

Staphylococcus Species in the Dental and Medical Environment

Seung-Ho Han¹, Shin-Moo Kim², Seung-II Jeong³, and Kang-Ju Kim^{4*}

¹Department of Laboratory Medicine, Veterans Hospital, Daejeon, Korea

²Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science College, Iksan 570-749, Korea

³Jeonju Biomaterials Institute, Jeonju 561-360, Korea

⁴Department of Oral Microbiology & Immunology, School of Dentistry, & Institute of Biotechnology Wonkwang University, Iksan, Korea

(received December 7, 2012 ; revised February 18, 2013 ; accepted February 28, 2013)

Staphylococcus species are one of prevalent pathogens found in hospitals. Microbes that are a primary cause of nosocomial infection were isolated from a dental and medical environment it may assist the reader to explain what this is and how it differs from the 'dental health care providers and ward health care providers'. To investigate the distribution of staphylococcus species in this environment, we used vitek II to measure drug sensitivity, and further performed biochemical testing. The isolation rate of staphylococcus species from the dental and medical environment was 100% but from dental health care providers and ward health care providers were 44.4% and 33.3%, respectively. In the analyses, staphylococcus species showed resistance to diffusion of cefoxitin and oxacillin discs. These staphylococci may be sufficiently positive for the *mecA* gene. Our results suggest that staphylococci might be an important cause of nosocomial infection in the dental clinic.

Key words: Antimicrobial agents, Staphylococcus species, nosocomial infection

*Correspondence to: Kang-Ju Kim, Dept. of Oral Microbiology & Immunology, School of Dentistry, & Institute of Biotechnology Wonkwang Univ. 344-2, Shinyongdong, Iksan-City, Chollabuk-do, 570-749, Korea, Tel: +82-63-850-7157, Fax: +82-63-850-6858, E-mail: kjkimom@wonkwang.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

건강인의 비장, 인후 점막이나 피부에 정상으로 존재하는 포도상구균속은 기회감염을 통해 국소 및 전신 감염을 유발하는 그람양성구균으로 화농성 감염의 70% 이상을 차지하고 있는 원내감염의 주요 원인 균의 하나이다. 병원 및 한정된 공간 내에 많은 인원이 수용된 환경에서 공기오염으로 자주 발생할 수 있고, 병원내 공기오염과 병원성 감염과는 비례적으로 발생한다고 보고 되고 있다[1]. 치과 진료에 있어서도 의사와 환자 간의 혈액, 타액, 진료기구 등을 통한 접촉에 의한 교차감염 가능성이 상당히 높은 것으로 보고 되고 있다. 최근, 포도상구균속의 병원내 감염이 꾸준히 증가하고 있고, 구강악안면의 감염환자 및 선천성 심장병 어린이가 내원하는 소아치과의 경우, 이러한 세균 감염으로 환자의 치료가 어렵고, 입원기간이 연장되어 의료비용이 높아질 뿐만 아니라, 상당한 영향을 줄 수 있는 주요한 문제로 발생 될 수 있다. 또한, 치과치료 후 발생할 수 있는 심내막염, 균혈증, 골수염, 복막염, 연조직 감염 등에 포도구균속이 연관 되고 있다[2-4]. 원내감염 원인균을 찾아내고, 의료인과 환자간의 교차감염의 경로를 차단하기 위해 원내감염균과 비병원성 감염균주를 정확히 파악하는 기술이 필요하다[5]. 더불어, 병원오염환경이 감염의 전파경로가 될 수 있기에, 의료환경내 공기 중의 미생물을 확인하는 것이 상당한 의의가 있다고 보고된다[6-7]. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*와 Methicillin-resistant coagulase negative staphylococcus은 원내감염의 주요 원인균으로서 알려져 있다[8]. 메티실린 내성 Gram

양성 구균들은 β -lactam계 항균제로 치료가 필요하며, 또한 이들은 항균제에 다제내성을 나타내므로, 치료에 많은 어려움이 따른다[9]. 포도구균속의 메치실린 내성 기전은 염색체 상에 존재하는 *mec*이라는 메치실린 내성결정인자에 의해 매개된다[10-11]. 즉 *mec* 유전자는 페니실린 결합 단백질(penicillin binding protein, PBP)인 PBP2' 또는 PBP2a라고도 불리는 단백질에 대한 구조 유전자인 *mecA*를 포함하고 있다[11-13]. PBP2a는 기존의 페니실린 결합 단백질들, 즉 PBPs 1,2,3,4를 불활성 시킬 수 있는 β -lactam계 항균제 농도에서도 세포벽의 주요 성분인 펩티도글리칸의 합성을 지속적으로 수행할 수 있는 능력을 가지게 된다[14-16]. 본 연구에서 원내감염균의 주요 원인균인 포도구균속을 분리하기 위해서 치과, 병동의료인의 비강, 의료환경을 조사하였다. 또한, 분리된 포도구균속의 항균제 감수성 양상을 파악하였으며, cefoxitin disc을 이용하여 분리된 메치실린 내성균주의 *mecA* 존재 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험대상

대전보훈병원의 치과 의료인과 진료실 환경 및 본원의 중환자실 의료인과 의료환경을 대상으로 시료를 채취하였다.

세균의 분리 및 동정

치과진료실의 의료인 및 중환자실의 의료인 비강에서 면봉을 이용해 시료를 채취하였고, 균종의 분리를 위하여 증균배지인 thioglycollate broth(BBL, USA)에서 37°C 8시간 배양하였고, 배양된 검체를 가지고 분리배지인 blood agar plate(BAP) media(Asan, Korea), MacConkey media (Asan, Korea)에 각각 접종하여 37°C에서 18시간 배양하여, 얻은 접락으로 catalase, coagulase test를 실시하였다. 치과 진료실, 중환자실 의료 환경의 균종분리를 위하여 BAP 평판 배지를 2시간 동안 의료 환경에 노출 시킨 후 37°C에서 18시간 배양하여 얻은 접락을 비강에서 채취한 접락과 동일한 생화학적 시험을 한 후, 최종 ID는 Vitek II (bioMerieux Vitek Inc., Hazelwood, MO, USA)로 동정하였다.

항균제 감수성 시험

Minimum Minimal inhibitory concentration(MIC)방법은 0.45% saline 2.5ml을 test tube에 분주 후 멸균된 면봉을 이용해 BAP 배지에서 접락을 채취 한 후, 탁도계를 사용하여 0.5 McFarland standard로 조정 후, Vitek II 장비에서 16-18시간 incu-

bation후 결과 값을 확인하였다. 장비로부터 분리된 포도구균 속의 oxacillin 내성균주는 Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)에 의한 disk diffusion법을 이용하여, 30 μ g cefoxitin 디스크와 1 μ g의 oxacillin 디스크로 내성 여부를 추가 확인 하였고, MIC와 disk diffusion법의 해석은 CLSI breakpoint에 준하였다[22].

결 과

치과, 병동의료인 및 환경으로부터 분리된 staphylococci 분리율

2010년 1월과 6월 사이에 본원의 치과, 병동의료인 및 환경으로부터 총 40개의 검체를 채취하였다. 본 실험결과에서 치과의료인은 총 8인이었으며 분리율은 100.0%를 차지하였다. 전체 분리된 staphylococci에서 차지하는 비율은 치과의료인이 44.4%, 치과진료환경이 11.1%로, 치과의료인과 치과진료환경에서 55.5%가 분리되었다. 동일한 방법으로 병동의료인과 의료환경으로부터 staphylococci를 분리한 결과, 병동의료인이 33.3%, 의료환경이 11.1%로 staphylococci의 총분리율은 44.4%을 차지하였다(Table 1).

항균제 감수성 시험

Vitek II 장비를 이용하여 최소억제농도의 항균제 감수성 시험을 한 결과, 치과와 병동의료인에서 분리된 staphylococci는 benzylpenicillin, clindamycin, erythromycin, oxacillin을 제외한 13 항균제에 대하여 감수성을 보였으며, 공기중으로부터 분리된 staphylococci도 동일한 항균제 패턴을 보였다(Table 2, 3).

Table 1. Isolation rates of staphylococci from nasal swab of health care providers and medical environment

Subject	Percentage of specimens cultured*	Percentage of Staphylococci isolated (%)**
Dental health care providers	100.0 (8/8)	44.4 (8/18)
Dental air culture	100.0 (2/2)	11.1 (2/18)
Ward health care providers	21.4 (6/28)	33.3 (6/18)
Ward air culture	100.0 (2/2)	11.1 (2/18)

*Number of Staphylococci/total Subject.

**Number of Staphylococci/total Staphylococci isolated.

Table 2. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from dental, ward health care providers and medical environment by Vitek II test

Antimicrobial agents	No.(%) of staphylococci isolates from		
	Dental health careproviders (n=8)	Ward health care providers (n=6)	Medical environment (n=4)
Benzylpenicillin	8 (100)	6 (100)	4 (100)
Ciprofloxacin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Clindamycin	8 (100)	6 (100)	4 (100)
Erythromycin	8 (100)	6 (100)	4 (100)
Fusidic acid	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Gentamicin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Habekacin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Levofloxacin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Linezolid	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Nitrofurantoin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Oxacillin	8 (100)	6 (100)	4 (100)
Quinupristin/Dalfopristin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Rifampin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Teicoplanin	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Tetracycline	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Vancomycin	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Table 3. Antimicrobial agents resistance pattern of staphylococci

Strains	Resistance pattern	No.(%) of strains
Staphylococci	*BpCmEmOx	18(100)

*Bp: benzylpenicillin, Cm: clindamycin, Em: erythromycin, Ox: oxacillin

고 찰

치과진료에 있어서도 의료인과 환자간의 혈액이나 타액, 진료기구 등을 통한 직접 접촉으로 인하여 질병의 감염 가능성이 상당히 높은 것으로 보고된다[17]. 또한, 압축공기의 분사력을 이용한 시술이 많은 치과병원 안에서는, 이러한 직접접촉 뿐아니라 많은 종류의 병원체들이 에어로졸의 형태로 병원 안의 공간을 떠다니면서 낙하되어, 진료인과 환자의 신체 및 병원 안의 기구와 장비의 표면을 오염시키므로 이로 인한, 감염의 가능성도 제기 되어왔다[18]. 병원 내 감염은 대개 중증의 복합성 기저질환을 갖고 있는 노년층의 환자, 백혈구 감소증이 있는 환자 등에서 감염 가능성이 매우 높으며, 높은 사망률을 나타내는 것으로 알려져 있다[19-20]. 입원환자의 3-5%가 병원감염을 일으키고, 그 중의 20%가 포도구균에 의한 감염인 것으로 알려져 있

다. 28명의 병원의료인에서 6명이 Staphylococci가 분리되었고, 나머지 22명에서는 Gram-negative rod와 Gram-positive rod가 분리되었다. 본 실험결과에서 치과의료인과 치과진료환경에서 55.5%, 병동의료인과 의료환경에서 44.4%가 분리되어서 치과에서 Staphylococci의 분리비율이 높았다. 또한, Boutiba-Ben Boubaker 등은 연구에서 cefoxitin disc가 *mecA* 조절계통의 유도능이 oxacillin disc 보다 높다는 보고를 하였다. *mecA*유무를 추정하기 위하여, 본 연구에서도 의료인과 의료환경으로부터 분리된 staphylococci 사이에 존재 할 수 있는 *mecA*의 특이도 여부를 알아보고자 조사하였고, 그 결과 cefoxitin disc에 내성을 보임에 따라, *mecA*의 존재유무를 배제할 수 없음을 확인하였다 [21]. 이는, 치과병원에 근무하는 의료인의 관리가 중요함을 시사하고 있다. 환자 자신이 병원을 방문하여 치료도중 의료인 및 의료환경으로부터 감염을 초래 할 수 있으며, 의료인이 병원내 감염의 원인균을 전달하는 매개체 또는 감염경로가 될 수도 있다[6]. 또한, 보다 정확한 메티실린 내성균임을 확인하기 위하여 항균제 내성, 감수성 조사자를 시행하였다. 다제내성균에 대한 감염성의 효과적인 치료와 내성균 증가의 억제를 위하여 항균제 내성, 감수성 결과를 토대로 감염 원인균에 대한 적절한 항균제 선택이 요구되며, 감염의 역학조사가 필요하다고 생각된다[6]. 따라서, 본 연구는 의료인, 의료환경의 메티실린 내성포도구균의 항균

제 내성 및 치과내 감염관리 조사를 위한 기초 자료가 되리라 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 원광대학교의 교비지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

- Kundsin RB. Documentation of airborne infection during surgery. *Ann N Y Acad Sci.* 1980;353:255-61.
- Etienne J, Fleurette J, Ninet JF, Favet P, Gruer LD. *Staphylococcus endocarditis after dental extraction.* Lancet. 1986;2(8505):511-2.
- Etienne J, Pangon B, Leport C, Wolf M, Clair B, Perronne C, Brun Y, Bure A. *Staphylococcus lugdunensis endocarditis.* Lancet. 1989;1: 390.
- Freney J, Brun Y, Bes M, Meugnier H, Grimont F, Grimon PAD, Newi C, Fleurette J. *Staphylococcus lugdunensis sp. and Staphylococcus schleiferi sp. novel two species from human clinical specimens.* *Int Syst Bacteriol.* 1998;38: 168-72.
- Kim SJ. Plasmid Profiles and Ribotyping of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Department of Clinical Pathology, Graduate School, College of Medicine, Seoul National University. 1991.
- Park OH. Study on the Isolation of Bacteria from Door Knobs of Hospital. *Korean Central Journal of Medicine.* 1973;25:637-40.
- Hemming val G, Overall JC, Britt MR. Nosocomial infections in a newborn intensive-care unit. Results of forty-one months of surveillance. *New Engl J Med.* 1976;294(24): 1310-6.
- Jones RN, Barry AL, Gardiner RV, Packer RR. The prevalence of staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins. A retrospective and prospective national surveillance trial of isolates from 40 medical centers. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1989;12(5):385-94.
- Maple PAC, Hamilton-Miller JMT, Brumfitt W. Worldwide antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 1989;1(8637):537-540.
- Kugl SA, Pattee PA, Baldwin JN. Chromosomal map lo cation of the methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 1978;135(2):460-5.
- Urukata K, Nonoguchi R, Matsuhashi M, Konno M. Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* gene, which encodes a methicillin resistant *S. aureus*-specific penicillin binding proteins. *J Bacteriol.* 1989; 171(5):2882-5.
- Inglis B, Matthews PR, Stewart PR. The expression in *Staphylococcus aureus* of cloned DNA encoding methicillin resistance. *J Gen Microbiol.* 1988;134(6):1465-9.
- Tesch W, Strassle A, Berger-Bachi B, O'Hara D, Reynolds P, Kayser FH. Cloning and expression of methicillin resistance from *Staphylococcus epidermidis* in *Staphylococcus carnosus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988;32 (10):1494-9.
- Fontana R. Penicillin-binding proteins and the intrinsic resistance to β -lactams in gram-positive cocci. *J Antimicrob Chemother.* 1985;16(4):412-6.
- Hartman BJ, Tomasz A. Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1986;29(1):85-92.
- Matsuhashi M, Song MD, Ishino F, Wachi M, Doi M, Inoue M, Urukata K, Yamashita N, Konno M. Molecular cloning of the gene of a penicillin-binding protein supposed to cause high resistance to β -lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 1986;167(3):975-80.
- Codino RC, Marshall WE. Control of infection in the dental operatory. *Dent Surv.* 1976;42-8.
- Szymańska J. Dental bioaerosol as an occupational hazard in a dentist's workplace. *Ann Agric Environ Med.* 2007; 14(2):203-7.
- Andriole VT. *Pseudomonas bacteremia : Can antibiotic therapy improve survival.* *J Lab Clin Med.* 1979;94(2): 196-200.
- Jarvis WR, White JW, Munn VP, Mosser JL, Emori TG, Culver DH, Thornsberry C, Hughes JM. Nosocomial infection surveillance. *MMWR CDC Surveill Summ.* 1984; 33(2):9SS-21SS.
- Boutiba-Ben Boubaker I, Ben Abbes R, Ben Abdallah H, Mamlouk K, Mamlouk K, Mahjoubi F, Kammoun A, Hammami A, Ben Redjeb S. Evaluation of a cefoxitin disk diffusion test for the routine detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(8):762-5.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, 7th ed. Approved standards MA7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, PA, 2009.