

# 중환자실에서 분리된 Methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 유전자형 분석

김윤경<sup>1</sup> · 이지민<sup>2</sup> · 광미경<sup>2</sup> · 홍해숙<sup>3</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 간호대학 시간강사, <sup>2</sup>경북대학교 간호대학 박사과정, <sup>3</sup>경북대학교 간호대학 교수

## Genotype Analyses of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Intensive Care Units

Yun-Kyung Kim<sup>1</sup>, Mi-Kyung Gwak<sup>2</sup>, Ji-Min Lee<sup>2</sup>, Hae-Sook Hong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Part-time Instructor, College of Nursing, Kyungpook National University; <sup>2</sup>Doctoral Student, College of Nursing, Kyungpook National University; <sup>3</sup>Professor, College of Nursing, Kyungpook National University, Daegu, Korea

**Purpose:** Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has become a major clinical problem and one of the major nosocomial pathogen worldwide. The aim of the study was to investigate the epidemiological characteristics of genotypes of MRSA isolated in the A-hospital ICU. **Methods:** In the period between December 2007 and May 2008, MRSA was isolated from ICU patients and its surrounding environment. Polymerase Chain Reaction (PCR) was conducted for the detection of MRSA gene. The incidence of MRSA in the clinical isolates of *Staphylococcus aureus* was examined by using a multiplex PCR. The *spa* gene of *Staphylococcus aureus* encodes protein A and is used for typing of MRSA. We used sequence typing of the *spa* gene repeat region to study the epidemiology of MRSA at a hospital. **Results:** Two different genotypes of MRSA were identified with 90 isolated from the patients and its surrounding environments in the ICU. **Conclusion:** This study may contribute to the development of effective strategies for preventing nosocomial infections. Genotyping may have more general application for the study of MRSA epidemic outbreak in hospital and community infection.

Key Words : Intensive care units; *Staphylococcus aureus*; Genotype

국문주요어 : 중환자실, 황색포도알균, 유전자형

## 서 론

### 1. 연구의 필요성

항생제의 개발과 사용 이후 1960년대부터 나타난 메티실린

내성 황색포도알균(Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)은 지난 수십년에 걸쳐 지속적으로 증가하고 있다. 병원감염의 주된 원인균이며, 병원 내에 토착화되어 지속적인 증균과 병원감염을 유발시킬 수 있다. 또한 다른 종류의 항생제에도 중복내성을 나타내며, 내성이 없는 균보다 강한 병원성을 지니고 있을 가능성이 높고, 집단 감염을 일으키는 가능성이 커서 유행성 전염병균의 특성을 갖고 있다(Yoon, 2001).

현재 임상에서 분리되는 황색포도알균의 90% 이상은 페니실린 내성 균주이며 메티실린 내성 균주의 비율은 나날이 증가하고 있으며, 미국의 경우 병원 내에서 분리되는 전체 황색포도알균 중에서 메티실린 내성 균주가 차지하는 비율은 1975년

Corresponding author :

Hae-Sook Hong, Professor, College of Nursing, Kyungpook National University, 101 Dongin-2ga, Jung-gu, Daegu 700-422, Korea  
Tel: 82-53-420-6989 Fax: 82-53-421-2758  
E-mail: hshong@knu.ac.kr

\*본 논문은 2007년 교육인적자원부의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2007-521-E00149).

투고일 : 2008년 11월 3일

심사의뢰일 : 2008년 11월 4일

게재확정일 : 2008년 12월 6일

당시 2.4%에 불과하였으나 1999년에는 50% 이상으로 급격히 증가하고 있다(CDC, 2004). 우리나라에서는 1970년대에는 임상에서 분리된 황색포도알균의 10% 미만이 MRSA이었으나, 1980년대에서는 약 40-50% 정도로 증가되고 90년대 초반에는 60%에 이르며(Ha, Kim, & Kim, 2003), 최근에는 약 70-80%로 보고되고 있다(Kim, 1999; Kim & Hong, 2007; Oh et al., 2001).

특히, MRSA에 의한 유행적 발생은 대부분 중환자실이나 면역상태가 저하되거나 병원 치료나 항생제 사용이 길고 각종 침습적 치료를 실시하는 환자들이 모여 있는 특수병동에서 주로 발생하는 것으로 보고되고 있다(Oh et al., 2001).

흔히 MRSA는 건강한 사람에서는 단순히 보균자상태로 있지만 생체방어기전이 저하되어 있는 환자에게는 폐렴, 패혈증, 창상감염, 요로감염, 호흡곤란증후군 등을 유발하여 높은 이환율과 사망률을 나타내어 병원감염에 심각한 문제가 되고 있다(Ha et al., 2003).

병원내의 MRSA 감염은 환자나 병원 내 종사자의 비강에 보균상태로 존재하면서 사람의 이동에 따라 전파가 되는 것으로 알려져 있으며, 보균자의 자가감염과 보균자 혹은 감염된 환자로부터 오염된 병원 내 종사자를 통한 전파의 예방이 MRSA에 의한 병원감염관리에 매우 중요하고 하겠다(Kwon, Kim, Kim, Chang, & Kwak, 2007). 또한 병원 내 환경 자체가 병원감염의 원인균 전파의 감염경로가 될 수 있으므로 원 내 환경에서의 균의 오염과 분포를 파악하는 것은 상당한 의의가 있다고 본다.

한 병원내에서 MRSA 전파 양상을 파악하기 위하여 병원내에서 유행하는 MRSA 균주 간에 어떤 유전학적인 연관성이 있는지 조사가 중요하다. 이를 위해서는 병원 내에 토착화되어 있는 MRSA의 클론이 몇 가지이며, 새로운 클론이 병원내에 정착되어 자리를 잡는지 등의 변화양상을 규명하는 것이다(Lee, Park, Woo, Jung, & Kim, 2001). 그러나 국내에서는 MRSA 보균실태에 대한 몇몇 보고가 있으나 유전학적인 연관성에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

MRSA는 황색포도알균이 생산하는  $\beta$ -lactamase에 분해되지 않은 반합성 penicillin과 cephem계 약제에 대해서도 내성을 갖는 균으로 *mecA* 유전자를 갖고 있으며, 페니실린 결합 단백질 2a (penicillin-binding protein 2a)를 발현함으로써 항생제 내성을 유발하게 된다. *mec* 유전자 외에 *fem* 등의 유전자도 메티실린내성에 관여하는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2001). 황색포도알균에서 메티실린 내성 유전자

를 신속하게 검출할 수 있는 방법이 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)이며, 신속하게 유전자를 검출로 환자의 치료나 감염의 확산 방지하는데 크게 효과적이다. 또한, 원 내 환경 자체가 병원 내 감염의 원인균 전파의 감염경로가 될 수 있으므로(Moon, Lee, & Kim, 2003), 병원 내 환자, 환경과 병원감염과의 관련성에 대한 교차감염의 가능성을 규명함으로써 의료인의 환경관리강화 및 감염관리에 대한 올바른 방향으로 수정하는 계기를 제공하게 될 것이다.

이에 본 연구에서는 신속하며, 재현성이 우수한 것으로 알려진 중합효소연쇄반응을 이용하여 중환자실의 환자 및 환경의 병원감염의 중요한 원인균중인 MRSA 감염 간의 유전자형 연관성 규명을 통하여 MRSA의 관리, 예방 및 항생제 선택을 하는데 매우 중요한 도움을 주는 자료를 제공하며 또한 병원감염의 기회를 줄이고자 본 연구를 시행하였다.

## 2. 연구 목적

본 연구의 목적은 중환자실에서 분리된 MRSA의 유전자형 분석함으로써 병원감염의 예방을 위한 기초자료 제공과 병원감염의 기회를 줄이고자 하는데 있다. 이를 위한 본 연구의 구체적인 목적은 다음과 같다.

- 1) 중환자실의 원인균을 파악한다.
- 2) 중환자실의 MRSA 발생률과 분포를 파악한다.
- 3) 중환자실의 물품 환경의 MRSA 오염률을 파악한다.
- 4) 중환자실의 환자 및 환경에서 분리된 MRSA의 유전자형 관계를 분석한다.

## 3. 용어 정의

### 1) MRSA

항생물질인 메티실린에 내성이 있는 황색포도알균으로 *mec*, *nuc* gene을 가지고 있는 것을 의미한다.

### 2) 환경

생물에게 직접, 간접으로 영향을 주는 자연적 조건이나 사회적 상황으로 본 연구에서는 중환자실에서 청소하기 전에 환자와 관련된 물품을 말한다.

### 3) 유전자형분석

Multiplex PCR에서 나온 유전자 I형, II형, III형, IV형 중에서 *spa* type에 의하여 유전자 염기서열을 분석한 것을 의미한다(Kim & Hong, 2007).

## 연구 방법

### 1. 연구 설계

본 연구는 중환자실에서 분리된 MRSA의 유전자형을 분석하기 위한 서술적 조사연구이다.

### 2. 연구 대상

D시내 소재인 A병원 중환자실에서 2007년 12월부터 2008년 5월까지 이루어졌으며, 본 연구 진행을 위해서 사전에 관련 병원기관과 부서에 협조를 의뢰한 후 입원 당시에 감염이 없었던 만 20세 이상의 환자 중 연구자가 환자와 보호자에게 연구에 대해 설명한 후 연구 목적을 이해하고 연구 참여할 것을 동의한 136명과 그 환자가 사용한 물건과 관련된 환경을 대상으로 하였다.

### 3. 자료수집 절차 및 방법

#### 1) 세균의 동정

도말, 그람염색에서 포도상 배열의 그람양성알균이 관찰되고 catalase, coagulase 및 mannitol salt agar에서 산을 생성하면 황색포도알균으로 간주하였다. 필요한 경우에는 Vitek GPI card (bioMeriux, USA)로 동정을 확인하였다.

#### 2) 환경

환자와 관련된 물품의 환경으로 멸균생리식염수를 적신 면봉을 사용하여 침대레일, 침대 옆 탁자, 컴퓨터 키보드, 드레싱 카, 심전도기, 주사기 바드, 수액세트에 연결된 3-way stop-cock, IV폴, 혈압계, 흡인용 컵, 간호사 처치대, 창틀 등에 표면을 3회 문질러 mannitol salt agar에 접종하여 균 동종을 하였다.

#### 3) 중합효소연쇄반응

PCR에 의한 *mecA*, *nuc* gene의 검출, Multiplex PCR과 spa PCR에 의하여 염기서열분석하였다.

본 연구에 사용된 *mecA*, *nuc* gene의 primer들은 포도알균 속 메티실린내성균주와 관련 있는 유전자의 특정부위를 선택적으로 증폭하기 위한 primer 1 (MR 1AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC/MR 2 AGTTCTGGCACTACCGGA-TTTTG)과 황색포도알균 균주와 관련 있는 유전자의 특정부위를 증폭하기 위한 primer 2 (*nuc* 1GCGATTGATGGTG-ATACGGTT/*nuc* 2 AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC)

를 사용하였다.

#### (1) Multiplex PCR

Multiplex PCR에 사용한 primers는 포도알균 속 메티실린 내성균주와 관련 있는 유전자의 8개 특정부위를 선택적으로 증폭하기 위한 primer 16개를 사용하여 SCC*mec* 유형을 파악하였다. 배양으로부터 DNA분리는 BHI에서 20시간 배양한 균주 1 mL를 4°C에서 15,000 rpm으로 5분간 원침하여 상층액을 제거한 후 50 mM EDTA (pH8.0) 480  $\mu$ L, 10 mg/mL lysozyme 60  $\mu$ L, 1 mg/mL lysostaphin 60  $\mu$ L를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 4°C에서 15,000 rpm으로 5분간 원침하여 상층액을 제거하여 Nuclei lysis Solution (Promega, USA) 600  $\mu$ L를 넣어 혼합하여 80°C에서 5분간 반응시킨 후 실온에서 10 mg/mL RNase를 3  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 30-60분 반응시켰다. 실온에서 Protein Precipitation solution (Promega kit) 200  $\mu$ L를 혼합하여 얼음에 5분간 반응시킨 후 4°C에서 15,000 rpm으로 10분간 원침하여 침전물을 제거하고 isopropanol 600  $\mu$ L를 분주한 후 4°C에서 15,000 rpm으로 10분간 원침하여 상등액을 제거하고 침전물을 건조시켜 70% ethanol 600  $\mu$ L를 첨가하여 4°C에서 15,000 rpm으로 10분간 원침하여 상등액을 제거한 후 10분간 건조하였다. 건조된 침전물에 DNA Rehydration solution (Promega kit) 100  $\mu$ L를 혼합하여 65°C에서 1시간 반응시킨 후 황색포도알균 DNA로 사용하였다. 중합효소연쇄반응 증폭은 thermal cycler (Nippon Genetics CO., Tokyo, Japan)에서 재조합 Taq DNA polymerase (TaKaRa Shuzo C., Ltd., Japan)를 이용하여 수행하였다.

배양액으로부터 분리한 DNA에서 gene의 증폭을 시행하기 위한 총 용량은 25  $\mu$ L로 하였으며, 반응혼합액은 1  $\mu$ L의 세균 용해액에 primer 16개를 각각 0.2  $\mu$ L, 0.4  $\mu$ L, 0.8  $\mu$ L씩, mixture reagent (dNTP, Taq polymerase, MgCl<sub>2</sub>) 4.125  $\mu$ L, 멸균된 증류수를 넣어 중합효소연쇄반응의 최종액을 맞추었다.

중합효소연쇄반응을 확인을 위해서 증폭된 데옥시리보핵산 5  $\mu$ L, loading buffer 2  $\mu$ L 섞은 다음 2% agarose gel에 전기영동 장치를 이용하여 50 mV로 전기영동하였다. Gel을 light에 옮겨 증폭된 DNA 절편을 확인하고 디지털 카메라를 이용하여 사진을 촬영하였다. 100 bp Ladder를 DNA size maker로서 사용하였다(Kim & Hong, 2007).

(2) *spa* PCR

*spa* PCR에 의한 유전자형분석은 배양액으로부터 분리한 DNA에서 *gene*의 증폭을 시행하기 위하여 *spa* primer로 F1 5'GACGATCCTTCGGTGAGC3', R1 5'CAGCAGTAGT-CCGTTTGC3'을 사용하였다. 총 용량은 25 µL로 하였으며, 반응혼합액은 1 µL의 배양액으로부터 분리한 DNA에 primer F1과 R1 각각 1 µL, mixture reagent (dNTP, Taq polymerase, MgCl<sub>2</sub>) 4.125 µL, 멸균된 증류수를 첨가하여 다음과 같은 조건으로 반응시켰다. 초기 DNA 변성반응은 95°C에서 30초, primer 결합반응은 60°C에서 30초, 증합반응은 72°C에서 45초로 맞추고 증합효소연쇄반응을 30회 실시하였다. 증폭반응이 끝난 후 전기영동하고 UV light에서 관찰하여 나온 결과를 Jet sorb kit을 사용하여 DNA sequencing (바이오닉스, 한국) 보내어 판독하였다(Kim & Hong, 2007).

4. 자료분석방법

본 연구는 병원균의 발생률과 분포도는 실수, 빈도, 백분율을 SPSS program (version 12.0)을 이용하여 분석하였으며, 중환자 및 환경에서 검출된 MRSA는 전기영동하여 자외선조사하에서 관찰하고 디지털 카메라로 사진을 찍어서 DNA Band를 관찰하여 나온 결과를 유전자형을 분석하여 유전자염기서열을 판독하였다.

연구 결과

1. 중환자실의 원인균

중환자실에서 분리된 균 결과를 보면 환자 136명 중 82명 (60.3%)이 *Staphylococcus aureus*으로 가장 높았으며, *Kleb-*

Table 1. The kinds of microorganism isolated from patients in ICU

Species	NICU No.	MICU No.	SICU No.	Total No. (%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus baumannii</i>	0	3	0	3 (2.2)
<i>Candida albicans</i>	2	0	0	2 (1.5)
<i>Coagulase negative staphylococci</i>	0	6	0	6 (4.4)
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	2	1	6 (4.4)
<i>Enterococcus faecium</i>	1	3	1	5 (3.7)
<i>Escherichia coli</i>	2	1	3	6 (4.4)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	9	4	19 (14.0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	0	0	7 (5.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	45	21	16	82 (60.3)
Total (%)	66 (48.5)	45 (33.1)	25 (18.4)	136 (100.0)

*siella pneumoniae*가 19명(14.0%), *Pseudomonas aeruginosa* 7명(5.2%) 순으로 분리되었다.

중환자실별로 *Staphylococcus aureus*는 신경외과중환자실 45명, 내과중환자실 21명, 외과중환자실 16명 순으로 분리되어 나타났다. *Klebsiella pneumoniae*에서는 내과중환자실 9명, 신경외과중환자실 6명, 일반외과중환자실 4명 순으로 분리되었다(Table 1).

2. MRSA 감염의 발생률과 분포

중환자 88명으로부터 분리된 중 *S. aureus* 82명(93.2%), Coagulase negative *staphylococci* 6명(6.8%)로 분리되었으며, 황색포도알균의 균채취 부위별로는 가래 71명(80.7%), 혈액 8명(9.1%), 소변 3명(3.4%) 순으로 나타났다(Table 2).

중환자실의 환자에서 분리된 황색포도알균 82명 중 메티실린에 내성을 보이는 균주를 분리 조사를 실시한 결과는 가래에서 67명(91.8%), 혈액에서 4명(5.5%), 소변에서 2명(2.7%)으로 분리되었다(Table 3).

3. 중환자가 사용한 물품의 환경의 균 오염률

청소를 하기 전에 중환자가 사용한 물품의 환경을 검사한 결과는 총 72주 가운데 17주에서 MRSA가 분리되었으며, 그 가운데 흡인용 컵 12주 중 9주(75.0%), 침대레일 15주 중 3주, 창틀 5주 중 2주, 심전도기, 혈압기 및 간호사처치대에서 각각 1주에서 MRSA가 분리되었다(Table 4).

Table 2. Distribution of *Staphylococci* Isolated from patients in ICU

Species	Blood No. (%)	Sputum No. (%)	Urine No. (%)	Total No. (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 (9.1)	71 (80.7)	3 (3.4)	82 (93.2)
Coagulase negative <i>staphylococci</i>	6 (6.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (6.8)
Total	14 (15.9)	71 (80.7)	3 (3.4)	88 (100.0)

Table 3. Rates of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients in ICU

Specimen	No. of <i>S. aureus</i> (%)	No. of MRSA (%)
Blood	8 (9.8)	4 (5.5)
Sputum	71 (86.6)	67 (91.8)
Urine	3 (3.7)	2 (2.7)
Total	82 (100.0)	73 (100.0)



**Table 4.** Isolation of methicillin resistant *Staphylococci* from environment of ICU

Specimen	No. of specime	No. of MRSA isolates (%)
Bedside rail	15	3 (20.0)
Bedside table	3	0 (0.0)
Computer keyboard	4	0 (0.0)
Dressing cart	2	0 (0.0)
EKG pressure	5	1 (20.0)
Injection tray	3	0 (0.0)
IV therapy of the 3-way stopcock	3	0 (0.0)
Pole for IV	2	0 (0.0)
Sphygmomanometer	15	1 (6.67)
Suction of the cup	12	9 (75.0)
Treatment table for nurse	3	1 (33.3)
Window bar	5	2 (40.0)
Total	72	17 (23.6)

MRSA: methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

#### 4. MRSA 분리주의 유전자형 분석

중환자실의 환자와 물품의 환경에서 분리된 90주의 유전자형의 분석을 시행한 결과 전체적으로 두 가지 유형이 나타났다. 90주에 대한 유전자형 분석한 결과 중환자의 균주는 총 73주 중 SCCmec type IIa는 59주, SCCmec type III는 14주로 분리되었으며, 환경의 균주 총 17주 중 SCCmec type IIa는 11주, SCCmec type III는 6주를 차지하였다.

유전자형에 대한 염기서열을 분석한 결과 spa type 02는 70주, spa type 37는 20주로 나타나 두가지 유형 양상을 보였다(Table 5).

### 논 의

현재 MRSA는 전 세계적으로 병원감염의 중요한 원인균으로 심각한 문제가 되고 있으며, 최근에는 MRSA 감염의 치료제인 vancomycin에 대한 중등도 내성을 보이는 황색포도알균이 보고되어 있어 MRSA에 대한 효과적인 감염관리는 병원 감염에 있어서 가장 중요하고 시급한 문제의 하나로 대두되고 있다(Lee et al., 2001). 이에 본 연구는 중환자실에서 분리된 MRSA의 유전자형 분석을 통하여 교차 감염을 확인하고 병원감염의 예방과 감염의 기회를 줄이고자 실시되었다.

먼저, 중환자에서 분리된 균 결과를 보면 *Staphylococcus aureus*가 60.3%로 가장 높았으며, *Klebsiella pueumoniae* 14.0%, *Pseudomonas aeruginosa* 5.2% 순으로 분리되었다. 이러한 본 연구의 결과는 Kim 등(2006)의 2004년도 전국 16개 대학병원 중환자실 병원감염 감시결과와 마찬가지로 전체

**Table 5.** Comparison of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotypes isolated from patients and environments in ICU

SCCmec type by: Multiplex PCR	spa type	Repeats*	No. of MRSA isolates	
			Patients (n=73)	Environments (n=17)
I		-		
II		-		
IIA	02.....	r26r23r17r34r17r20r17r12r17r16	59	11
III	37.....	r15r12r16r02r25r17r24	14	6
IV		-		

\*: A numerical code was chosen for Ridom StaphType.

적으로 *Staphylococcus aureus*가 가장 많이 분리되었다.

중환자실의 종류에 따른 균의 발생률에서 본 연구에서는 중환자실별로 *Staphylococcus aureus*는 신경외과중환자실, 내과중환자실, 외과중환자실, 내과중환자실 순으로 분리되어 나타났다.

선행연구마다 다소간의 차이가 있으나 Girou과 Oppein (2000)의 병원감염 발생률 연구에 의하면 신경외과중환자실, 일반외과중환자실, 내과중환자실 순으로 보고하였다. 이와 같이 병원감염은 다른 중환자실에 비하여 신경외과 중환자실이 가장 높은 것으로 나타났다. 따라서 본 연구 결과와 비슷하였다.

이와 같이 신경외과 중환자실에서 병원감염 이환이 높은 것은 Park (2006)의 연구에서 의식장애, 금식, 수술, 뇌혈관 조영술 및 각종 침습적인 기구의 사용이 관련요인으로 보고하였다.

중환자실의 환자에서 분리된 황색포도알균 82명 중 메티실린에 내성을 보이는 균주를 분리 조사를 실시한 결과는 가래에서 67명(91.8%), 혈액에서 4명(5.5%), 소변에서 2명(2.7%)으로 분리되었다. Kim 등(1997)의 연구에서는 폐렴이 가장 많이 발생하였고, 요로감염, 균혈증 순이었다. 이는 생체방어 기전이 저하된 환자에게 폐렴, 패혈증, 창상감염, 요로감염, 호흡곤란증후군 등을 유발하여 높은 이환율과 사망률을 나타내어 병원감염에 심각한 문제가 될 수 있다(Ha et al., 2003).

MRSA가 분리된 물품의 환경을 보면 흡인용 컵, 침대레일, 창틀, 심전도기, 혈압기, 간호사치치대에서 MRSA가 분리되어 이러한 물품이나 병실의 공유를 통해 다른 환자로 전파될 수 있는 가능성을 보여주고 있다. 따라서 손씻기, 환경개선, 무균술의 준수 및 감염된 환자의 격리 등이 요구될 것이다.

분자생물학의 발전으로 염색체 유전자수준에서 DNA 분석

하는 유전자형별이 다양하게 개발되어 높은 신뢰성과 정확성을 바탕으로 역학적 연구에 널리 사용되고 있으며, 유전자형을 이용한 MRSA 감염원과 전파경로를 밝히려는 연구들이 많이 시행되고 있으나 아직은 미흡한 실정이다(Lee et al., 2001).

MRSA에 의한 유행발생을 사전에 파악하고 방지하기 위해서는 감염원 및 감염경로의 정확한 파악이 필요하며, 이를 위한 조사방법으로 플라스미드 형별법, Pulsed field gel electrophoresis, PFGE), PCR, 핵산염기서열분석법이 사용되고 있다. PCR을 이용한 유전자 검출법은 MRSA뿐만 아니라 환자의 감염, 전파 및 예방에도 효과적이다. 따라서 MRSA 감염이 의심이 되는 환자의 검체에서 빠른 시간 내에 정확하게 MRSA를 검출해낼 수 있으며, 보균자에 대해서 조기에 발견하여 격리, 치료함으로써 MRSA 전파에 사전 차단과 집단감염을 조기 예방할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 PCR을 이용한 MRSA 유전자형을 검사한 결과, 환자와 물품의 환경에서 분리된 MRSA 유전자형 IIa와 III형의 두 가지 유형을 보여 환자, 환경 간에 주로 단일 유행 클론이 전파되고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 두 집단 간에 교차감염이 발생할 수 있는 것을 알 수 있었다. Moon 등(2003)의 연구를 보면 치과진료실에서 MRSA의 유전자형 분석한 결과 소수에서 II형을 나타내고 있으며, Kim과 Hong(2007)의 신경외과 중환자실의 유전자형 연구 결과와도 일치하였다. 최근에는 국내에서는 II형이 50-60% 차지하고 III형, IV형의 순이며, I형은 보고가 없어 아주 드물거나 없는 것을 추정된다. 1980년대 초에는 I형과 IV형 SCCmec를 가진 MRSA에서 II형 SCCmec을 가진 MRSA로 바뀌었음을 보고하였다(Antimicrobial Resistance Newsletter, 2004).

이는 MRSA가 병원 내에 여러 클론의 형태로 토착화될 수 있으며, 여러 가지 상황에서 변화할 수 있다는 것을 시사해 준다. 따라서 균의 전파방지를 위해서는 적절한 항생제의 투여, 적극적인 감염관리, 병원감염의 감시 및 교육체계를 보다 확실히 확립하여야 할 것이며, 병원내의 환경개선이 필요할 것으로 사료된다.

## 결론 및 제언

본 연구는 중환자실의 환자 및 환경의 병원감염의 중요한 원인균중인 MRSA 감염 간의 유전자형 연관성 규명을 통하여 MRSA의 관리, 예방 및 항생제 선택을 하는데 매우 중요한 도움을 주는 자료를 제공하며 또한 원 내 감염의 기회를 줄이

기 위해 시도된 서술적 조사연구이다.

2007년 12월부터 2008년 5월까지 D시내 소재인 A병원 중환자실 입원환자 및 환경을 대상으로 하였다. 세균의 동정은 도말, 그람염색에서 포도상 배열의 그람양성알균이 관찰되고 catalase, coagulase 및 mannitol salt agar에서 산 생성하면 황색포도알균으로 간주하였다. 필요한 경우에는 Vitek GPI card (bioMerieux, Hazelwood, MO, USA)로 동정을 확인하였으며, Multiplex PCR을 이용하여 유전자형을 분석하였다.

연구 결과는 다음과 같다.

1) 중환자실에서 분리된 균 결과를 보면 환자 136명 중 82명인 60.3%로 *Staphylococcus aureus*가 가장 높았으며, 신경외과중환자실, 내과중환자실, 외과중환자실 순으로 분리되어 나타났다.

2) 중환자 88명으로부터 분리된 중 *S. aureus* 93.2% (82명), Coagulase negative staphylococci 6.8% (6명)로 분리되었으며, 황색포도알균의 균 채취 부위별로는 가래 80.7% (71명), 혈액 9.1% (8명), 소변 3.4% (3명) 순으로 나타났다.

3) 중환자실의 환자에서 분리된 황색포도알균 82명 중 메티실린에 내성을 보이는 균주를 분리 조사를 실시한 결과는 가래에서 91.8% (67명), 혈액에서 5.5% (4명), 소변에서 2.7% (2명)로 분리되었다.

4) 청소를 하기 전에 중환자가 사용한 물품의 환경을 검사한 결과는 총 72주 가운데 17주에서 MRSA가 분리되었으며, 그 가운데 12주의 흡인용 컵 중에서 9주(75.0%)에서 MRSA가 분리되었다.

5) 중환자실의 환자와 물품의 환경을 유전자유형을 분석한 결과, 두 가지 유형이 보였으며, 같은 양상을 나타냈다.

이상의 연구 결과를 통해 다음과 같이 제언하고자 한다.

1) 중환자실에서 MRSA 분리를 감소시키기 위한 효과적인 관리를 위해 병원 내에 토착화되어 있는 균주들의 집중 관리 및 환자 간의 전파 차단 등을 위한 전략의 필요성이 제기되어야 하겠다.

2) 향후 병원 내 MRSA 감염의 효과적인 관리를 위해서는 지역사회 및 병원 간의 유전자 분석을 통한 전파경로에 관한 연구가 시도하여야 할 것이다.

3) 항생제 남용에 따른 균의 내성을 감소시키기 위한 다제내성 황색포도알균의 약제내성의 실태와 유전자 차원에서 연구가 이루어져야 할 것이다.

## 참고문헌

- Antimicrobial Resistance Newsletter. (2004). *Antimicrobial susceptibility of bacterial isolated*. 12, 1-11.
- CDC (Center of Disease Control and Prevention). (2004). Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* infection among competitive sports participants. *MMWR*, 52, 793-795.
- Girou, E., & Oppein, F. (2000). Infection control in the ICU. *Intensive Care Med*, 26, 131-132.
- Ha, D. J., Kim, Y. C., & Kim, Y. J. (2003). Management of infection for methicillin resistance *Staphylococcus aureus* at an orthopaedic surgery department. *J Korean Orthop*, 38, 34-38.
- Kim, J. M., Park, E. S., Jeong, J. S., Kim, K. M., Kim, J. M., Oh, H. S., Yoon, S. W., Lee, S. I., Lee, M. S., Song, J. H., Kang, M. W., Choe, K. W., Park, S. C., & Pai, C. H. (1997). National nosocomial infection control surveillance in Korea. *Korean J Nosocomial Infect Control*, 2, 157-176.
- Kim, K. M., Yoo, J. H., Choi, J. H., Park, E. S., Kim, K. S., Kim, K. S., Kim, S. L., Kim, S. M., Kim, H. J., & Jeong, J. S. (2006). The nationwide surveillance results of nosocomial infections along with antimicrobial resistance in intensive care units of sixteen university hospitals in Korea. *Korean J Nosocomial Infect Control*, 11, 79-86.
- Kim, S. M. (1999). *Staphylococcus aureus* of infection. *Sung Kyun Kwan University of infection*, 69-91.
- Kim, Y. K., & Hong, H. S. (2007). Transmission aspect of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the neurosurgical intensive care unit by analysing genotype. *J Korean Acad Nurs*, 37, 976-985.
- Kwon, Y. I., Kim, T. W., Kim, H. Y., Chang, Y. H., Kwak, H. S., Woo, G. J., & Chung, Y. H. (2007). Monitoring of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from medical environment in Korea. *Korean J Microbiol Biotechnol*, 35, 158-162.
- 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, 32-40.
- Moon, S. E., Lee, D. K., & Kim, K. J. (2003). Infection pattern of *staphylococcus aureus* in the dental clinic. *J Korean Maxillofac Plast Reconstr Surg*, 25, 25-32.
- Oh, H. S., Lee, S. E., Kim, H. J., 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, 25-33.
- Park, H. J. (2006). *Investigation of nosocomial infection factors of neurosurgery critical care patient*. Unpublished master's thesis, Yonsei University, Seoul.
- Yoon, H. S. (2001). *Molecular characterization of clinically isolated Staphylococcus aureus*. Unpublished doctoral dissertation, Sungshin University, Seoul.