순한 균종의 동정이 아니라 분자생물학적인 방법으로 결정적인 단서를 얻는 molecular epidemiology가 등장하여서 우리의 학문적 현실과 다른 차원의 양상을 보이고 있다.^{5, 6, 7, 80, 31, 32)}

우리나라가 구미제국에 비해서 항균제 남용의 실태가 두드러진 일례로 의사의 처방없이 항균제를

자유로이 구입 복용할 수 있는 제도적인 문제가 지적되어 왔으나 그 외에도 의료인들의 항균제 사용에도 많은 문제점이 거론되어야만 한다. 농촌지역에 소재하는 피부과 전문의원의 피부감염증 환자에서 분리된 균과 종합병원의 중증감염에서 분리된 균의 내성균의 빈도와 내성양상을 비교하면 항균제의 사용빈도나 선호도를 간접적으로 알 수 있다. 저자들은 황색포도구균을 대상으로 phage 형별에 따른 내성성적을 결부시켜 내성균의 환경에 따른 빈도나 양상의 차이점을 조사하여 균의 유래를 파악하려는 역학적인 기본자료를 얻고자 하였으며 이들 항균제 내성이 R. plasmid에 의한 것인가를 규명하기 위해 plasmid DNA의 profile을 조사하였다.

재료 및 방법

조사 대상

1983년 1월부터 12월 사이에 대구시내 대학병원 입원환자로부터 채취하여 본교실에 검사의뢰된 각종 임상감염물로부터 황색포도구균을 분리하였고 동일기간 대구도심으로부터 24km 떨어진 농촌지역인 경북 칠곡군 소재의 피부과 전문의원에 내원한 농촌주민으로 각종 피부감염증을 가진 외래환자 148 명으로부터 균을 분리하였다.

균분리 및 동정

혈액한천배지 상에 도말배양된 황색의 집락을 보인 균주를 택하여 Gram염색, coagulase test 등의 생물학적 성상검사를 하였다⁸⁾. Coagulase test는 시험관법으로 실시하여 양성인 것은 mannitol 발효검사, catalase 산생능, 용혈성 등의 성상을^{8, 9)} 검사하여 확정된 118주의 대학병원분리균과 93주의 농촌지역분리균을 추후의 실험에 공시하였다.

항균제감수성검사

평판회석법에 의하여 실시하였다^{6, 10)}. 사용항균제는 penicillin-G(Pc), ampicillin(Ap), methicillin (Mt), cephalothin(Clt), cefotaxime(Cft), moxalactam (Mx), clindamycin(Cld), chloramphenicol(Cm), tetracycline(Tc), gentamicin(Gm), amikacin(Ak) 및 trimethoprim(Tp)의 12종을 공시하였다. 약제함유배지는 종전에 기술한 방법에 따라 제조하여 사용하였다. 내성균의 판정은 NCCLS(National committee for clinical laboratory standard, U.S.A.)의 기준에 근거하였으며¹¹⁾ 농도결정에 필요한 대조균들은 ATCC (American type culture and collection)의 표준균주들(Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia

coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853)을 이용하였다.

Bacteriophage형 검사

본 실험에 사용한 phage 증식용 표준균주와 phage는 영국 London의 Colindale Reference Laboratory로부터 분양받았다. Phage 55, 71, 53, 95, 96은 broth 증식법으로 그외의 phage들은 soft agar 증식법으로 증식시켰다. 증식된 phage 용액은 routine test dilution(RTD)를 확인한 후 소분하여 -70°C의 deep freezer에 보존하여 두고 필요시 사용하였다. Phage typing은 RTD와 100×RTD의 두 농도의 phage 용액으로 실시하였는데 용균반(plaque)이 50개 이상 혹은 완전용균인 것을 +로 하고, 용균반이 20-50개인 것은 +로 하였다¹²⁾.

Plasmid Profile 분석

Plasmid DNA의 용균추출은 Kado 및 Liu의 방법¹³⁾ 약간 수정하여 실시하였으며 전기영동으로 plasmid DNA가 나타나지 않았을 경우 Birnboim 및 Doly의 방법으로¹⁴⁾ 재차 확인하였다. Plasmid의 전기영동은 0.7% agarose gel을 사용하여 vertical slab gel과 horizontal gel을 병용하였다¹⁵⁾. Plasmid DNA의 visualization은 ethidium bromide로 염색된 gel을 TR 302(spectroline) UV transilluminator 상에서 Polaroid MP4 camera와 black and white land film(No. 665)를 사용하여 촬영하였다⁵⁾. 이때 control DNA는 기지분자량의 plasmid를 7개 이상 가지고 있는 *Escherichia coli*의 plasmid와 F' Kan(63Md), R1033(45Md), RP4(34Md), R6K(26Md), AP201(8.7Md), pSC101(5.8Md) 및 pBR 322(2.6 Md)

성 적

대학병원 입원환자의 각종 가검물에서 도합 118주를 분리하였고 그들중 창상감염에서 가장 많은 83주(70.3%)를 분리하였다. 농촌지역소재의 피부과 전문의원의 외래환자로부터 분리된 균주가 93주이고 그중 Dermatitis Eczema의 감염예에서 34주(36.6%)로서 가장 많이 분리하였고 그 다음으로는 Tinea pedis에서 21주(22.6%)가 분리되었다(Table 1). 대학병원에서 의뢰된 가검물은 대체로 중증감염의 경우였고 피부과의원 외래환자는 기존의 피부질환에서 이차감염된 예가 많았다.

Penicillin등의 β -lactam 제제 및 cephalosporin 계열의 약제로서 최근 많이 사용되는 수종의 약제를 비롯한 12종의 항균제에 대한 내성균의 분리빈도를 두 유래균 군별로 비교하였다(Table 2). 대학병원 입원환자에서 분리된 균주들이 농촌지역 피부감염증의 환자에서 분리된 균주들에 비해서 내성균의 분리빈도가 Tc 및 Tp를 제외하고는 전반적으로 높았다. 특히 최근에 빈번히 사용되기 시작한 각종 cephalosporin 제제와 Ak에 대한 내성균의 분리는 농촌지역 환자군에서는 없었으나 대학병원 입원환자군에서는 상당수가 분리되었다. 그러나 Tp에 대한 내성주는 대학병원 입원환자군에서는 없었다.

내성균 분리빈도의 단순한 성적을 보다 구체적으로 파악하기 위해서 MIC 농도별로 균주수의 분포를 유래군별로 대조시켜 정리하였다(Table 3). 대학병원 입원환자 유래균(UH)과 농촌 외래환자 유래균

Table 1. *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens

University hospital		Local clinic*	
Source	No. of strains	Source	No. of strains
Wound discharge	83	Furuncle	18
Blood	10	Folliculitis	7
Pleural fluid	9	Impetigo	5
Sputum	4	Dermatitis eczema	34
Cerebrospinal fluid	4	Tinea pedis	21
Ascitic fluid	1	Ulcer	4
Synovial fluid	1	Scabies	1
Urine	6	Burn	2
		Epidemolysis bullosa	1
Total	118		93

*Dermatology clinic of chilgok town located in rural area.

(LC)의 12종 약제에 대한 MIC 성적을 보면 Tc, Gm 및 Tp 3제를 제외하고는 9종의 약제 모두에서 128 μ g/ml 이상의 MIC를 보인 균주가 UH군에서만 볼 수 있었고 LC군에서는 없었다.

90% 이상의 균주를 억제하는 항균제의 농도 MIC 90%와 50% 이상의 균주를 억제하는 MIC50%를 각 약제별로 두군 사이의 성적을 비교하면 현저한 차이가 있음을 알게 되었다. Table 3을 근거로

Table 2. Isolation frequency of drug resistant *Staphylococcus aureus*

Drug ^a	MIC criteria ^b	No. (%) of sresistant strains	
		University hospital (UH) (N=118)	Local clinic(LC) (N= 93)
Pc	>16 ^c	14 (11.9)	2 (2.2)
Ap	>16	16 (13.6)	1 (1.1)
Mt	> 8	13 (11.0)	1 (1.1)
Clt	>16	6 (5.1)	0
Cft	>32	5 (4.2)	0
Mx	>32	6 (5.1)	0
Cld	> 4	6 (5.1)	4 (4.3)
Cm	>16	34 (28.8)	15 (16.1)
Tc	> 8	82 (69.5)	82 (88.2)
Gm	> 8	51 (43.2)	36 (38.7)
Ak	>32	9 (7.6)	0
Tp	> 8	0	1 (1.1)

^aAbbreviation: See text, ^bAccording to NCCLS, ^c μ g/ml.

Table 3. MIC distribution of *Staphylococcus aureus*

Drug	Source	No. of strains inhibited at MIC(μ g/ml)													
		>256	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	<0.125
Pc	UH ^a	0	1	1	8	4	5	10	6	7	17	34	11	1	13
	LC	0	0	0	0	2	2	2	12	9	23	14	10	3	16
Ap	UH	1	8	3	1	3	8	12	35	24	10	6	7	0	0
	LC	0	0	0	1	0	3	7	3	21	23	17	4	2	12
Mt	UH	0	4	1	2	3	3	1	1	2	96	5	1	0	0
	LC	0	0	0	0	1	0	0	0	45	47	0	0	0	0
Clt	UH	0	0	1	5	0	4	1	0	1	1	5	67	18	15
	LC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	41	48	2	0
Cft	UH	0	0	4	1	2	2	4	0	39	63	2	0	0	1
	LC	0	0	0	0	0	0	0	4	82	7	0	0	0	0
Mx	UH	0	0	5	1	5	2	12	90	2	0	0	0	1	0
	LC	0	0	0	0	0	1	81	11	0	0	0	0	0	0
Cld	UH	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0	4	91	4	0
	LC	0	0	0	0	0	4	0	1	1	2	83	2	0	0
Cm	UH	1	0	23	10	1	1	79	2	0	0	0	0	0	0
	LC	0	0	0	5	10	11	10	52	11	2	0	0	2	0
Tc	UH	0	3	7	12	60	2	2	0	0	0	0	23	3	6
	LC	0	3	2	42	24	11	0	0	0	0	8	3	0	0
Gm	UH	14	2	9	14	10	3	4	0	0	2	42	14	1	3
	LC	0	2	5	8	12	9	2	0	1	8	30	15	1	0
Ak	UH	0	3	3	3	7	1	3	16	15	53	14	0	0	0
	LC	0	0	0	0	2	0	7	12	37	35	0	0	0	0
Tp	UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	79	33	0	0
	LC	1	0	0	0	0	0	1	1	5	39	40	6	0	0

^a UH; university hospital, LC; local clinic.

정리한 성적을 보면(Table 4), MIC90은 Ap의 경우에서처럼 4 단계 이상의 2배 희석농도 차이로 대학병원분리균이 높게 나타났다. Tc와 Tp 두 약제를 제외하고는 MIC90%의 약제농도는 최고 4단계, 최소 2 단계의 2배 희석농도의 차이로서 대학병원 분리균이 높게 나타난 것으로 보아서 균의 서식 환경에 따라 항균제에 대한 감수성의 차이를 뚜렷이 알 수 있었다.

대학병원분리균은 61.9%가 phage형별이 가능하였고 농촌지역분리균에서는 69.9%가 phage 형별이 가능하여서 전체적으로 67.8%가 형별이 가능하였다. Phage형별이 가능하였던 73주의 대학병원분리

균과 70주의 농촌지역분리균의 phage형의 Lytic group(이하 phage군)별로 보면 대학병원분리균은 III phage군이 22.8%로 가장 많았는데 비해서 농촌지역분리균은 II phage군이 가장 많이(24.7%) 분리되었다(Table 5). 전체적으로 보면 II군과 III군의 차이는 거의 없었다. II군과 III군을 제외한 기타의 phage군은 대학병원분리균과 농촌지역분리균 사이에 뚜렷한 차이가 없었다.

Phage군에 따른 내성균의 분리빈도를 12종 약제별로 정리하였다(Table 6). 농촌지역분리주에 비해 대학병원분리주가 상대적으로 많이 속해 있는 III phage군의 12약제에 대한 내성빈도는 평균 20.67%

Table 4. Comparison of antimicrobial activity of drugs on *Staphylococcus aureus* isolated from University Hospital (UH) and Local Clinic (LC)

Drug	MIC(μ g/ml) needed to inhibit			
	90% of strains		50% of strains	
	UH	LC	UH	LC
Pc	32	4	0.5	0.25
Ap	128	8	4	0.5
Mt	16	2	2	1
Clt	2	0.5	0.25	0.25
Cft	8	2	1	—
Mx	16	8	4	—
Cld	8	0.5	0.25	—
Cm	64	32	4	4
Tc	64	64	32	32
Gm	256	64	0.5	0.5
Ak	32	4	1	1
Tp	0.5	1	0.5	0.5

Table 5. Bacteriophage types of *Staphylococcus aureus*

Lytic group	Phage type	UH		LC	
		No. of strains	Subtotal(%)	No. of strains	Subtotal (%)
I	29/80	0		4	
	52	0		1	
	52/80	2		0	
	52/79/80	1		0	
	80/81	0	3 (2.5)	1	6 (6.5)
II	3A	1		9	
	3C	5		1	
	55	1		0	
	55/71	3		0	
	71	1		1	
	3C/71	2		0	
	3A/3C	1		9	
	3A/55	1		0	
	3A/71	1		1	
	3C/55/71	1	17 (14.4)	2	23 (24.7)

Table 5. Continued

Lytic group	Phage type	UH		LC	
		No. of strains	Subtotal(%)	No. of strains	Subtotal(%)
III	75	5		2	
	85	2		2	
	75/25	3		0	
	54/75	2		0	
	47/54/75	2		0	
	47/54/75/77/85	1		0	
	42E	2		0	
	42E/53	0		1	
	42E/75	1		1	
	42E/47/54/75	1		0	
	53	1		0	
	53/75	1		0	
	84/85	0		1	
	54/75/77	1		0	
	53/54/75	0		2	
	47/75/85	1		0	
	47/53/54/75/85	0		1	
	54/75/85	1		0	
	53/85	1		0	
	42E/75/77	1		0	
	75/77	1		0	
	47/54/75/77/83A/85	0	27 (22.8)	2	12 (12.9)
	Miscellaneous				
	81	5		2	
	81/95	0		1	
	94/96	7		5	
	95	2		0	
	96	2		6	
	94/95	1		0	
	81/96	0		1	
	95/96	0		1	
	94/95/96	1	18 (15.3)	0	16 (17.2)
Mixed					
	80/75	0		1	
	80/81	5		0	
	3C/81	1		0	
	42E/96	0		1	
	85/96	0		1	
	85/81/96	0		3	
	3A/3C/96	0		1	
	3A/42E/54/96	1		0	
	42E/29/85/52/52A	1		0	
	3A/42E/54/75/81/96	0	8 (6.8)	1	8 (8.6)
Untypable		45	(38.1)	23	(30.1)
Total		118	(100)	93	(100)

로서 농촌지역분리주가 많이 속해 있는 II phage 군의 평균 9.93%보다 높게 나타났다. Table 5와

Table 6을 종합하면 대학병원분리주는 중증환자에서 분리되었고 농촌지역분리주는 피부화농의 경한

Table 6. Isolation frequency of drug resistant *Staphylococcus aureus* by phage group

Drug	Source	No. (%) of resistant strains by lytic group					
		I	II	III	Miscellaneous	Mixed	Untypable
Pc	UH	0	0	12(44.4)	1(5.6)	0	1(2.2)
	LC	0	0	0	2(12.5)	0	0
Ap	UH	0	0	13(48.1)	3(16.7)	0	0
	LC	0	0	0	1(6.3)	0	0
Mt	UH	0	0	13(48.1)	0	0	0
	LC	0	0	0	0	0	1(3.6)
Clt	UH	0	0	6(22.2)	0	0	0
	LC	0	0	0	0	0	0
Cft	UH	0	0	5(18.5)	0	0	0
	LC	0	0	0	0	0	0
Mx	UH	0	0	6(22.2)	0	0	0
	LC	0	0	0	0	0	0
Cld	UH	0	1(5.8)	2(7.4)	0	1(12.5)	2(4.4)
	LC	0	2(8.7)	0	0	0	2(7.1)
Cm	UH	0	9(52.9)	13(48.1)	0	1(12.5)	11(24.4)
	LC	0	3(13.0)	0	0	1(12.5)	3(10.7)
Tc	UH	3(100)	9(52.9)	25(92.6)	11(16.1)	6(75.6)	31(68.9)
	LC	6(100)	6(26.1)	2(16.7)	4(25.0)	2(25.0)	8(28.6)
Gm	UH	0	9(52.9)	21(77.8)	3(16.7)	2(25.0)	16(35.6)
	LC	2(33.3)	6(26.1)	2(16.7)	1(6.3)	2(25.0)	4(14.3)
Ak	UH	0	0	9(33.3)	0	0	0
	LC	0	0	0	0	0	0
Tp	UH	0	0	0	0	0	0
	LC	0	0	0	0	0	1(3.6)
Total	UH	3(100)	17(100)	27(100)	18(100)	8(100)	45(100)
	LC	6(100)	23(100)	12(100)	16(100)	8(100)	28(100)

감염증에서 대부분 분리되었으므로 피부감염을 주로 일으키는 황색포도구균의 phage형은 II군이 상대적으로 많고 항균제 내성빈도도 중증감염에서 많이 분리된 III phage군에 비해 낮게 나타났다.

대학병원분리균과 농촌지역분리균의 약제내성양상을 Table 7과 Table 8로 나타내었다. 10제이상 중복내성을 나타낸 3주를 비롯하여 5제이상 중복내성을 나타내는 균주가 대학병원분리주는 도합 13주(11.0%)였으나 농촌지역분리균에서는 한 주도 없었다. 4제이상 중복내성을 가진 균주는 대학병원분리균이 17주(14.4%)였음에 비해 농촌지역분리균은 2주(2.2%)에 지나지 않았다. 대학병원분리균주 중에서 3제 이상 중복내성인 35주 가운데 18주(51.4%)가 III phage군이었고 반면에 농촌지역분리균은 3제 이상 중복내성인 15주 중 9주(60.0%)가 II phage군이였다.

도합 211주 전부를 Kado 및 Liu의 방법으로 용균하여 agarose gel을 이용한 전기영동방법으로 pl-

asmid를 조사하였으나 plasmid가 없어서 재차 Birnboim 및 Doly의 방법으로 용균하여 확인하였으나 내성균이든 감수성균이든 모두에서 plasmid를 볼 수 없었다(Fig. 1). 따라서 이들 내성은 R plasmid와는 무관한 염색체성 내성으로 생각된다.

고 찰

우리나라의 항균제 남용실태의 한 예로서 의사의 처방없이도 누구나가 항균제를 구입 복용할 수 있는 의료제도상의 문제점이 자주 거론되어 왔으나¹⁶⁾ 의료계 자체내에서 항균제 사용을 맹목적으로 하거나 과잉의존하는 점은 크게 지적되지 않고 있다. 내성균의 분리빈도는 해당 약제의 사용빈도를 반영하고 특히 새로 개발된 항균제에 대한 내성균의 년도별 증가추세는 그 구체적인 증거라고 할 수 있다. 내성균의 만연 원인이 국민들이 의사처방 없이도 항균제를 남용할 수 있는 의료제도의 탓으로만 돌

Table 7. Drug resistance patterns and phage types of *Staphylococcus aureus* isolated in University Hospital

Multiplicity of resistance	Resistance pattern	No. of strains by lytic group						Total
		I	II	III	Miscellaneous	Mixed	Untypable	
10	PcApMtClcCftMxCmGmAkTc	0	0	3	0	0	0	1
9	PcApMtClcCftMxCmGmAkTc	0	0	1	0	0	0	1
8	PcApMtClcCmGmAkTc	0	0	1	0	0	0	1
	PcApMtMxCmGmAkTc	0	0	1	0	0	0	1
	ApMtClcCftMxCmGmTc	0	0	1	0	0	0	1
7	PcApMtCmGmAkTc	0	0	1	0	0	0	1
6	PcApMtCldGmTc	0	0	2	0	0	0	2
	PcApMtGmAkTc	0	0	1	0	0	0	1
5	PcApMtGmTc	0	0	1	0	0	0	1
	MtCmGmAkTc	0	0	1	0	0	0	1
4	PcCmGmTc	0	0	1	0	0	0	1
	ApCmGmTc	0	0	1	0	0	0	1
	CldCmGmTc	0	0	0	0	1	1	2
3	CmGmTc	0	5	3	0	0	7	15
	PcApTc	0	0	0	1	0	0	1
	CldCmGm	0	1	0	0	0	1	2
2	GmTc	0	1	3	1	1	1	7
	CmGm	0	2	0	0	0	1	3
	CmTc	0	1	0	0	0	0	1
	ApTc	0	0	0	1	0	0	1
1	Tc	3	2	4	9	3	21	42
	Gm	0	0	1	2	0	5	8
	Cm	0	0	0	0	0	1	1
	Ap	0	0	0	1	0	0	1
0	—	0	5	1	4	2	7	19
Total		3	17	27	19	7	49	118

Table 8. Drug resistance patterns and phage types of *Staphylococcus aureus* isolated in local clinic

Multiplicity of resistance	Resistance pattern	No. of strains by lytic group						Total
		I	II	III	Miscellaneous	Mixed	Untypable	
4	Gm Tc Cm Cld	0	1	0	0	0	1	2
3	Gm Tc Cm	0	7	0	0	1	3	11
	Gm Tc Cld	0	1	0	0	0	0	1
	Pc Ap Tc	0	0	0	1	0	0	1
2	Gm Tc	3	4	4	4	0	4	19
	Gm Cm	0	1	0	0	0	0	1
	Pc Tc	0	0	0	1	0	0	1
	Mt Tc	0	0	0	0	0	1	1
	Tc Cld	0	0	0	0	0	1	1
	Tp Tc	0	0	0	0	0	1	1
1	Gm	0	0	1	0	1	0	2
	Tc	3	7	7	9	4	15	45
0	—	0	2	0	1	2	2	7
Total		6	23	12	16	8	28	93

Fig. 1. Legend of figure 1. An example of plasmid profile analysis *Staphylococcus aureus* (0.7% agarose gel electrophoresis, 60mA, and 4 hours electrophoresis). Lysates were prepared by the method of Kado and Liu. C, Control: plasmid profile of *E. coli* strain which carries more than 7 plasmids of known molecular weight. Chr, chromosomal DNA band.

리고 의사를 비롯한 의료계 자체에는 책임이 없을까? 그러나 어느쪽에 더 큰 책임이 있을 것이라고 명확히 규명할 수 있는 근거는 드물다. 화농성 원인균으로서 황색포도구균은 피부 정상균총의 일원으로 상재할 수 있으므로^{18, 19, 32)} 이 균종을 대상으로 항균제 감수성과 phage형별 검사 성적을 조사하면 이들 균이 서식했던 환경에 따른 내성균의 분리빈도를 보아서 소정 항균제의 사용실태를 알 수 있다. 대학병원 입원환자에서 분리된 황색포도구균들과 동일시기에 농촌지역에 소재한 피부과 전문의원에 내원한 각종 피부감염 질환을 가진 환자에서 분리된 균주들과의 항균제 감수성과 phage형을 토대로 비교하면 내성균의 만연실태가 어떤 요인에 의해서 더 큰 영향을 받았는가를 추론할 수 있다. 그리고 대학병원 같은 종합병원에 상존하는 균들은 각종 원내감염이나 기회감염의 원인균이 될 수 있으므로 고급의료기술을 시혜하여야 하는 의료기관이 내성균의 분리빈도가 오히려 더 높은 환경이라면, 균의 합병증 유무가 치료의 성패를 가늠하는 무균처치가 필수적인 악성종양환자의 치료나 장기이식 등의 첨예화된 수술이 정착하기에는 부적합한 조건이다. 내성균 분리빈도만을 비교한 성적은 너무 피상적인 자료이지만 Tc와 Tp를 제외하고 9종 약제에 대해서

대학병원분리균이 내성빈도가 높은 것은 항균제의 사용이 많은 환경에서 내성균만이 선택적으로 살아남게 된 당연한 결과이다. 그러나 cephalosporin제제와 Ak에 대한 내성균의 빈도가 해마다 증가하였음에 비해 더 오래전부터 소개된 Tp에 대해서는 내성균의 분리빈도가 낮은 것은 항균제 선택의 선호도에 기인된 것으로 사료되는 특기할 사실이다. In vitro의 성적과 in vivo의 성적이 서로 다르듯이 임상적인 실제효과와 감수성 성적이 일치하지 않을수 있겠으나 포도구균 감염증의 치료에 Tp를 고려하지 않았던 경향이 있었을 것으로 의심된다. 항균제감수성검사서 Disc방법에 의한 감수성 혹은 내성으로 판정하기에는 애매한 경우가 있다. 왜냐하면 내성균이라고 판정하는 근거가 되는 하한농도와 감수성균이라고 규정하는 상한농도사이에는 큰 간격이 있기 때문이다. 따라서 최근 쿠미제국에서 이러한 점을 개선하기 위해 소정의 percent의 균이 발육억제되는 항균제의 농도로서 표시하는 방법이 널리쓰이고 있다. 예를 들어 90%의 균주를 억제하는 최소농도 MIC90의 약제농도를 $\mu\text{g/ml}$ 로 표시하는 것이다. 본 실험에서 얻어진 이 방법에 의한 대학병원분리균의 성적을 보면 황색포도구균감염에는 Ap와 Gm은 효력이 의심되는 약제이고 cephalosporin제제와 Tp들은 MIC90의 농도가 내성치의 기준농도보다 훨씬 낮았으므로 좋은 항균제로 생각된다. 황색포도구균의 phage형별은 대체로 60-80%의 균주가 형별이 가능하다고 보고되고 있으며^{20, 21, 22)} 본 실험에서도 67.8%가 형별이 가능하였다. 형별이 안되는 균주들은 자외선을 이용해서 lysogeny strain을 induction시키면 phage형을 알 수 있는 것들이 일부 있을 수 있으므로 연자에 따라 차이가 난다고 할 수 있다. 병독성이 높아서 전신감염이나 중증을 유발하는 균주들은 III phage군에 많고 피부감염을 주로 일으키는 것은 II군이 많다는^{23, 24)} 종래의 보고와 본 실험성적은 일치한다고 보며 큰 차이는 볼수 없었다. MIC90의 약제농도를 근거로 비교하면 phage형별에 관계없이 전체적으로 보아 대학병원분리균이 농촌지역분리균에 비해 내성이 높게 나타났다. 이는 대학병원분리균이 점유한 III phage군이 농촌지역분리균이 점유한 II phage군과 크게 차이가 나지 않으므로 대학병원의 환경에는 항균제 내성이 많이 서식하고 이들 균주는 원내감염의 원인균으로서의 가능성을 갖고있다고 하겠다.

β -lactam항균제에 대한 포도구균의 내성전달기전은 Bacteriophage가 신속주에 감염될때 R. plasmid가 형질도입(transduction)이 된다고 알려져 있으나^{25, 26, 29)} 최근에는 이들 R. plasmid가 균체간에 접

합에 의해, Gram 음성 장제세균에서 보편적으로 일어나고 있는 방식과 같은 양상으로 전달된다는 보고도 있다^{27, 28, 33, 34}. 황색포도구균에서 약제내성이 Bacteriophage에 의해 형질도입현상으로 전달된다는 권동²³의 보고도 있었으나 우선 이 내성이 plasmid DNA상에 있었는지 chromosomal DNA에 위치하였는지는 확인할 수 없었다. 본 연구에서는 실험방법을 바꿔가며 재확인 하였으나 211주의 황색포도구균 모두에서 plasmid를 볼 수 없었다. 따라서 황색포도구균의 항균제 내성은 chromosomal DNA에 기인된 것으로 사료된다.

결 론

1984년 1월부터 12월 사이에 대학병원 입원환자에서 118주를, 농촌지역의 피부감염증환자에서 93주의 황색포도구균을 분리하여 항균제감수성검사와 phage형별 및 plasmid DNA의 존재를 조사하였다.

대학병원분리균이 Tc와 Tp를 제외한 10종의 항균제에 대한 내성빈도가 농촌지역분리균보다 높았다.

Tc, Gm 및 Tp를 제외한 9종의 약제에 대해서 대학병원분리균은 MIC가 128 μ g/ml 이상인 균주가 있었으나 농촌지역분리균에서는 없었다.

각 약제의 MIC90의 농도를 두가지 유래균별로 비교하면 대학병원분리균의 농도가 농촌지역분리균에 비해 최고 4단계에서 최소 2단계까지 2배회석농도의 차이로서 높게 나타났다.

Tp는 황색포도구균에 우수한 효력이 있는 것으로 나타났는 반면에 Ap와 Gm은 대학병원분리균에는 효과가 없는 것으로 나타났다.

대학병원분리균 73주(61.9%)와 농촌지역분리균 70주(69.9%)가 phage형별이 가능하였다. 전신적인 혹은 중증감염의 환자에서 주로 분리된 대학병원분리균은 phage군이 III군이 22.8%로서 가장 많았고 가벼운 피부감염증에서 분리된 농촌지역분리균은 phage군이 II군(24.7%)이 가장 많았다.

대학병원분리균은 5제이상 10제의 약제에 중복내성을 가진 균주가 13주(11.0%)였으나 농촌지역분리균에서는 없었다.

211주의 황색포도구균 전부를 용균시켜 plasmid DNA의 존재를 조사하였으나 plasmid를 갖고 있는 균주는 없었다.

참 고 문 헌

1) Joklik WK, Willet HP and Amos DB: Zinsser

Microbiology, 18 ed. Appleton-Century Crofts, New Jersey pp. 443-462, 1984.

- 2) Rutala WA, Katz EBS and Sarubbi FZ: Environmental study of a methicillin-resistant staphylococcus aureus epidemic in a burn unit. *J. Clin. Microbiol.* 18: 663-668, 1983.
- 3) 병원연보 : 제 2 호, 경북대학교 의과대학부속병원 p. 29, 1983.
- 4) O'Brein TF, Ross DG, Gutzman MA, Medeiros AA, Hedges RW and Bostein D: Dissemination of an antibiotic resistance plasmid in hospital patients flora. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 17: 537-543, 1980.
- 5) 조동택 : Plasmid분석에 의한 원내감염의 역학적조사. *대한화학요법학회지* 2(2): 76-86, 1984.
- 6) Farrar WE Jr.: Investigation of nosocomial infection by plasmid analysis. *Clin. Investigative Med.* 6: 213-220, 1983.
- 7) Farrar WE Jr.: Evolution among antibiotic resistance plasmids in hospital environment. *In molecular Biology, Pathogenecity, and Ecology of Bacterial plasmids.* Edited by Levy, S.B. et al. Plenum press, New York, 1981.
- 8) Lennette EM et al: Manual of Clinical Microbiology. 3ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp. 83-87, 1980.
- 9) Koneman EW et al: Diagnostic Microbiology. 2 ed. J.B. Lippincott. Co., Philadelphia pp.257-300, 1983.
- 10) Steers E and Graves BS: Inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemother.* 9: 307-311, 1959.
- 11) Thornsbery G: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova pp. 1-91, 1983.
- 12) Colindale Laboratory: Routine phage typing of *Staphylococcus aureus*. Staphylococcus Reference Laboratory, London pp. 1-7, 1980.
- 13) Kado CI and Liu ST: Rapid Procedure for detection and Isolation of large and small plasmid. *J. Bacteriol.* 145: 1365-1373, 1981.
- 14) Birnboim H and Doly J: Alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA *Nucl. Acid Research* 7: 1513-1523, 1979.

- 15) Meyers J, Sanchez D, Elwell LP and Falkow S: A simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. *J. Bacteriol* **127**: 1529-1537, 1967.
- 16) 조동택 : 항균제 내성기전. 대한화학요법학회지 **1**(2): 190-198, 1983.
- 17) 조동택 : 배장균의 항균제내성 및 전달성 R. *Plasmid*. 대한미생물학회지 **17**: 21-34, 1982.
- 18) Moscella SL and Hurley HJ: *Dermatology*, 2nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia pp. 590-642, 1985.
- 19) Jawetz E, Melnick JL and Adelberg EA: Review of medical microbiology, 16th ed. Lange medical publication, Los Altos pp. 152-160, 1984.
- 20) 전도기 : 포도구균과 bacteriophage typing. 현대의학 **7**: 109-113, 1967.
- 21) 권영철, 서민호, 이유헌, 설성용, 조동택, 전도기 : 포도구균의 phage 형 및 항균제내성. 대한화학요법학회지 **1**: 75-82, 1983.
- 22) 박현교 : 포도구균의 생물학적성상과 phage 균의 상관성. 현대의학 **7**: 43-52, 1967.
- 23) Chun D: Bacteriophage typing of staphylococcus in Korea. *Endemic Disease Bulletin of Nagasaki University*, **8**: 74-84, 1966.
- 24) 변동길 : 농피증의 병원균에 관한 연구. 중앙의학 **9**: 735-758, 1965.
- 25) Foster TJ: Plasmid-determined resistance to drugs and toxic metal ions in bacteria. *Mircobiol. Rev.* **47**: 361-409, 1983.
- 26) Korman RZ and Berman DT: Genetic transduction with staphylophage. *J. Bacteriol.* **84**: 228-236, 1962.
- 27) McDonnell RW, Sweeney HM and Cohen S: Conjugational transfer of gentamicin resistance plasmids intra-and interspecifically in *S. aureus* and *S. epidermidis*. *Antimicrob. Agents. Chemother* **23**: 151-160, 1983.
- 28) Forbes BA and Schaberg DR: Transfer of resistance plasmids from *S. aureus* to *S. epidermidis*. *J. Bacteriol.* **153**: 627-634, 1983.
- 29) Haller I: Importance of extracellular and cell bound β -lactamase in mediating resistance of *S. aureus* to mezlocillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**: 125-127, 1984.
- 30) Tennent JM, May JW and Skurray RA: Multiple Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*: Plasmids in Strains associated with nosocomial infections. *Pathology* **16**: 250-255, 1984.
- 31) Gillespie MT, May JW and Skurray RA: Antibiotic susceptibility and plasmid profiles of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A retrospective study. *J. Med. Microbil.* **17**: 295-310, 1984.
- 32) Krisa PJ and Flournoy DJ: Infrequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the skin of hospitalized patients. *IRCS Med. Sci.* **12**: 877-878, 1984.
- 33) Kreutz B and Friedrich Götz: Construction of *Staphylococcus* plasmid vector pCA 43 conferring resistance to chloramphenicol, arsenate, arsenite, and antimony. *Gene* **31**: 301-304, 1984.
- 34) Naidoo J: Interspecific co-transfer of antibiotic resistance plasmids in Staphylococci in vivo. *J. Hygiene (Camb)* **93**: 59-66, 1984.