

<원 저>

지역사회 내 일반인 및 동물에서 methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 유전학적 특성

조재근¹ · 김진현² · 성명숙³ · 김기석^{4,*}

¹대구광역시보건환경연구원, ²강원도가축위생시험소, ³경상북도가축위생시험소, ⁴경북대학교 수의과대학
(접수: 2011년 9월 9일; 수정: 2011년 11월 7일; 게재승인: 2011년 11월 9일)

Genetic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from humans and animals within the community

Jae-Keun Cho¹, Jin-Hyun Kim², Myung-Suk Sung³, Ki-Seuk Kim^{4,*}

¹Metropolitan Health & Environmental Research Institute, Daegu 706-732, Korea

²Gangwondo Veterinary Service Laboratory, Pyeongchang 508-153, Korea

³Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 702-210, Korea

⁴College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received: September 09, 2011; Revised: November 07, 2011; Accepted: November 09, 2011)

Abstract : Methicillin-resistant *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* (MRSA) is one of the most important nosocomial pathogens worldwide and the emergence of this strain has become a major clinical problem. In this study, we investigated the prevalence of MRSA and their genetic characteristics in 69 *S. aureus* isolated from humans and animals. In human isolates, higher antimicrobial resistance rates were observed against penicillin (80.6%), followed by erythromycin (11.9%) and tetracycline (9.0%). All of them were susceptible to clindamycin, enrofloxacin, novobiocin, pirlimycin, trimethoprim/sulfamethoxazole and vancomycin. The resistance patterns in animal isolates were similar to those of human isolates. Two (2.9%) MRSA strains were isolated from human (n = 1) and animal (n = 1), and these isolates were confirmed as carrying the *mecA* gene. One isolate originating from human was resistant to 7 drugs and the other isolate derived from animal was resistant to 11 drugs. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) variant IIIB was identified in animal isolate but SCC*mec* type of an isolate from human was not exactly determined. Two MRSA isolates showed unrelated PFGE pattern between them. Our results indicated although the frequency of MRSA isolates from humans and animals was low, a continuous surveillance and monitoring should be called for to prevent the contamination and spread of MRSA in the community. To our knowledge, this is the first time that SCC*mec* type variant IIIB was detected from animals in Korea.

keywords : *mecA* gene, MRSA, PFGE, SCC*mec* type

서 론

Staphylococcus(*S.*) *aureus*는 그람양성구균으로 자연계에 널리 분포하고 있으며, 건강한 사람이나 동물의 비강 및 체표 등에 상재하는 정상세균이지만, 적당한 환경이 주어지면 여러 가지 질병을 일으키는 기회감염균이다. 이 균은 병원성이 강하고 조직침습성이 높아 사람과 동

물에 화농성 질환, 패혈증, 뇌수막염 및 식중독 등을 일으키는 것으로 알려지고 있다 [41].

*S. aureus*의 감염증 치료를 위하여 여러 가지 항생제가 개발되어 치료에 이용되고 있으나 한편으로 항생제의 빈번한 사용으로 인하여 methicillin을 비롯한 여러 항생제에 내성을 가지는 균주가 분리되기 시작하였다. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)는 1961

*Corresponding author

Tel: +82-53-950-5962, Fax: +82-53-950-5955

E-mail: kimkiseuk@knu.ac.kr

년 영국에서 처음 보고 된 이후 [14], 여러 나라에서 보고되기 시작하였고 대부분의 MRSA 균주는 항생제에 다약제내성을 보여 병원 내 감염의 원인균으로 전 세계적으로 문제시 되고 있다 [7, 10]. 국내에서도 1990년대 후반부터 종합병원의 임상검체로부터 분리되는 *S. aureus*의 70% 정도가 MRSA로 보고되고 있으며 [18, 24] 최근에는 개와 고양이 등의 동물에서도 보고가 되고 있다 [21, 40]. 이와 같이 감염 균에서의 지속적인 내성증가는 질병의 치료 효과를 약화시킬 뿐만 아니라 부가적으로 항생제의 사용에 따른 의료비 증가 등은 사회적으로 문제가 되고 있다 [36].

MRSA의 내성기전은 β -lactam 계열 항생제에 대한 친화성이 낮은 penicillin-binding protein 2a(PBP2a)의 유도 생산에 의한 것으로 *S. aureus* 유전체 중 Staphylococcal cassette chromosome *mec*(SCC*mec*)이라는 이동성 유전자에 위치한 *mecA* 유전자에 의해 결정된다 [6]. SCC*mec* 유전자 복합체는 약 20~60 kb 사이의 다양한 크기로 구성되어 있으며, *mecA* 유전자 복합체와 chromosomal cassette recombinase(*ccr*) 유전자 복합체를 포함한 여러 인자의 조합에 따라 5가지 SCC*mec* type(I-V)과 여러 가지 아형으로 분류하고 있다 [3, 12, 37]. 또한 SCC*mec* type의 특성에 따라 병원감염 MRSA와 지역사회 관련 MRSA 균주의 연관성이 알려져 있어 MRSA 균주의 역학분석에 SCC*mec* type의 분석이 많이 이용되고 있다 [5, 8]. MRSA에 대한 분자생물학적 역학적인 조사는 항균제 내성 균주의 관리에 필요한 기법으로 이들 내성균주의 전파양상을 파악하는데 도움이 된다. 특히 pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)는 MRSA의 집단 발병의 경우 유용하게 사용되고 있다. 미국과 유럽의 경우 광범위한 지역에서 분리된 MRSA 균주의 PFGE 유형을 데이터베이스로 만들어 병원과 지역사회 간 MRSA 감염의 역학분석에 유용하게 사용하고 있다 [30, 33].

MRSA 감염은 병원 입원환자에서 주로 발생하였으나 최근에는 지역사회의 공동생활 환경에서 쉽게 전파되어지고 있어 지역사회 관련 MRSA 감염에 따른 유행성 균주의 출현에 대한 역학적 연구가 활발히 진행되고 있다 [1, 16]. 하지만 MRSA 감염의 중요성에도 불구하고 국내에서 개와 고양이 같은 동물 유래 세균에서 이에 관한 보고는 드물다 [22, 40].

이 연구에서는 지역사회에서 사람 및 동물에서 분리한 *S. aureus*를 대상으로 항균제 내성 양상을 파악하고, 또한 MRSA의 분리빈도와 이들 MRSA 균주에 대하여는 유전학적 상관성을 알아보기 위해 *mecA* 유전자의 검출, SCC*mec* 형별 및 PFGE를 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

2009년 7월부터 2010년 7월까지 대구지역 소재 동물병원 수의사(n=15), 수의과대학 학생(n=61), 수의업무 관련 직장인(n=38) 및 축산관련 도축장(n=73), 도계장(n=55), 유회리장(n=94), 축산물가공장(n=74) 종사자의 비강과 동물병원에 입원·치료중인 개(n=232)와 고양이(n=5)의 귀 내용물 및 피부 병소로부터 총 647건의 시료를 채취하여 균 분리를 시도하였다.

균 분리 동정

채취한 시료는 10% NaCl을 첨가한 tryptic soy broth(Difco, USA)에 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 egg yolk-terullite emulsion(Oxoid, UK)이 첨가된 Baired-Parker agar(Oxoid, UK) 배지 상에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 의심되는 집락을 선택하여 blood agar(Asan Pham, Korea)에서 β -용혈성을 보이고 mannitol 양성 및 coagulase 양성을 나타낸 균주에 대하여는 *S. aureus* 특이 primer [29]와 Vitek GPI(BioMerieux, France)를 이용하여 *S. aureus*로 최종 동정하였다.

항균제 감수성 시험

항균제 감수성시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute [9]의 기준에 따라 디스크 확산법으로 실시하였다. 항생제 디스크는 Oxoid사(UK)의 amoxicillin/clavulanic acid(AMC), cefoxitin(FOX), ceftiofur(EFT), cephalothin(CF), chloramphenicol(CM), clindamycin(CC), erythromycin(EM), enrofloxacin(ENR), gentamicin(GM), novobiocin(NV), penicillin(PC), pirlimycin(PRL), tetracycline(TE), sulfamethoxazole/trimethoprim(SXT) 및 vancomycin(VA) 등 15종을 공시하였다. MRSA 확인을 위한 methicillin 내성은 oxacillin agar screen 법 [35]을 이용하여 oxacillin(6 μ g/mL; Sigma, USA)과 NaCl(4%)이 함유된 Mueller-Hinton agar에 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL의 균을 spot 접종하고, 35°C에서 24시간 배양 후 뚜렷한 집락이 형성되면 methicillin 내성으로 판정하였다. 항균제 감수성 시험의 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 25923을 사용하였다.

DNA 분리 및 *mecA* 유전자 검출

Genomic DNA 분리는 0.5 mg/mL lysostaphin(Sigma, USA)을 사용하여 Wizard Genomic DNA Purification Kit(Promega, USA)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 추출하였다. *mecA* 유전자의 검출은 *mecA1*(5'-AAAATCGATG GTAAAGGTT GGC-3')와 *mecA2*(5'-

AGT TCTGCAGTACCGGATTTCG-3) primer를 사용하여 Murakami 등 [32]의 방법에 따라 실시하였다. PCR 반응은 Maxime PCR PreMix(*i-Star Taq*; INtRON Biotech, Korea)에 각각의 10 pmol primer 1 µL와 template DNA 2 µL를 넣은 후 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 반응량이 20 µL가 되게 하여 TProfessional Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하여 수행하였다. PCR 조건은 94°C에서 5분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 과정을 총 40회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension을 하였다. PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동을 실시한 후 증폭산물의 크기를 확인하여 *mecA* 유전자를 확인하였다.

SCCmec 유전자형 분석

SCCmec 유전자형 분석은 Oliveira 등 [37]의 방법에 따라 8 locus(A-H)의 primer를 사용하였고(Table 1), 3조합(AB, CD 및 E-H)으로 나누어 multiplex-PCR을 실시하였다. PCR 반응은 Maxime PCR PreMix를 사용하여 각각의 10 pmol primer 1 µL와 template DNA 0.5 µL를 넣은 후 증류수로 최종 반응량이 20 µL가 되게 하여 TProfessional Thermal Cycler를 이용하여 수행하였다. PCR 조건은 95°C에서 4분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 과정을 총 40회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 4분간 final extension을 하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동을 실시

한 후 증폭산물의 크기를 확인하여 SCCmec형을 결정하였다.

Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)

PFGE 분석은 제한효소 *SmaI*(50,000 U, Roche; Bio-Rad, USA)을 사용하여 미국질병통제센터(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)에서 운영 중인 PFGE network인 'PulseNet' PFGE 표준 실험법에 따라 실시하였다. PFGE 분석을 위한 전기영동은 0.5 × TBE buffer(Bioneer, Korea)를 사용하여 CHEF-Mapper XA Chiller system(Bio-Rad, USA)으로 6 v/cm, 120°, 15°C, ramped pulse time 5.16~40.17초의 조건으로 17시간 전기영동을 하였다.

결 과

대구지역 수의 및 축산관련 일반인의 비강 및 동물병원에 입원, 치료중인 개와 고양이의 귀 및 피부병소에서 *S. aureus*를 분리한 결과는 Table 2과 같다. 일반인 410명에서 67주(16.3%)의 *S. aureus*가 분리되었으며 이중 수의업무 관련 직장인에서 34.2%로 가장 높은 분리율을 보였고 다음 의과대학 학생(21.3%), 축산물가공장 종사자(18.9%), 도축장 종사자(13.7%), 동물병원 수의사(13.3%) 순이었고 유치리장 및 도계장 종사자에서는 각각 10.6%와 9.1%가 분리되었다. 동물의 경우 개 232두에서 1주(0.4%) 및 고양이 5두에서 1주(20%)의 *S. aureus*를 분리하였다. 개에서 *S. aureus*의 분리율이 매우 낮았다.

Table 1. The list of sequence of primers used in this analysis of Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec)

Locus	Primer names	Oligonucleotide sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)	SCCmec type
A	CIF2-F2	TTCGAGTTGCTGATGAAGAAGG	495	I
	CIF2-R2	ATTTACCACAAGGACTACCAGC		
B	KDP-F1	AATCATCTGCCATTTGGTGATGC	284	II
	KDP-R1	CGAATGAAGTGAAAGAAAGTGG		
C	MECI-P2	ATCAAGACTTGCATTCAGGC	209	II, III
	MECI-P3	GCGGTTTCAATTCACCTTGTC		
D	DCS-F2	CATCCTATGATAGCTTGGTC	342	I, II, IV
	DCS-R1	CTAAATCATAGCCATGACCG		
E	RIF4-F3	GTGATTGTTTCGAGATATGTGG	243	III
	IRIF4-R9	CGCTTATCTGTATCTATCGC		
F	RIF5-F1	TTCTTAAGTACACGCTGAATCG	414	III
	RIF5-R13	GTCACAGTAATCCATCAATGC		
G	IS431-P4	CAGGTCTCTTCAGATCTACG	381	IA
	pUB110-R1	GAGCCATAAACACCAATAGCC		
H	IS431-P4	CAGGTCTCTTCAGATCTACG	303	IIIA
	pT181-R1	GAAGAATGGGGAAAGCTTCAC		

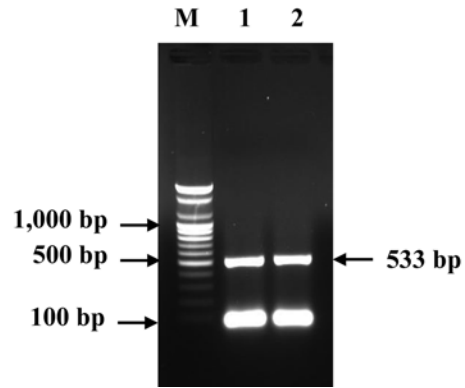
Table 2. The prevalence rate of *Staphylococcus aureus* from humans and animals

Source	No. of samples	No. of isolates (%)
Veterinarian	15	2 (13.3)
Veterinary student	61	13 (21.3)
Veterinary officer	38	13 (34.2)
Meat processing plant employee	74	14 (18.9)
Milk processing plant employee	94	10 (10.6)
Slaughterhouse employee	73	10 (13.7)
Chicken slaughterhouse employee	55	5 (9.1)
Dogs	232	1 (0.4)
Cats	5	1 (20.0)
Total	647	69 (10.7)

분리균 69주에 대한 AMC 등 15종의 항균제에 대한 내성을 시험하였던 바 그 결과는 Table 3과 같다. 전체적으로 *S. aureus*는 PC에 81.1%로 가장 높은 내성률을 보였고 다음으로 EM과 TE에는 각각 14.4%와 10.1% 그리고 AMC, FOX, EFT, CF, CM, CC, GM 및 PRL에는 5% 미만의 낮은 내성률을 나타내었으며 ENR, NV 및 VA에는 모든 균주가 감수성이었다. 개 유래 *S. aureus* 1주는 EM, PC 및 SXT에 내성을 보였고 나머지 약제에는 감수성을 나타내었으며, 고양이 유래 *S. aureus* 1주는 AMC, FOX, EFT, CM, CC, EM, PC, PRL, TE 및 SXT에 내성을 그리고 CF, ENR, GM, NV 및 VA에는 감수성을 나타내어 일반인 유래 균과는 내성양상의 차이가 있었다.

Table 3. Antimicrobial resistance of 69 *Staphylococcus aureus* isolates from humans and animals

Antimicrobial agents	No. of resistant isolates (%)			
	Humans (n = 67)	Dog (n = 1)	Cat (n = 1)	Total (n = 69)
Amoxicillin/clavulanic acid	1 (1.5)	0 (0.0)	1 (100.0)	2 (2.9)
Cefoxitin	1 (1.5)	0 (0.0)	1 (100.0)	2 (2.9)
Ceftiofur	1 (1.5)	0 (0.0)	1 (100.0)	2 (2.9)
Cephalothin	1 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.4)
Chloramphenicol	2 (3.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	3 (4.3)
Clindamycin	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (1.4)
Erythromycin	8 (11.9)	1 (100.0)	1 (100.0)	10 (14.4)
Enrofloxacin	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Gentamicin	3 (4.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (4.3)
Novobiocin	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Penicillin	54 (80.6)	1 (100.0)	1 (100.0)	56 (81.1)
Pirlimycin	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (1.4)
Tetracycline	6 (9.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	7 (10.1)
Sulfamethoxazole/trimethoprim	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)	1 (1.4)
Vancomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

**Fig. 1.** Detection of *mecA* genes from 2 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates by PCR. Lane M: Marker (100 bp ladder), Lane 1: CS-51, Lane 2: HS-142.

공시균 69주 중 일반인에서 1주(HS-142) 및 고양이에서 1주(CS-51) 등 총 2주(2.9%)는 oxacillin screen법에 의해 MRSA 균주로 확인하였다. MRSA 균주로 확인된 2주에 대한 유전학적 특성은 Table 4와 같다. HS-142주는 AMC, FOX, EFT, CF, EM, oxacillin(OX) 및 PC 등 7종의 약제에 내성을 보였고, CS-51주는 AMC, EFT, FOX, CM, CC, EM, OX, PC, PRL, TE 및 SXT 등 11종의 약제에 내성을 나타내었다. MRSA로 확인된 이들 균주에서 methicillin 내성과 관련된 *mecA* 유전자의 보유 유무를 알아보기 위해 특이 primer을 이용하여 PCR을 실시한 결과 두 균주 공히 533 bp 크기의 *mecA* 유전자가 검출되었다(Fig. 1). *mecA* 유전자가 확인된 MRSA

Table 4. Genetic characterization of 2 MRSA isolates from humans and animals

Isolates	Origin	<i>mecA</i>	Antimicrobial resistance pattern*	SCC <i>mec</i> type	PFGE type
CS-51	Cat (ear)	+	AMC, EFT, FOX, CM, CC, EM, OX, PC, PRL, TE, SXT	IIIB	I
HS-142	Human (nasal cavity)	+	AMC, EFT, FOX, CF, EM, OX, PC	ND†	II

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *AMC: amoxicillin/clavulanic acid, EFT: ceftiofur, FOX: cefoxitin, CM: chloramphenicol, CC: clindamycin, EM: erythromycin, OX: oxacillin, PC: penicillin, PRL: pirlimycin, TE: tetracycline, SXT: sulfamethoxazole/trimethoprim, CF: cephalothin. †Not determined.

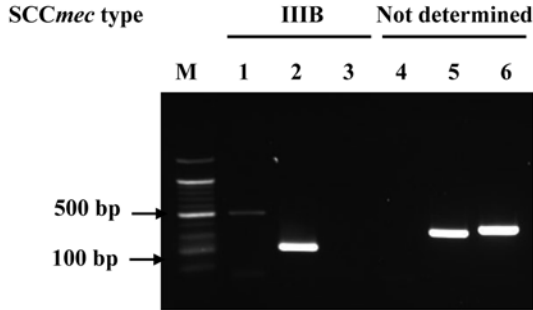


Fig. 2. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) types identified by multiplex PCR. Lane M: marker (100 bp ladder, Bioneer), Lane 1 and 4: loci A and B, Lane 2 and 5: loci C and D, Lane 3 and 6: loci E to H : SCC*mec* variant IIIB (Lanes 1 to 3: 209 bp), Not determined (Lanes 4 to 6: 381 bp, 342 bp).

균주의 SCC*mec* type을 형별하기 위해 8종의 primer를 이용하여 SCC*mec* typing을 실시한 결과 CS-51주는 SCC*mec* 변이주인 type IIIB형이 검출되었으나, HS-142는 SCC*mec* type을 확인할 수 없었다(Fig. 2).

MRSA로 확인된 이들 두 균주에 대하여 유전학적 상관관계를 알아보기 위해 PFGE를 실시한 결과 두 균주는 서로 다른 양상을 나타내었다(Fig. 3).

고 찰

MRSA는 병원 내 감염을 일으키는 중요한 세균으로 주로 입원 환자에서 분리되는 것으로 알려져 있으나 최근 들어 지역사회 일반인뿐만 아니라 개와 고양이 같은 동물에서도 이들 균주의 출현이 보고되고 있어 문제가 되고 있다 [28, 39, 42]. 따라서 이 연구에서는 지역사회 일반인과 동물에서 MRSA의 분리빈도 및 이들 분리주 간 유전학적 연관성을 알아보기 위해 *mecA* 유전자의 검출, SCC*mec* 형별 및 PFGE를 실시하였다.

대구지역 일반인의 비강에서 *S. aureus*의 분리율은 16.3%로 나타나 Kim 등 [17]의 지역사회 성인의 전비공에서 33%, Kwon 등 [23]은 국내 지역별로 무작위로 선출된 일반인의 비강에서 27.5%, Jeong 등 [13]이 서울지

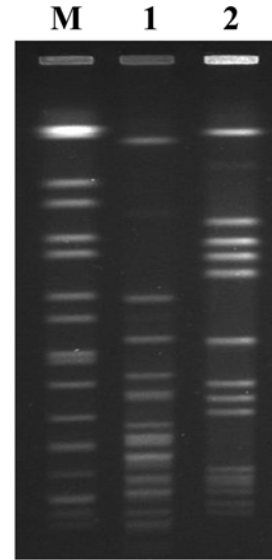


Fig. 3. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) patterns of MRSA isolates digested with *Sma*I. Lane M: Marker (*Salmonella* Braenderup), Lane 1: CS-51, Lane 2: HS-142.

역 일반인의 비강에서 25.2%의 성적보다는 다소 낮았다. 한편 *S. aureus*는 건강한 사람이나 동물의 비강 및 체표 등에 상재하는 정상세균으로 일반인에서 보균율은 평균 37.2%로 보고되고 있다 [20]. 특히 이번 조사에서 지역사회 일반인 중 *S. aureus*의 분리율은 수의업무 관련 직장인에서 34.2%로 가장 높게 나타났다.

건강한 개의 피부 및 병변재료 등으로부터 *S. aureus*의 분리율은 매우 낮은 것으로 보고되고 있고 [2, 11, 38], 이번 조사의 결과도 이와 유사하였다. 반면 Kim 등 [19]은 서울지역 유기견 보호소에 집단으로 보호 중인 개 200두에서 *S. aureus* 38주(19%)를 보고하여 이번 성적과는 큰 차이가 있었다. 이와 같은 높은 분리율은 단독으로 사육하는 경우보다 집단 사육으로 인한 교차오염 가능성을 보여주고 있는 것으로 생각된다. 한편 일반인에서 *S. aureus*의 분리율은 국내의 이전 연구자들의 성적 [13, 17, 23]과 비교 시 큰 차이가 없었다.

Jeong 등 [13]은 서울지역 일반인의 비강에서 분리된

S. aureus 781주에 대한 항균제 내성 검사를 실시한 결과 PC에 대한 내성률이 91.8%로 가장 높았고 다음 EM, GM, TE에 14.2~8.2%의 내성률을 보고하여 이번 연구의 결과와 유사하였다. 한편 Kwon 등 [23]은 국내 의료 환경에서 분리한 *S. aureus*에서 PC, ampicillin, EM 및 TE 등의 약제에 높은 내성률을 나타내었으며 또한 의료 환경에서 분리한 균이 일반인에게 분리한 균보다 많은 종류의 항균제에 내성을 나타내었다고 보고하였다. Byun 등 [4]은 개에서 분리한 *S. aureus* 23주에 대한 항균제 내성 시험에서 PC(87.0%), TE(78.0%), EM(57.0%) 및 SXT와 lincomycin(각각 52.0%)에 50%이상의 높은 내성률을 보고하였고, Kim 등 [19]도 개와 고양이에서 분리한 *S. aureus* 73주에서 PC 86.3%, TE 13.7%, EM 11.0%, SXT 8.2%의 내성률을 보고하였다. 이번 연구에서도 개와 고양이 유래 *S. aureus*에서 PC, TE, EM 및 SXT 같은 약제에 내성을 나타내었으나 공시균의 수가 각각 1주로 제한되어 내성 양상을 비교할 수는 없었다. 한편 이 연구 결과를 포함하여 사람과 동물 유래 *S. aureus*에서 PC, TE 및 EM 등과 같은 약제에 높은 내성을 보이는 것은 국내에서 이들 약제가 질병의 치료를 위해 많이 사용되었기 때문으로 생각된다.

Kim 등 [17]은 성인의 전비공에서 MRSA의 분리율이 2.2%, Jeong 등 [10]은 일반인의 비강에서 3.8%이었으나, Kwon 등 [23]은 일반인의 비강으로부터 MRSA가 검출되지 않았다고 보고하였다. 이번 조사에서도 일반인의 비강에서 분리된 *S. aureus* 67주 중 1주(2.9%)만이 MRSA로 확인되어 이들과 유사한 결과를 나타내었다. 따라서 국내 종합병원의 입원환자에서 MRSA의 분리율이 70% 정도 되는 것에 비하면 일반인에서 MRSA의 분리율은 매우 낮아 아직까지 MRSA는 대부분 종합병원의 입원환자에 국한되어 있음을 알 수 있었다 [18, 24].

최근 개와 고양이 등 애완동물에서 MRSA 발생이 점차 증가하는 추세로서 이들 동물에서 감염은 MRSA를 보유하고 있는 사람과의 접촉, 반복된 항생제의 투여, 장기간 입원 및 외과적 수술 같은 위험요인과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다 [28]. Lin 등 [27]은 미국의 동물병원에서 치료중인 개에서 37.5%, 고양이에서 31.6%의 매우 높은 MRSA 분리율을 보고함과 동시에 이들 동물에서 MRSA의 존재는 반대로 동물에서 사람으로의 인수공통 병원체의 전파가능성을 제시하였다. 한편 Kwon 등 [22]은 국내 동물병원에 입원한 개에서 분리한 *S. aureus* 17주 중 3주(17.7%)가 MRSA임을 보고하였으나, Pak [38]은 개와 고양이에서 분리한 53주의 *S. aureus*에서 MRSA가 검출되지 않았다고 하였다. 이번 연구에서는 고양이 5두 중 1두에서 *S. aureus*가 분리되었으며 이 분리주가 MRSA로 확인되었다. 따라서 금후 고양이

에 대하여 보다 많은 개체로부터의 *S. aureus* 분리 및 분리균의 MRSA 검사 등에 대한 광범위한 조사가 필요할 것으로 생각된다. MRSA로 확인된 2주는 다약제 내성균으로 감염증에 사용할 치료제의 선택이 제한되어 있다는 점에서 임상적으로 문제가 된다. 따라서 이런 다약제 내성 MRSA의 지역사회로 전파 방지를 위해 사람뿐만 아니라 개와 고양이 등 애완동물에서도 지속적으로 MRSA를 모니터링 하여 이들 균의 감염방지를 위한 대책 수립이 시급한 것으로 생각된다. 또한 산업동물에 있어서 국내 유방염에 감염된 소의 우유에서 Nam 등 [34]은 4.2%, Moon 등 [31]은 2.7%, Lee [25]는 소, 돼지 및 닭에서 3.6%, Lim 등 [26]은 소, 돼지 및 닭고기에서 0.6%의 MRSA 분리율을 보고한 바 있다. 따라서 산업동물에 있어서 감염률은 높지 않았지만 이들 동물에 대해서도 항생제 내성균의 증가 및 전파의 원인이 될 수 있는 MRSA의 모니터링이 필요할 것으로 생각된다.

mecA 유전자는 penicillin과 cephalosporins 같은 β -lactam 계열의 항생제에 내성을 나타내는 주요 원인 단백질인 penicillin-binding protein 2a(PBP2a)를 암호화하는 유전자이다 [6]. 이번 연구에서 methicillin에 내성을 보인 2주 모두 *mecA* 유전자를 가진 것으로 확인되었다.

SCC*mec* 유형은 MRSA의 클론성과 연관성이 있는 것으로 알려져 있어 MRSA 균주의 역학분석에 많이 사용되고 있다. SCC*mec*은 I-V형으로 나누어지며 SCC*mec* I형, II형 및 III형은 원내감염 그리고 SCC*mec* IV형은 지역사회 감염과 관련이 있는 것으로 알려져 있다 [5, 21]. 이번 연구에서 MRSA 2주에 대한 SCC*mec* 유형을 형별한 결과 CS-51주는 SCC*mec* IIIB형(loci C; 209 bp)으로 확인되었다. SCC*mec* III형의 변이주인 SCC*mec* IIIB형은 downstream 밴드의 결손에 의해 SCC*mec* III형(loci C: 209 bp, E: 243 bp, F: 414 bp, H: 303 bp)과 구분이 된다. 한편 HS-142주는 SCC*mec* I형(loci A: 495 bp, D: 342 bp, G: 381 bp)에 속하는 것으로 추정되나 loci A중 495 bp의 밴드가 없어 명확한 SCC*mec* 유형을 형별할 수 없었다 [37]. 이번 연구에서는 MRSA 분리주의 수가 적어 유행하는 SCC*mec* 유형은 알 수 없었으나 국내 동물에서 SCC*mec* IIIB형이 처음으로 확인되었다. 국내 동물 유래에서 SCC*mec* 유형에 관한 보고는 Kwon 등 [22]이 개에서 SCC*mec* II형을, Lim 등 [26]이 쇠고기와 돼지고기에서 SCC*mec* IVa형 그리고 닭고기에서 SCC*mec* IV형을 보고한 바 있다. 한편 Ko 등 [21]은 아시아 12개 국가를 대상으로 SCC*mec* 유형을 분석한 결과 우리나라와 일본에서는 SCC*mec* II형이 주로 유행하고 있으나 다른 나라에서는 SCC*mec* III형이 가장 유행하는 것으로 보고하였다. 한편 Kilic 등 [15]은 미국 테네시 주 지역에서 SCC*mec* IV형이 가장 많이 분리된다고 보고

하여 SCCmec 유형은 국가 간 차이가 있음을 알 수 있었다.

Wielders 등 [43]은 미국과 유럽에서 1,069주의 *S. aureus*를 대상으로 PFGE를 실시한 결과 10개 정도의 유형으로 분류되었으며 주요한 몇 개의 MRSA 클론이 지역적으로 다른 여러 병원체 전파되어 있다고 보고하였다. 이번 연구에서 MRSA로 확인된 2주에 대하여 PFGE를 실시하였던바 두 균주 간에 유전학적 연관성은 인정되지 않았다.

이번 연구 결과 지역사회 일반인과 동물에서 MRSA의 분리율은 매우 낮았다. 하지만 항생제의 빈번한 사용과 노출로 인해 앞으로 임상이나 지역사회 등 다양한 경로에서 MRSA 균주 출현의 증가가 우려되며, 특히 MRSA 균주는 인수공통병원균으로서 사람에서 동물로 또는 동물에서 사람으로의 전파가 가능하므로 지역사회 내 MRSA의 전파를 차단하기 위해 사람 및 동물에 대한 지속적인 감독과 모니터링이 필요할 것으로 생각된다.

결 론

이 연구는 지역사회 일반인 및 동물에서 *S. aureus*를 분리하여 항균제 내성양상을 파악하고, MRSA 균주에 대하여는 분리주간 유전학적 연관성을 알아보기 위해 *mecA* 유전자의 검출, SCCmec 형별 및 PFGE를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 일반인 유래 67주, 개 및 고양이에서 각각 1주 등 총 69주(10.7%)의 *S. aureus*를 분리하였다. 이들 분리균에 대한 항균제 감수성 시험 결과 PC에 81.1%로 가장 높은 내성률을 나타내었고 다음은 EM(14.4%), TE(10.1%) 순이었다. 공시균 69주 중 2주(일반인: 1주, 고양이: 1주)가 MRSA로 확인되었으며, 이들 2주 공히 methicillin 내성과 관련이 있는 *mecA* 유전자를 보유하고 있었다. 또한 *mecA* 유전자를 보유한 이들 2주에 대한 SCCmec 유형을 형별한 결과 고양이 유래 1주는 SCCmec IIIB형이 확인되었으나 일반인 유래 1주는 명확한 SCCmec type을 확인할 수 없었다. 이들 두 균주 간 PFGE 유형 또한 서로 연관성이 없는 것으로 확인되었다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 경북대학교 학술연구비에 의해 연구되었음.

참고문헌

1. Bae IG, Kim JS, Kim S, Heo ST, Chang C, Lee EY. Genetic correlation of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from carriers and from patients with clinical infection in one region of Korea. J Korean Med Sci 2010, **25**, 197-202.
2. Berg JN, Wendell DE, Vogelweid C, Fales WH. Identification of the major coagulase-positive *Staphylococcus* sp of dogs as *Staphylococcus intermedius*. Am J Vet Res 1984, **45**, 1307-1309.
3. Boyle-Vavra S, Ereshefsky B, Wang CC, Daum RS. Successful multiresistant community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineage from Taipei, Taiwan, that carries either the novel staphylococcal chromosome cassette *mec* (SCCmec) type VT or SCCmec type IV. J Clin Microbiol 2005, **43**, 4719-4730.
4. Byun JH, Kim TJ. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *S. intermedius* isolated from dogs. Korean J Vet Res 2007, **47**, 43-50.
5. Cha EK, Chang KS, Hwang SM. Correlation between staphylococcal cassette chromosome *mec* type and coagulase serotype of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol Virol 2009, **39**, 71-78.
6. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev 1997, **10**, 781-791.
7. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis 2001, **7**, 178-182.
8. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chavalit T, Song JH, Hiramatsu K. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother 2006, **50**, 1001-1012.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 9th informational supplement: approved standard M2-A9. CLSI, Wayne, 2006.
10. Eady EA, Cove JH. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*--an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. Curr Opin Infect Dis 2003, **16**, 103-124.
11. Hoekstra KA, Paulton RJL. Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus*

- and *Staph. intermedius* in dogs. J Appl Microbiol 2002, **93**, 406-413.
12. **Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K.** Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. Antimicrob Agents Chemother 2004, **48**, 2637-2651.
 13. **Jeong HY, Jang SJ, Choi BK, Kim YL, Min CS, Baek KM, Lee KH, Lee SY, Lee JE, Lee MS, Lee KW.** Monitoring on the bacterial resistance to antibiotics in community (IV). Report on national antimicrobial resistance management program. pp. 63-71, Korea Food and Drug Administration, Cheongwon, 2003.
 14. **Jevons MP.** "Celbenin"-resistant Staphylococci. Br Med J 1961, **1**, 124-125.
 15. **Kilic A, Li H, Stratton CW, Tang YW.** Antimicrobial susceptibility patterns and staphylococcal cassette chromosome *mec* types of, as well as Panton-Valentine leukocidin occurrence among, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children and adults in middle Tennessee. J Clin Microbiol 2006, **44**, 4436-4440.
 16. **Kim ES, Song JS, Lee HJ, Choe PG, Park KH, Cho JH, Park WB, Kim SH, Bang JH, Kim DM, Park KU, Shin S, Lee MS, Choi HJ, Kim NJ, Kim EC, Oh MD, Kim HB, Choe KW.** A survey of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. J Antimicrob Chemother 2007, **60**, 1108-1114.
 17. **Kim HB, Shin DH, Park KU, Oh MD, Kim EC, Choe KW.** The methicillin-resistance rate of *Staphylococcus aureus* isolated from anterior nares of healthy adults in the community. Infect Chemother 1998, **30**, 527-531.
 18. **Kim JS, Kim HS, Song WK, Cho HC, Lee KM, Kim EC.** Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated in 13 Korean hospitals. Korean J Lab Med 2004, **24**, 223-229.
 19. **Kim NH, Chae HS, Son HR, Kim CK, Kim SH, Lee JH, Kim CH.** Antimicrobial susceptibility and detection of enterotoxin by multiplex PCR of *Staphylococcus aureus* isolated from dogs and cats in Seoul. Korean J Vet Serv 2010, **33**, 263-269.
 20. **Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H.** Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 1997, **10**, 505-520.
 21. **Ko KS, Lee JY, Suh JY, Oh WS, Peck KR, Lee NY, Song JH.** Distribution of major genotypes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Asian countries. J Clin Microbiol 2005, **43**, 421-426.
 22. **Kwon NH, Park KT, Jung WK, Youn HY, Lee Y, Kim SH, Bae W, Lim JY, Kim JY, Kim JM, Hong SK, Park YH.** Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. Vet Microbiol 2006, **117**, 304-312.
 23. **Kwon YI, Kim TW, Kim HY, Chang YH, Kwak HS, Woo GJ, Chung YH.** Monitoring of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from medical environment in Korea. Korean J Microbiol Biotechnol 2007, **135**, 158-162.
 24. **Lee HW, Yoon JH, Sohn JH, Lee KH, Yeh BI, Park DW, Kim HW, Choi JW.** Detection of *mecA* gene in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* by multiplex-PCR and antimicrobial susceptibility of MRSA. J Microbiol Biotechnol 2003, **13**, 354-359.
 25. **Lee JH.** Methicillin (Oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. Appl Environ Microbiol 2003, **69**, 6489-6494.
 26. **Lim SK, Nam HM, Park HJ, Lee HS, Choi MJ, Jung SC, Lee JY, Kim YC, Song SW, Wee SH.** Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meat in Korea. J Microbiol Biotechnol 2010, **20**, 775-778.
 27. **Lin Y, Barker E, Kislow J, Kaldhove P, Stemper ME, Pantrangi M, Moore FM, Hall M, Fritsche TR, Novicki T, Foley SL, Shukla SK.** Evidence of multiple virulence subtypes in nosocomial and community-associated MRSA genotypes in companion animals from the upper midwestern and northeastern United States. Clin Med Res 2011, **9**, 7-16.
 28. **Loeffler A, Lloyd DH.** Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community? Epidemiol Infect 2010, **138**, 595-605.
 29. **Mason WJ, Blevins JS, Beenken K, Wibowo N, Ojha N, Smeltzer MS.** Multiplex PCR protocol for the diagnosis of staphylococcal infection. J Clin Microbiol 2001, **39**, 3332-3338.
 30. **McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC.** Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a

- national database. J Clin Microbiol 2003, **41**, 5113-5120.
31. **Moon JS, Lee AR, Kang HM, Lee ES, Joo YS, Park YH, Kim MN, Koo HC.** Antibigram and coagulase diversity in staphylococcal enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. J Dairy Sci 2007, **90**, 1716-1724.
 32. **Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S.** Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991, **29**, 2240-2244.
 33. **Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, de Ryck R, Struelens M, Zinn CE, Fussing V, Salmenlinna S, Vuopio-Varkila J, El Solh N, Cuny C, Witte W, Tassios PT, Legakis N, van Leeuwen W, van Belkum A, Vindel A, Laconcha I, Garaizar J, Haeggman S, Olsson-Liljequist B, Ransjo U, Coombes G, Cookson B.** Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. J Clin Microbiol 2003, **41**, 1574-1585.
 34. **Nam HM, Lee AL, Jung SC, Kim MN, Jang GC, Wee SH, Lim SK.** Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Korea. Foodborne Pathog Dis 2011, **8**, 231-238.
 35. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard-sixth edition. NCCLS document M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, 2003.
 36. **Normand EH, Gibson NR, Reid SWJ, Carmichael S, Taylor DJ.** Antimicrobial-resistance trends in bacterial isolates from companion-animal community practice in the UK. Prev Vet Med 2000, **46**, 267-278.
 37. **Oliveira DC, de Lencastre H.** Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2002, **46**, 2155-2161.
 38. **Park CK, Choi SM, Lee YJ, Kim KS, Yeo SG.** Species distribution and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from canine clinical specimens. Korean J Vet Res 2004, **44**, 407-413.
 39. **Pak SI.** Study on the Methicillin-resistant Gene Distribution of Staphylococci Isolated from Dogs and Cats. J Vet Clin 2003, **20**, 302-307.
 40. **Pak SI, Han HR, Shimizu A.** Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dogs in Korea. J Vet Med Sci 1999, **61**, 1013-1018.
 41. **Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE.** Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals. 8th ed. pp. 171-196, Comstock Publishing Associates, Ithaca, 1988.
 42. **Walther B, Wieler LH, Friedrich AW, Hanssen AM, Kohn B, Brunnberg L, Lübke-Becker A.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from small and exotic animals at a university hospital during routine microbiological examinations. Vet Microbiol 2008, **127**, 171-178.
 43. **Wielders CLC, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, Schmitz FJ.** *mecA* gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. J Clin Microbiol 2002, **40**, 3970-3975.