

## Methicillin 내성 포도구균의 PCR에 의한 *mecA* 유전자 분포 조사

원광보건대학 임상병리과

이 규 식\*

**국문초록:** 본 연구는 methicillin 내성 *Staphylococcus aureus* (MRSA)에 특이적인 유전자인 *mecA* 유전자를 검출하기 위하여 전라북도의 두 병원에서 황색포도상구균 31주를 분리하였다. 이중 penicillin에 내성인 20균주를 디스크 확산법을 이용하여 methicillin, oxacillin, ampicillin, vancomycin, penicillin에 대한 다약제 내성 성상을 확인하였고, 중합효소 연쇄반응 (PCR)을 이용하여 *mecA* 유전자를 확인하였다. 디스크 확산법을 실시한 결과 methicillin 내성균주는 20균주 중 10주 (50%)였다. Methicillin에 내성인 10균주를 PCR법으로 확인한 결과 7주에서 554 bp의 DNA 증폭이 관찰되어 *mecA* 유전자가 존재함을 확인하였다.

MRSA의 methicillin에 대한 내성은 페니실린 결합단백질 (penicillin binding protein, PBP)의 변형에 의하여 PBP-2'을 발현하는 *mecA* 유전자에 의해 생성된다<sup>3,5,6,7</sup>. 본 실험에서는 디스크 확산법으로 MRSA 균주를 감별한 후, PCR을 실시하여 *mecA* 유전자의 존재를 확인하고 디스크 확산법의 결과와 비교하여 보았다.

1998년 6월 20일부터 7월 10일 사이에 전라북도의 두 병원에 산재한 시설물에서 채취한 시료를 mannitol salt agar에 접종하고 *Staphylococcus aureus* 31주를 분리하였다. 분리균주 중 penicillin 감수성 시험에서 중등도 또는 내성을 나타내는 *S. aureus*로 확인된 20균주를 실험대상균주로 사용하였다.

MRSA를 확인하기 위한 항균제 감수성 검사 시험은 디스크 확산법을 이용하여 methicillin, oxacillin, ampicillin, penicillin, erythromycin, vancomycin, gentamicin에 대한 증식 억제대를 측정하였다. 항생제에 대한 감수성 실험 결과 methicillin에 내성을 나타내는 균주는 10주, oxacillin에 내성을 나타내는 균주는 12주, penicillin에 내성인 균주는 10주였다. 그리고 실험균주의 다약제 내성을 살펴

보면 vancomycin를 제외한 6가지 항균제에 모두 내성인 균주는 2주, 5가지 항균제에 내성인 것은 5주, 3가지 항균제에 내성인 것은 1주, 2가지 항균제에 내성인 것은 각 1주, 1가지 항균제에만 내성을 나타내는 균주는 methicillin에 1주, oxacillin에 2주였다.

MRSA에 특이적인 *mecA*<sup>1,2,4,7,8</sup> 유전자를 검출하기 위한 중합효소 연쇄반응은 primer MR1 (5'-ATGAGATTAGGCATCGTTCC-3')과 MR2 (5'-TGGA-TGACAGTACCTGATCC-3')를 이용하여 *staphylococcus* 시료 DNA 3 µl에 10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 40 mM KCl, 2 U DNA polymerase, primer 20 pmol, 10 mM dNTP를 첨가한 후 최종 반응하는 양이 20 µl이 되도록 멸균 증류수를 첨가하여 thermal cycler에서 30 cycles을 수행하였다. 증폭된 DNA를 확인하기 위하여 1.2% agarose gel에서 전기 영동한 뒤 ethidium bromide용액으로 염색하여 554 bp 크기의 DNA band를 확인하였다.

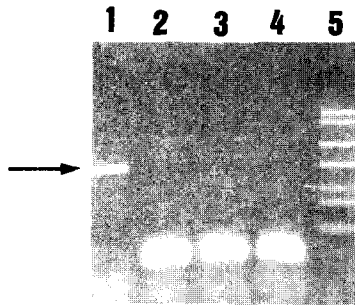
표준균주인 *S. aureus* ATCC 25923와 대조군으로 methicillin에 감수성인 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*를 사용하여 PCR을 시행한 결과 *S. aureus* ATCC 25923에서는 554 bp의 증폭 DNA를 확인할 수 있었지만, 대조군에서는 DNA 증폭물을 확인할 수 없었다 (Fig. 1). 디스크 확산법을 통해 MRSA로 확인된 10균주를 이와 같은 조건

\* 논문 접수: 1998년 12월 4일

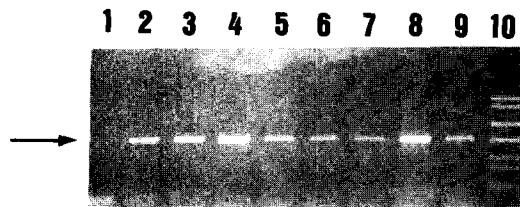
수정재접수: 1999년 4월 15일

† 별책 요청 저자

\* 이 논문은 원광보건대학 교내 연구비로 연구하였음.



**Fig. 1.** Agarose gel electrophoretic patterns of PCR products of 4 different staphylococcal strains with *mecA* primer set. Lane 1, *S. aureus* ATCC 25923; lane 2, methicillin susceptible *S. aureus*; lane 3, *S. epidermidis*; lane 4, *S. saprophyticus*; lane 5, DNA size marker. The amplification products of 554 bps were identified only in methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 25923 (lane 1).



**Fig. 2.** Agarose gel electrophoretic patterns of PCR products with isolated strains of methicillin-resistant *S. aureus*. Lane 1, negative control; lane 2, *S. aureus*; lanes 3 to 9, clinical isolates; lane 10, DNA size marker.

으로 PCR을 실시하여 증폭된 DNA를 1.2% agarose gel에서 전기 영동한 뒤 ethidium bromide용액으로 염색하여 확인한 결과 7주에서 554 bp의 PCR 증폭 DNA band를 확인할 수 있었다 (Fig. 2).

### 참 고 문 헌

1) 김경숙, 정운섭, 권오현, 이삼열 (1983): Mech-

cillin 내성 포도구균의 유포도와 그 항생제 감수성. 대한병리학회지, **17**: 32-37.

- 2) 류지환, 고득영, 최혜원, 이영길 (1995): 임상 검체에서 분리된 MRSA 검출법과 항생제 감수성 검사의 상관. 임상병리검사학회지, **27(1)**: 46-52.
- 3) Hartman BJ and Tomsz A (1984): Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, **158**: 513-516.
- 4) Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, and Watanabe S (1991): Identification methicillin resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, **29(10)**: 2240-2244.
- 5) Reynolds PE (1985): Inhibitors of bacterial cell wall synthesis. *Symp Soc Gen Microbiol*, **38**: 13-40.
- 6) Song MD, Wachi M, Doi F, Ishino F and Matsuashi M (1987): Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. *FEBS Lett*, **221(1)**: 167-171.
- 7) Teraoka H and Watanabe S (1991): Identification methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, **29(10)**: 2240-2244.
- 8) Ubukata K, Yamashita N, and Konno M (1985): Occurrence of a beta-lactam-inducible Penicillin binding protein in methicillin-resistant staphylococci. *Antimicro Agents Chemother*, **27(5)**: 851-857.

=Abstract=

**Studies on the Distribution of *mecA* Gene in Methicillin-resistant  
*Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction**

Gyu-Sik Lee<sup>†</sup>

*Department of Clinical Pathology, Wonkwang Health Science College,  
Iksan, Chonbuk, 570-750, Korea*

In order to investigate epidemiological characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), 31 strains of *Staphylococcus aureus* were isolated from the equipments of two hospitals in Chonbuk. And their antimicrobial resistance patterns against 7 kinds of antimicrobial agents and the identification of MRSA by polymerase chain reaction (PCR) were studied. Seven strains among 10 strains of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* showed 554 bp DNA which was a part of *mecA* gene in PCR analysis.

**Key Words:** *Staphylococcus aureus*, MRSA, PCR

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 5(1): 131-133, June, 1999]

---

<sup>†</sup> Corresponding author