

Antibiotic Resistance Patterns of *Staphylococcus aureus* and Methicillin Resistant *S. aureus* Isolated from the Specimen of Elementary School Students

Tae-Un Kim[†], Dae-Hyun Kim and Yun-Tae Kim

Department of Clinical Laboratory Science, College of Health Sciences,
Catholic University of Pusan, Busan 609-757, Korea

Staphylococcus aureus is a major cause of nosocomial infections and is one of the most commonly isolated bacterial species in the hospital and continues to be an important pathogen in both community and hospital-acquired infection. Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), which is associated with hospitals is now being isolated in the community. The purpose of this study is to investigate the carrier rate of *S. aureus* in the community, antibiotic resistance patterns of the organism, detection of MRSA and *mecA* gene in MRSA. Ninety strains (46.4%) of *S. aureus* were isolated from the nasal specimens of 194 elementary school students. Eighty-nine strains (98.9%) of 90 *S. aureus* were resistant to penicillin, 36 strains (40.0%) to erythromycin, 14 strains (15.6%) to fusidic acid, 11 strains (12.2%) to gentamycin, 9 strains (10.0%) to tobramycin, 5 strains (5.6%) to oxacillin, 4 strains (4.4%) to clindamycin, 2 strains (2.2%) to tetracycline, 1 strains (1.1%) to fosfomycin. None of 90 (0%) *S. aureus* isolates was resistant to ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, nitrofurantoin, norfloxacin, rifampicin, quinupristin/dalfopristin, teicoplanin, and vancomycin. Five strains (5.6%) of 90 *S. aureus* isolates were MRSA. The *mecA* gene was detected from five MRSA strains by PCR.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, Antibiotic susceptibility test, Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), *mecA* gene

서 론

황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)은 응고인자 (clumping factor), 장관독소 (enterotoxins), 표피박탈독소 (exfoliative toxins), 백혈구 사멸독 (leukocidin), 핵산분해효소 (DNase), 용혈독 (hemolysin), 페니실린분해효소 (penicillinase), protein A 등 많은 균체 외 물질을 생성함으로써 포도상구균 속 중 에서 가장 강한 병원성을 보인다. Coagulase 양성 황색포도상 구균은 사람에게 기회감염균으로 잘 알려져 있으며 이 균에 의한 원내감염은 이환율과 사망률의 주된 원인이 되고 있다 (Murray et al., 1999). *S. aureus*에 의하여 발생되는 심한 감염 은 균혈증, 폐렴, 골수염, 급성심내막염, 심근염, 심막염, 대 뇌염, 수막염과 근육, 비뇨기계, 중추신경계의 농양이나 또 한 장독소에 의한 식중독 등이 있다. 또한 지역사회획득감염

인 독성충증후군도 일으킨다 (Musser et al., 1990). 원내감염 균의 중요한 문제 중의 하나는 항생제의 남용 등으로 인한 내성이 야기된다는 것인데, 이미 병원에 입원한 환자로부터 분리되는 균주뿐만 아니라 건강한 사람에게서 분리되는 균 주들에서도 페니실린에 높은 저항성을 나타내는 *S. aureus*가 분리되고 있다는 보고가 있어 *S. aureus*도 역시 항생제 내성 에 관한 문제에서 예외가 아니다 (Kim et al., 1999). 항생제 내성을 가진 *S. aureus* 중 가장 큰 문제로 인식되고 있는 것이 penicillin 계열의 항생제인 methicillin에 내성을 가진 황색 포도상구균 (MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*)이다. MRSA 는 1960년대부터 분리되기 시작했는데, 주된 병원감염과 유행병의 문제로 대두되기 시작했다. 지금은 병원내의 어디에 서나 분리되고 있는 실정으로 사회적으로 심각한 문제가 되 고 있다. 따라서 MRSA가 병원에서 퍼져나가는 것을 통제할 필요가 강하게 제기되고 있다 (Boyce et al., 1991). Astagneau (2000)에 의하면 프랑스에서는 1996년에 *S. aureus* 중 MRSA 가 57%가 된다고 보고하였다. 최근 임상검체에서 분리되는 균주들에서는 60% 이상이라고 보고되고 있고, 이는 혈액검 체뿐만 아니라 다른 검체에서 분리되는 균주들에서도 비슷 하게 나타나 임상적으로 큰 문제로 인식되고 있다 (Kim et

*논문 접수: 2005년 11월 15일

수정재접수: 2005년 11월 30일

[†]교신저자: 김태운, (우) 609-757 부산광역시 금정구 부곡3동 9번지, 부산가톨릭대학교 보건과학대학 임상병리학과

Tel: 051-510-0562, Fax: 051-510-0568

e-mail: tukim@cup.ac.kr

al., 2000; Takashi et al., 2004). MRSA가 가진 중요한 문제점은 methicillin 뿐만 아니라 다른 약제에도 내성을 나타내는 다제내성을 보유하고 있다는 것이다 (Wielders et al., 2002). 더욱이 심각한 문제는 다제내성을 보유한 균주는 극히 제한된 항생제에서만 치료가 가능하다는 점이다. β -lactam제제에 대한 내성은 PBP와 β -lactam제제와의 친화력을 낮추게 되면 발생하게 되는데, MRSA의 경우는 β -lactam제제와 친화력이 낮은 PBP2a를 생성하며, PBP2a는 MRSA의 염색체에 있는 *mecA* 유전자에서 유래한다. 따라서, *mecA* 유전자를 보유한 균주는 penicillin, cephalosporin, carbapenem, monobactam 등 거의 모든 β -lactam제제에 내성을 나타내게 된다 (Felten et al., 2002; Hirofumi et al., 2003). 이와 같이 MRSA는 강한 병원성뿐만 아니라 여러 가지 항생제에 내성을 나타내어 치료에 어려움을 주면서, 원내감염을 유발하는 병원균 중 가장 빈번히 나타나는 원인균이며, 면역력이 약한 환자나 노약자에게는 치명적으로 작용할 수 있는 균주이기 때문에 더욱 심각한 문제라고 할 수 있다. MRSA 균주에 의한 감염은 원래 보건의료시설에서 나타나는 것으로 알려졌지만 원외 지역사회에서도 감염으로 나타나고 있다 (Herold et al., 1998).

우리나라에서도 Kim and Hwang의 보고 (2003)에 의하면 지역사회의 초등학생의 검체에서 분리한 MRSA 분리율은 5.2%였다. 특히, 병원환자 이외에도 지역사회 사람에게서도 분리가 된다고 볼 때 초등학교에서부터 대학에 이르는 학교 뿐만 아니라, 여러 직장 등 단체생활을 하는 사람들로 부터 이 세균의 감염을 사전에 예방하는 것이 무엇보다도 중요하다 (Gialluly et al., 2003; Kim et al., 2003). 본 연구에서는 이러한 중요성을 감안하여 단체생활을 하는 부산시내 일부 초등학교 학생의 비강검체에서 황색포도상구균을 분리·동정하여 그 보고율을 알아보고, 항생제 감수성 시험을 토대로 선행 연구 결과 (Kim et al., 2000; Kim et al., 2003)와 비교·검토하여 내성률의 변화를 찾아보고, 분리된 *S. aureus* 중 MRSA를 선별하여 *mecA* 유전자의 존재유무도 확인하여 분자생물학적 특성을 파악함으로써 황색포도상구균의 역학적 조사에 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 검체 및 실험균주

검체는 2005년 3월 부산에 있는 G 초등학교에 재학 중인 5학년 남학생 100명, 여학생 94명, 총 194명의 비강에서 채취하였다. 194명의 검체에서 분리 동정된 90개의 *S. aureus*를 실험균주로 사용하였으며, 항생제 감수성 검사와 *mecA* 유전자 시험에는 병원에서 분리한 1균주를 양성 대조균주로 사용하였고, 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 29213을 사용하였다.

2. 배지, 시약 및 키트

실험에 사용한 배지는 보통한천배지, mannitol salt agar (MSA), DNase agar, 면양혈액한천배지 (SBA)였다. PAF-200RP 평판배지 제조에는 bovine fibrinogen (SIGMA), rabbit plasma (BBL), polyethylene glycol 6000 (Hayashi Pure Chemical, Japan) 6-amino-n-caproic acid (SIGMA)를 사용하였다. *S. aureus*의 동정 및 약제 감수성 검사는 VITEK-2 System (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France)으로 시험하였다. *mecA* 유전자 검출에는 DNA 추출용 시약으로 InstaGene™ Matrix (Bio-Rad, USA)를 사용하였다.

3. 배지의 제조

PAF-200RP 배지 제조는 Hwang법 (1989)을 사용하였다. 삼각플라스크에 100 ml에 필요한 BHI 5.2 g을 넣고, 증류수 80 ml로 녹여서 고압증기멸균을 한 후 45°C~50°C에서 식혔다. Petri-dish에 0.85% NaCl 20 ml를 가한 후 6-amino caproic acid 1 g과 polyethylene glycol 0.4 g을 넣고, 잘 섞어서 완전용해한 후에 37°C 부란기에서 10여분 가온하고, bovine fibrinogen 0.2 g을 조금씩 넣으면서 천천히 녹인 후에 37°C에 1시간 방치하여 충분히 녹였다. Millipore filter로 여과를 한 다음 이 여과액에 rabbit plasma 1 ml를 첨가했다. 고압증기멸균하여 45°C로 식힌 BHI 용액과 잘 섞은 후 평판배지를 제조하였다.

4. 황색포도상구균의 분리 동정

1) 세균의 분리

초등학교 학생의 비강에서 채취한 검체를 수송배지 (ASAN, 한국)에 넣어 연구실로 운반하였으며, 이 검체를 보통한천배지에 접종하여 35°C에서 24~48시간 배양한 후 세균을 분리하였다.

2) 황색포도상구균의 선별 시험

(1) Mannitol salt agar (MSA) 시험

MSA 배지를 네임펜으로 구획한 후 보통한천배지에 발육한 집락 중에서 포도상구균으로 예상되는 집락을 백금선에 묻혀서 MSA 배지에 천자하였다. 이 배지를 35°C에서 하룻밤 배양한 후 MSA에서의 발육성과 mannitol 분해능을 관찰하였다. MSA에서 발육하여 황색을 띤 집락을 양성으로 판정하였다.

(2) Coagulase 시험

PAF-200RP 배지를 네임펜으로 구획한 후 각 구획 내에 검체 번호를 써 넣었다. 보통한천배지에 발육한 집락 중에서 포도상구균으로 예상되는 집락을 백금선에 묻힌 후 각각의 구획 내에 천자하였다. 35°C에 10시간 내지 하룻밤 배양한 후 각 집락 주위에 혈장응고대가 나타나는 것을 양성으로

판정하였다.

(3) DNase 시험

MSA 시험에서 집락의 색깔에 관계없이 MSA에 발육한 균을 백금선에 묻힌 후에 DNA 배지에 천자한 후 35°C에 하룻밤 배양하였다. 배양 후에 1N HCl을 배지 전면에 골고루 퍼지도록 붓고 3~5분 후 집락 주위에 투명대를 관찰하고 투명대가 형성된 것을 양성으로 판정하였다.

3) 황색포도상구균의 확인 시험

황색포도상구균으로 선별된 세균을 5% 면양혈액한천배지에 접종하여 35°C에서 하룻밤 배양한 후 VITEK-2 System (Bio-Merieux, Marcy-l'Etoile, France)으로 시험하였다.

5. 항생제 감수성 시험

선별 시험과 확인 시험에서 황색포도상구균으로 동정된 균을 VITEK-2 System (Bio-Merieux, Marcy-l'Etoile, France)을 사용하여 항생제 감수성 시험을 하였다 (Table 1). VITEK-2 System을 이용한 항생제 감수성 시험에서 MRSA로 동정된 세균은 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 기준 (NCCLS, 2004)에 따라서 oxacillin (BBL, Cockeysville, MD., USA)에 대한 감수성을 시험하였다. 그 방법을 요약하면 순수 배양된 집락을 멸균된 trypticase soy broth (TSB, BBL)에 풀어서 McFarland No. 0.5로 탁도를 맞춘 후 Mueller-Hinton 한천 (BBL)에 고르게 접종하였다. 항균제 디스크를 놓은 후 35°C로 24시간 배양했으며, 억제대의 직경을 mm 단위로 측정하였다.

6. MRSA의 *mecA* 유전자 검출

1) DNA 분리 및 보관

시험균주를 TSB 액체배지 (tryptic soy broth)에 접종하고 37°C에서 진탕 배양하였으며, 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 침전물에 InstaGene™ Matrix (Bio-Rad, USA) 200 µl를 넣고 95°C에 10분간 반응 후 10,000 rpm에 15분간 원심분리시킨 후 상등액을 -70°C에 보관하였다. 그리고 다시 10,000 rpm에서 10분간 원심분리시킨 후 상등액을 제거하고, 침전물에 70% alcohol 300 µl를 넣고 가볍게 진도혼합 후 10,000 rpm에 10분간 원심분리 시켰으며, 상등액을 완전히 제거한 다음 건조 후 증류수 50 µl로 녹여 -20°C에 보관하였다.

2) PCR (Polymerase chain reaction)

mecA 유전자 검출을 위하여 forward primer 5'-GGTGAA-GTAGAAATGACTGA-3' reverse primer 5'-CTCATATGCTGT-TCCTGTAT-3'을 사용하였으며, 예상되는 PCR 생성물은 339 bp였다. Oligonucleotides의 제작은 Sin et al., (2005)의 방법에 따랐다. PCR에 사용된 시약은 AccuPower® PCR Premix Kit (BIONEER Co. Ltd. Seoul, Korea)를 사용하였는데, 키트의 시약 조성은 Tris-HCl (pH 9.0) 10 mM, dNTP 250 µM, Taq

Table 1. The different antimicrobial agents and their concentrations

| Antimicrobial agent | Abbreviation | Well cocentration (Dilution µg/mL) |
|-------------------------------|--------------|------------------------------------|
| Benzylpenicillin | peng | 0.125, 0.25, 1 |
| Ciprofloxacin | cip | 1, 2, 4 |
| Clindamycin | cc | 0.5, 1, 2 |
| Erythromycin | e | 0.25, 0.5, 2 |
| Fosfomycin | fos | 8, 32 |
| Fusidic acid | fa | 0.5, 1, 4 |
| Gentamicin | gm | 8, 16, 64 |
| Levofloxacin | lev | 0.25, 2, 8 |
| Linezolid | inz | 0.5, 1, 2 |
| Moxifloxacin | mxfl | 0.25, 2, 8 |
| Nitrofurantoin | ftn | 116, 32, 64 |
| Norfloxacin | nor | 0.5, 1, 4 |
| Oxacillin | ox | 0.5, 1, 2 |
| Quinupristin/Dalfopristin | qda | 0.25, 0.5, 2 |
| Rifampicin | rif | 0.25, 0.5, 2 |
| Teicoplanin | tpn | 1, 4, 8, 16 |
| Tetracycline | tet | 0.5, 1, 2 |
| Tobramycin | tob | 2 |
| Trimethoprim/sulfamethoxazole | sxt | 8/152, 16/304, 32/608 |
| Vancomycin | va | 2, 4, 6 |
| β-lactamase | - | - |

DNA polymerase 1U, KCl 40 mM, MgCl₂ 1.5 mM, stabilizer와 tracking dye이었으며, 여기에 primer (10 pmol) 각각 1 µl, template DNA 8 µl, 3차 증류수 10 µl를 가하여 총량이 20 µl 되게 맞춘 후 사용하였다. PCR 기기는 GeneAmp PCR system 2400 (Perkin Elmer)를 사용하였다. PCR 반응 조건은 predenaturation 94°C에서 5분간 하고 denaturation 94°C에서 30초, annealing 43°C에서 30초, extension 72°C에서 30초로 하여 30 cycle을 중첩하였다. Final extension은 72°C에서 10분으로 하였다. 반응이 끝난 PCR 생성물은 2% agarose gel에서 전기영동한 후 EtBr로 염색하여 UV-transilluminator로 생성분획을 확인하였다.

결 과

1. 황색포도상구균의 검출

본 실험에 참여한 초등학교 남학생과 여학생으로부터 분리된 황색포도상구균의 검출률은 Table 2와 같다. 총 194명의 검체에서 분리된 황색포도상구균은 90주로 46.4%의 보균율을 나타내었다. 남학생과 여학생의 검체에 따른 *S. aureus*의 검출률은 남학생 100명 중 58명 (58.0%)이었으며 여학생의 경우는 94명 중 32명 (34.0%)이었다.

Table 2. Isolation rate of *S. aureus* from elementary school students

| Room | No.(%) of <i>S. aureus</i> isolated | | | | | | | | |
|-------|-------------------------------------|-------------------------|--------------------|----------------|-------------------------|--------------------|----------------|-------------------------|--------------------|
| | Male | | | Female | | | Total | | |
| | No. of samples | No. of <i>S. aureus</i> | Isolation rate (%) | No. of samples | No. of <i>S. aureus</i> | Isolation rate (%) | No. of samples | No. of <i>S. aureus</i> | Isolation rate (%) |
| 1 | 17 | 9 | 52.9 | 17 | 5 | 29.4 | 34 | 14 | 41.2 |
| 2 | 16 | 8 | 50.0 | 17 | 5 | 29.4 | 33 | 13 | 39.4 |
| 3 | 18 | 13 | 72.2 | 15 | 9 | 60.0 | 33 | 22 | 66.7 |
| 4 | 16 | 9 | 56.2 | 15 | 3 | 20.0 | 31 | 12 | 38.7 |
| 5 | 17 | 10 | 58.8 | 15 | 6 | 40.0 | 32 | 16 | 50.0 |
| 6 | 16 | 9 | 56.2 | 15 | 4 | 26.7 | 31 | 13 | 41.9 |
| Total | 100 | 58 | 58.0 | 94 | 32 | 34.0 | 194 | 90 | 46.4 |

Table 3. Results of antimicrobial resistance patterns of *S. aureus* isolated from the specimens of elementary school students

| Antibiotics | No. of resistance (%) | Antibiotics | No. of resistance (%) |
|--------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| Penicillin | 89 (98.9) | Ciprofloxacin | 0 (0) |
| Erythromycin | 36 (40.0) | Levofloxacin | 0 (0) |
| Fusidic acid | 14 (15.6) | Moxifloxacin | 0 (0) |
| Gentamicin | 11 (12.2) | Norfloxacin | 0 (0) |
| Tobramycin | 9 (10.0) | Linezolid | 0 (0) |
| Oxacillin | 5 (5.6) | Nitrofurantoin | 0 (0) |
| Clindamycin | 4 (4.4) | Quinupristin/ Dalfopristin | 0 (0) |
| Tetracycline | 2 (2.2) | Rifampicin | 0 (0) |
| Fosfomycin | 1 (1.1) | Teicoplanin | 0 (0) |
| Vancomycin | 0 (0) | Trimethoprim/ Sulfamethoxazole | 0 (0) |

2. 항생제 감수성

S. aureus 대한 항생제 내성 검사 결과는 Table 3과 같다. 항생제 감수성 시험결과 황색포도상구균으로 동정된 90개 균주는 penicillin에 98.9%, erythromycin 40.0%, fusidic acid 15.6%, gentamicin 12.2%, tobramycin 10.0%, oxacillin 5.6%, clindamycin 4.4%, tetracycline 2.2%, fosfomycin 1.1%, 순으로 내성을 나타내었다. Ciprofloxacin, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, nitrofurantoin, norfloxacin, quinupristin/dalfopristin, rifampicin, teicoplanin, trimethoprim/sulfamethoxazole, vancomycin에는 100%의 감수성을 보였다. Table 4는 분리된 *S. aureus*를 항생제 종류에 따라서 남학생과 여학생별로 나누어 내성률을 나타낸 것이다. 남학생으로부터 분리된 *S. aureus*는 penicillin에 100%의 내성률을 보였다. Oxacillin인 경우 여학생의 검체에서 분리된 *S. aureus*는 6.1%의 내성률을 보인 반면 남학생은 7.0%의 내성률을 보였다. Tobramycin에는 여학생이 6.1% 내성률을 보인 반면 남학생이 10.5%의 내성률로 높게

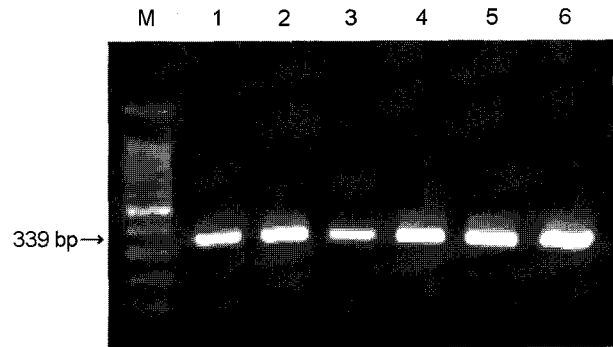


Fig. 1. DNA fragments amplified from the *mecA* gene by PCR. Lane M, the marker (100 bp DNA ladder); lane 1 to 5, strain #5046, 5075, 5100, 5106, 5162; lane 6, positive control (clinical isolates). The bands of the size ladder are 339 bp, respectively.

나타났다. Coagulase 양성으로 *S. aureus*로 선별된 90균주는 자동화 분석기 VITEK-2 System에서도 모두 *S. aureus*로 동정되었다. 하지만 coagulase는 음성이었고, DNase와 MSA에서만 양성으로 나온 4 균주는 자동화 분석기에서도 *S. aureus*로 동정되지 않았다.

3. *mecA* 유전자 검출

Oxacillin에 내성을 나타낸 MRSA는 자동화 분석기에서는 90균주 중 6균주였다. 이들 6균주를 oxacillin disk로 disk diffusion method로 실험해 본 결과 5균주가 MRSA로 나타났다. MRSA로 동정된 균주에서 *mecA* 유전자를 확인하기 위하여 PCR을 시행하였다. MRSA 5균주 모두 *mecA* 유전자가 확인되었다 (Fig. 1).

고 찰

초등학교 남학생과 여학생 194명의 검체에서 분리된 *S. aureus*는 90주로 46.4%의 보급율을 나타내었다. 남학생과 여

Table 4. Antibiotic resistance patterns of *S. aureus* isolated from the specimen of elementary school students

| Antimicrobial agent | Male (n=57) | | | Female (n=33) | | | Total (n=90) | | |
|---------------------|-------------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|--------------|-----------|-----------|
| | S (No./%) | I (No./%) | R (No./%) | S (No./%) | I (No./%) | R (No./%) | S (No./%) | I (No./%) | R (No./%) |
| pen | 0 (0.0) | - | 57 (100) | 1 (3.0) | - | 32 (97.0) | 1 (1.1) | - | 89 (98.9) |
| cip | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| cc | 54 (94.7) | - | 3 (5.3) | 32 (97.0) | - | 1 (3.0) | 86 (95.6) | - | 4 (4.4) |
| e | 36 (63.2) | 4 (7.0) | 17 (29.8) | 18 (54.5) | 3 (9.1) | 12 (36.4) | 54 (60.0) | 7 (7.8) | 29 (32.2) |
| fos | 57 (100) | - | - | 32 (97.0) | - | 1 (3.0) | 89 (98.9) | - | 1 (1.1) |
| fa | 52 (91.2) | 3 (5.3) | 2 (3.5) | 24 (72.7) | 3 (9.1) | 6 (18.2) | 76 (84.4) | 6 (6.7) | 8 (8.9) |
| gm | 50 (87.7) | 3 (5.3) | 4 (7.0) | 29 (87.9) | 3 (9.1) | 1 (3.0) | 79 (87.8) | 6 (6.7) | 5 (5.6) |
| lev | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| lnz | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| mxfl | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| ftn | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| nor | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| ox | 54 (94.7) | - | 3 (5.3) | 31 (93.9) | - | 2 (6.1) | 85 (94.4) | - | 5 (5.6) |
| qda | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| rif | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| tpn | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| tet | 56 (98.2) | - | 1 (1.8) | 32 (97.0) | - | 1 (3.0) | 88 (97.8) | - | 2 (2.2) |
| tob | 50 (87.7) | 1 (1.8) | 6 (10.5) | 31 (93.9) | - | 2 (6.1) | 81 (90.0) | 1 (1.1) | 8 (8.9) |
| sxt | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |
| va | 57 (100) | - | - | 33 (100) | - | - | 90 (100) | - | - |

학생의 검체에 따른 *S. aureus*의 검출률은 남학생 100명 중 58명 (58.0%)이었으며 여학생의 경우는 94명 중 32명 (34.0%)으로 남학생의 검출률이 높았다. 이 보균율은 2003년 Kim and Hwang의 보고에서 나타난 초등학생의 *S. aureus* 검출률인 전체 42.5%, 남학생 48.8%, 여학생 35.0%와 비교해 보면 전체학생과 남학생 보균율은 각각 3.9%, 9.2%로 상승하였으며 여학생은 1.0% 하락하였음을 나타냈다. 남학생이 여학생보다 보균율이 상당히 높음을 알 수 있는데 이것은 남학생이 손 씻기 등 위생관리를 여학생보다 소홀히 하기 때문이라고 생각한다. 그러므로 손 씻기 등 평소에 위생관리가 중요하다. 본 연구에서 초등학생의 황색포도상구균의 전체 보균율은 1990년 Hwang and Kim의 대학생의 검체에서 분리한 황색포도상구균의 보균율 (21.8%)이나 2000년 Kim and Hwang의 대학생의 검체에서 분리한 황색포도상구균의 보균율 (21.2%)보다도 현저히 높은 비율을 나타내고 있다. 이것도 또한 초등학생보다는 대학생들이 위생관리가 더 낫다는 것으로 생각할 수 있다. 분리된 *S. aureus*는 ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, norfloxacin 등의 fluoroquinolone계 항생제와 linezolid (Oxazolidinones계), teicoplanin, vancomycin 등 (glycopeptides계) 항생제와 nitrofurantoin (nitrofurans계), quinupristin/dalfopristin (streptogramins), rifampicin (ansamycins),

trimethoprim/sulfamethoxazole 등에는 100%의 감수성을 보였다.

내성률은 penicillin이 98.9%이고 erythromycin 40.0%, fusidic acid 15.6%, gentamicin 12.2%, tobramycin 10.0%, oxacillin 5.6%, clindamycin 4.4%, tetracycline 2.2%, fosfomycin 1.1% 순으로 나타났다. Penicillin은 내성률이 거의 99%에 가깝게 나타나서 그 심각성을 보여주었다. 또한 macrolide 계통의 erythromycin의 내성률이 40%를 나타내어 penicillin에 뒤이어 높은 내성을 나타내었다. MRSA는 병원감염의 주요 원인균으로 균혈증이나 심내막염 등의 중증감염을 일으킨다. MRSA는 1960년대에 처음 보고된 뒤 전 세계적으로 급격히 증가되고 있다 (Louis et al., 2004). 특히 우리나라에서 MRSA의 증가율은 매우 심각한 상태로 1997년도 우리나라 전역을 대상으로 조사한 보고에 의하면 황색포도상구균의 70% 이상이 MRSA이다 (Lee et al., 1999). 이에 반해 EARSS (The European Antimicrobial Resistance Surveillance System)에 의하면, 네덜란드에서는 임상에서 분리된 *S. aureus* 중에서 MRSA의 검출률은 1% 이하로 조사되었고, 유럽의 다른 나라들에서는 이보다 훨씬 높은 검출률을 보였는데 독일 19%, 벨기에 28%, 프랑스 33% 그리고 미국은 50%였다 (Wertheim et al., 2004). 그리고 가장 심각한 내성균주인 vancomycin resistant *S. aureus*

가 2002년도에 최초로 미국에서 분리되었다.

포도상구균의 methicillin 내성 기전은 β -lactamase의 과잉 생성과 penicillin binding protein (PBP)의 다량 생성, 그리고 *mecA* 유전자에 의한 PBP2a 생성 등의 3가지로 나눌 수 있으며, 각각의 내성 기전에 따라 내성을 나타내는 항균제가 다르므로 적절한 항균제의 선택을 위해서는 정확한 내성 기전의 규명이 필요하다. 즉, *mecA* 유전자를 가지지 않는 경우에는 methicillin 이외의 β -lactam제나 다른 계열의 항균제에 대부분 감수성이지만, *mecA* 유전자를 보유한 MRSA는 모든 β -lactam제 및 다른 계열의 항균제에도 내성을 보이는 다약제 내성인 경우가 대부분이어서 vancomycin과 같은 glycopeptides계의 투여가 불가피한 경우가 많아 vancomycin에 대한 내성균주를 유발시키는 원인이 되고 있다 (Yoko et al., 2003). MRSA는 methicillin에 대한 내성 표현의 방법에 따라서 균주가 모두 내성을 보이는 homogeneous형과 일부의 세포가 내성을 보이는 heterogeneous형으로 구분되는데, heterogeneous형은 세포들이 나타내는 내성세포의 수와 내성수준에 따라 class 1, 2, 3으로 분류되며, 배양조건이나 사용된 β -lactam제의 종류에 따라 내성 발현 정도가 달라진다 (Sakoulas et al., 2001; Felten et al., 2002; Finan et al., 2002). 우리나라의 경우 이전의 보고에 의하면 대부분 homogeneous형이었으나, 최근에는 homogeneous형과 heterogeneous형이 각각 50%인 heterogeneous형이 증가하고 있는 추세로, MRSA의 정확한 동정이 더욱 더 요구된다. 현재 일반 검사실에서 시행하는 methicillin 내성 검사는 oxacillin을 사용한 디스크 확산법이나 미량 희석법이 주로 이용되는데, 위에서 언급한 대로 heterogeneous형의 경우에는 내성 발현이 안 될 수도 있기 때문에 감수성으로 오인하기 쉽다. 따라서 내성 발현을 촉진하기 위해서 배지의 종류나 배양온도, 배양시간, 접종균수, NaCl의 농도 등 여러 가지 조건을 변화시키면서 시험하고 있으나, 예민도 및 특이도가 보고자마다 다양하고, 일정기간의 배양시간이 필요하기 때문에 신속한 결과를 기대하기가 어렵다 (Kazuhisa et al., 1991; Felten et al., 2002; Finan et al., 2002). 본 연구에서 oxacillin에 내성을 나타낸 MRSA는 자동화 분석기에서는 90균주 중 6균주였다. 이들 6균주를 oxacillin disk로 disk diffusion method로 실험 해 본 결과 5균주가 MRSA로 나타났으며 나머지 1균주는 위양성인 것 같았다. 그래서 *mecA* 유전자 검출을 실시하였는데 역시 검출되지 않았다. 이러한 결과로 자동화 분석기에서 MRSA로 나타나면 반드시 oxacillin disk법으로 확인해야 될 것으로 생각된다. 한편, 대부분의 MRSA는 methicillin 내성 발현유전자인 *mecA* 유전자에 의한 것으로, PCR에 의한 *mecA* 유전자의 검출은 가장 정확한 검사법으로 알려져 있으며, MRSA의 여러 가지 다른 동정법들을 비교하는 데 표준법으로 이용되고 있다 (Kazuhisa et al., 1991; Sakoulas et al., 2001; Felten et al.,

2002). 또한 Western immunoblotting 같은 면역학적 방법에 의하여 *mecA* 유전자의 생성물인 PBP2a를 검출하는 것도 MRSA를 동정할 수 있는 좋은 방법으로 알려져 있으나, 방법이 복잡하고 특수한 장비나 기술이 요구되기 때문에 잘 이용되지 못하고 있다. 병원에 입원한 환자의 검체에서 분리된 MRSA는 대부분이 *mecA* 유전자가 존재하면서 고도의 약제 내성을 보인다. Kim et al., (1999)은 임상에서 분리된 78균주의 oxacillin 내성균 중에서 72주 (92%)가 *mecA* 양성임을 보고하였다. 본 실험에서는 분리된 90개의 황색포도상구균 중에서 MRSA는 5균주 (5.6%)였으며, MRSA 5균주 모두 PCR 방법으로 *mecA* 유전자가 검출되었다. Kim and Hwang (2003)의 보고에 의하면 초등학교의 검체에서 분리된 황색포도상구균 중 MRSA의 분리율은 5.2%였다. 초등학교의 검체에서 분리된 MRSA는 병원환자의 검체에서 분리된 MRSA와는 조금 다른 양상을 나타내었다.

항생제 감수성 시험에서도 병원환자에서 분리해 낸 MRSA의 항생제 내성은 penicillin과 oxacillin, ciprofloxacin, norfloxacin, clindamycin, erythromycin, gentamicin, tobramycin, tetracycline, trimethoprim/sulfamexazole 등의 항생제에 고도의 내성을 나타내었다. 하지만 초등학교로부터 분리해 낸 MRSA는 penicillin과 oxacillin 등 β -lactam계 항생제 이외의 clindamycin, erythromycin과 같은 macrolide계와 tobramycin, gentamicin 등 aminoglycoside계의 항생제만 내성을 나타내어 병원에서 분리되는 MRSA와는 다른 양상을 보였다.

이러한 관점에서 볼 때 병원에서 분리되는 MRSA와 지역사회 일반인에게서 분리된 MRSA는 항생제의 내성양상도 다르지만 coagulase 혈청형이라든가 DNA 형질이 다르지 않을까 생각된다. 앞으로 유치원, 중학생, 고등학생, 대학생 등 집단생활을 하는 일반인을 대상으로 많은 실험을 하여 그들에게서 분리되는 MRSA의 coagulase 혈청형이나 여러 가지 방법의 DNA typing을 통하여 유전자형 분석을 함으로써 단체생활을 하는 집단의 황색포도상구균이나 MRSA의 항균제 내성양상에 대한 체계적이고 깊이 있는 연구가 필요하다고 생각된다.

REFERENCES

- Astagneau P. The french prevalence survey study group. Prevalence of nosocomial infections in France: results of the nationwide survey in 1996. J Hosp Infect. 2000. 46: 186-193.
- Boyce JM. Should we vigorously try to contain and control methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? Infect. Control Hosp Epidemiol. 1991. 12: 46-54.
- EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System). Annual Report EARSS-2000. RIVM 2001. Bilthoven, The

- Netherlands.
- 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. 2766-2771.
- Finan JE, Rosato AE, Dickinson TM, Ko D, Archer GL. Conversion of oxacillin-resistant staphylococci from heterotypic to homotypic resistance expression. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002. 24-30.
- Gialluly C, Loulergue J, Bruant G, Mereghetti L, Massuard S, Mee N, Audurier A, Quentin R. Identification of new phages to type *Staphylococcus aureus* strains and comparison with a genotypic method. *J Hosp Infect.* 2003. 55: 61-67.
- Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, Leitch CD, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA.* 1998. 279: 593-598.
- Hirofumi S, Chikako S, Hiromi K, Yoichi S, Tomomi K, Yoshinari O, Naokatu A, Tomihiko H. Flavone markedly affects phenotypic expression of β -lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated clinically. *Biol Pharm Bull.* 2003. 26: 1478-1483.
- Hwang SM, Seki K, Murai M, Sakurada J, Nishihara S, Maeda T, Masuda S. Improved methods for detection and serotyping of coagulase from *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol.* 1989. 33: 175-182.
- Hwang SM, Kim TU. Coagulase serotyping and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from the nasal cavity of adults. *J Jisan College* 1990. 8: 81-87.
- Kazuhisa M, Wakio M, Koji W, Etuo N, Hiroshi T, Sachihiko W. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1991. 2240-2244.
- Kim TU, Hwang SM. Coagulase serotyping and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from the specimens of Adults. *J Jisan Ccollege* 2000. 18: 131-143.
- Kim TU, Hwang SM. Coagulase serotyping and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from the specimen of elementary school students. *Korean J Clin Lab Sci.* 2003. 2: 105-111.
- Kim TU, Kwon HY. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from the nasal cavity of college students. *J Jisan College* 1999. 17: 23-38.
- Lee MA, Kang ES, Hong KS, Chung WS. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak by plasmid restriction analysis. *Korean J Clin Microbiol.* 1999. 2: 125-130.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology* 7th edition, 1999. 267.
- Musser JM, Schlievert PM, Chow AW, Ewan P, Kreiswirth BN, Rosdahl VT, Naidu AS, White W, Selander RK. A single clone of *Staphylococcus aureus* causes the majority of cases of toxic shock syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990. 87: 225-229.
- NCCLS. 2004. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 5th informational supplement. NCCLS document M100-S5. NCCLS, 771 East Lancaster Avenue, Villanova, Pennsylvania 19085.
- Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, Degirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Q. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains. *J Clin Microbiol.* 2001. 3946-3951.
- Sin CS. 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. Unpublished master thesis Yonsei University. 2005.
- Wertheim HFL, Vos MC, Boelens HAM, Voss A, Vandembroucke-Grauls CMJE, Meester MHM, Kluytmans JAJW, van Keulen PHJ, Verbrugh HA. Low prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at hospital admission in the Netherlands: the of search and destory and restrictive antibiotic use. *J Hosp Infect.* 2004. 56: 321-325.
- Wielders CLC, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, Schmitz FJ. *MecA* gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. *J Clin Microbiol.* 2002. 3970-3975.
- Yoko T, Hideaki H, Kazuhiko I, Hideya K, Kazunari Y, Keisuke S. Investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* showing reduced vancomycin susceptibility isolated from a patient with infective endocarditis. *Inter J Antimicrob Agents.* 2003. 22: 567-573.