

임상검체로부터 분리된 Methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 유전자형 분석

김진수¹, 박철^{2*}

¹대전보건대학교 임상병리과, ²광양보건대학교 임상병리과

Genotype Analyses of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from clinical specimens

Jean-Soo Kim¹, Chul-Park^{2*}

¹Dept of Clinical Pathology, Health Institute of Technology

²Dept of Clinical Pathology, Gwangyang Health College

요 약 황색포도상구균은 임상에서 중요한 병원체로 원내감염의 주 원인균이다. methicillin에 내성인 황색포도상구균(MRSA) 출현은 특히 전 세계적으로 임상과 역학의 주요 문제가 되고 있으며 다른 병원성 세균과 차별되는 특징으로 독성 인자를 가지면서 항생제 내성을 빠르게 획득해 가고 있다. 본 연구는 한 종합병원 임상 검체로부터 얻어진 MRSA 101균주의 독소유전자(enterotoxin(*se*), toxic shock syndrome toxin-1(*tst*), exfoliative toxin(*et*), Panton Valentine leukocidin(*pvl*)) 보유 분포와 이들 독소 유전자 보유 균주들간의 항생제 내성과의 상관성을 비교 분석 하고자 하였다. 독소유전자중 가장 많이 분리된 *seg* 유전자가 59균주(58.4%)에서 검출되었으며 70균주(69.3%)에서 두개 이상의 독소 유전자가 검출되었다. 독소유전자 보유 조합으로 *seb, sec, seg, sei, tst*가 19균주(18.8%)에서 발견되었으며 다음으로 빈번한 조합은 *sec, seg, sei*로 11균주(10.9%)로 나타났다. *seb, sec, seg, sei, tst* 동일한 독소유전자 조합을 갖고 있는 19균주(18.8%)들은 Ampicillin, Benzylpenicillin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Gentamicin, Erythromycin, Telithromycin, Tetracycline 항생제 내성이 100% 였다. 독소유전자 보유수가 많은 균주들은 항생제 내성이 높은 상관성을 확인하였다. 향후 MRSA 균주의 내성이 확산되지 않도록 효과적인 치료와 철저한 감염관리가 선행되어야 할 것이다.

Abstract *Staphylococcus aureus* is the major causative organism of nosocomial infection being the important pathogen in the clinic. Appearance of *staphylococcus aureus* resistant to methicillin (MRSA) is becoming a big problem in clinics and dynamics all over the world acquiring antibiotic resistance with virulence factors as its feature differentiated from other pathogenic bacteria fast. This research intended to compare and analyze the correlation of antibiotics resistance between strains with toxin genes and distribution of toxin genes of MRSA 101 strains acquired from clinical specimen in one general hospital (enterotoxin(*se*), toxic shock syndrome toxin-1(*tst*), exfoliative toxin(*et*), Panton Valentine leukocidin(*pvl*)). *seg* gene, isolated the most among toxin genes, was detected in 59 strains (58.4%) and more than two toxin genes were detected in 70 strains (69.3%). As a combination possessing toxin genes, it was detected in 19 strains (18.8%) as *seb, sec, seg, sei, tst* and the second frequent combination was *sec, seg, sei* shown in 11 strains (10.9%). 19 strains (18.8%) with combinations of toxin genes same with *seb, sec, seg, sei, tst* had 100% resistance Ampicillin, Benzylpenicillin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Gentamicin, Erythromycin, Telithromycin, Tetracycline antibiotics. Strains with many toxin genes showed high correlation of antibiotic resistance. Afterwards, effective therapy and thorough infection management should be preceded not to spread the resistance of MRSA strain.

Key Words : nosocomial infections, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA), toxin gene, antibiotic resistance

이 논문은 2014년도 대전보건대학교 교내연구비 지원에 의한 논문임.

*Corresponding Author : Chul-Park(Gwangyang Health College)

Tel: +82-61-760-1443 email: pcggs11070417@hanmail.net

Received February 13, 2015

Revised (1st March 24, 2015, 2nd April 1, 2015)

Accepted May 7, 2015

Published May 31, 2015

1. 서론

인류는 항생제를 개발하여 임상에서 감염성질환 치료에 유용하게 사용되었으며 수 많은 환자의 생명을 구하는데 결정적인 기여를 하였다. 그러나 항생제의 오·남용과 더불어 급속하게 항생제 내성 세균이 나타나기 시작하여 항생제 개발보다 훨씬 빠른 속도로 진화하여 대부분의 항생제 치료 효과가 감소하는 현상이 세계적으로 나타나고 있다. 이러한 내성세균의 치료 효과를 기대할 수 없게 된다면 인류는 커다란 위기를 맞게 될 것이다. 특히 내성세균중 원내 감염균주로서 환자 치료를 하는데 빈번하게 문제가 되는 대표적인 내성세균으로 Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)를 들 수 있다. MRSA는 모든 Penicillin계, Cephalosporin계, Carbapenem계 및 β lactam 혼합제에 대하여 임상적으로 내성이므로 항생제 감수성검사에서 비록 감수성 결과로 나올지라도 임상적으로 치료실패를 가져오기 때문에 이 항생제들은 모두 내성으로 보고 해야 한다. *Staphylococcus*의 Methicillin 내성 기전으로는 *mecA* 유전자의 삽입으로 인한 낮은 친화성을 가진 Penicillin Binding Protein(PBP) 2a 형성과 β lactamase 생성, 약물의 친화성을 떨어뜨리는 변형된 PBP 생성에 의한 것으로 알려져 있다[1,2]. 이러한 MRSA의 발생을 살펴보면 1997년부터 2010년까지 다기관 연구를 통해서 보고된 MRSA의 빈도가 64.0~75.1%로서 국내 종합병원에서 가장 흔한 병원감염의 원인균으로 확인 되었다[3~7]. 그리고, *S. aureus*는 다른 병원성 세균과 다르게 여러 가지 병독성 인자들의 독소를 분비하는데 종류로는 장독소(staphylococcal enterotoxin) *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej* 등과 발열, 혈압저하, 발적 등을 일으키는 독소성 쇼크증후군 독소 유전자(toxic shock syndrome toxin-1) *tst*, 표피 박탈성 독소(exfoliative toxin) *eta*, *etb*와 세포에 독소로 작용해 종기, 봉와직염 등의 피부 감염과 피사성 폐렴 등의 호흡기 감염을 일으키는 *pvl* (Panton-Valentine leukocidin) 등이 알려져 있다[8]. 그러므로 모든 임상 검체로부터 분리된 MRSA 균주에서는 이러한 항생제 내성과 병독성 인자인 독소 유전자 보유 세균으로 인한 고령, 투석, 장기요양기관 재원, 최근의 항생제 치료, 면역저하 등의 위험인자가 있는 환자는 더욱 치명적일 수 있다[9]. 최근 독소 유전자 보유에 대한 분포[10]와 이들 독소 유전자 보유 균주들간

의 항생제 내성과의 상관성을 비교 분석 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 MRSA (methicillin resistant

Staphylococcus aureus) 분리

2014년 1월부터 2014년 6월까지 순천의 한 종합병원 환자에서 채취한 검체를 blood agar plate (Becton, Dickinson and Company, USA) and Mannitol salt agar (Becton, Dickinson and Company, USA)[11]를 이용하여 37°C에서 16~18시간 배양하고 전통적인 생화학적 방법인 catalase, coagulase 시험[12]과 자동화 기기인 Vitek II automated system (bioMérieux, Hazelwood, MO, USA)의 GPI 카드를 사용하여 *S. aureus*의 동정 검사를 실시하였다. 이때 동일 환자로부터 반복 분리된 균주는 제외하였고 분리된 *S. aureus* 균주의 계대배양은 trypticase soy agar (TSA, Becton, Dickinson and Company, USA)를 이용하였다.

2.2 DNA 추출과 *mecA* 및 독소 유전자 검출

TSA 배지에 자란 세균 집락으로부터 1 loop를 lysis buffer [10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA, 10 mM NaCl, 2% SDS] 100 μ l와 2 small spoon의 glass bead (size: 0.4 mm) 혼합체에 넣고 10분간 TOMY mixer (TOMY, USA)에 혼합하였으며, 1× TE buffer 200 μ l와 phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25:24:1) 300 μ l를 넣고, 3분간 TOMY mixer에 다시 혼합한 후 원심분리(12,000 rpm, 4 min) 하였다. 상층액을 새로운 tube에 옮긴 후 RNase A (20 mg/ml) 3 μ l을 넣고 37°C에 30분간 배양하였고, 0.1 volume의 3M sodium acetate (pH 5.2)와 2 volume의 100% ice ethanol을 넣고 DNA를 침전 시킨 후 원심분리(12,000 rpm, 10 min, 4°C) 하였다. 차가운 70% ethanol로 세척한 후 건조 하여 멸균된 증류수에 녹여 실험에 사용할 때 까지 -20°C에 냉동 보관하였다[13]. *mecA*와 독소 유전자(Table 1)를 증폭하기 위한 특이적인 primer를 사용하여 multiplex PCR 이용하여 증폭하였고[14], 13개의 독소 유전자 primer는 3개의 반응액으로 혼합하였다. PCR 반응액은 NTP (각 2.5mM), MgCl₂ 2 mM, primer 각 20 pmol, Taq DNA polymerase (Bioneer, Korea) 0.5

Table 1. Nucleotide sequences and anticipated sizes of PCR product for the *S. aureus* gene-specific oligonucleotide primers used in this study

Target gene	Primer*	Nucleotide sequence (5'→3')	GenBank accession no.	Product length(bp)	Multiplex PCR set	Reference
Methicillin resistant determinant A	<i>mecA</i> -F	TCCAGATTACAACCTCACCAGG	Y00688	162	A	15
	<i>mecA</i> -R	CCACTTCATATCTTGTAACG				
Toxic shock syndrome toxin-1	<i>tst</i> -F	GCTTGGCACAACCTGCTACAG	J02615	559	C	16
	<i>tst</i> -R	TGGATCCGTCATTCATTGTTAT				
Panton-Valentine leukocidin	<i>pvl</i> -F	ATCATTAGGTAATAATGTCTGGACATGATCC	X72700	433	C	17
	<i>pvl</i> -R	GCATCAASTGTAATTGGATAGCAAAGC				
Staphylococcal enterotoxins	<i>sea</i> -F	GCAGGGAACAGCTTTAGGC	M18970	521	A	16
	<i>sea</i> -R	GTTCTGTAGAAGTATGAAACACG	M11118	667	B	18
	<i>seb</i> -F	ACATGTAATTTTGATATTCGCACTG				
	<i>seb</i> -R	TGCAGGCATCATGTCATACCA	X05815	284	A	16
	<i>sec</i> -F	CTTGTATGTATGGAGGAATAACAA				
	<i>sec</i> -R	TGCAGGCATCATATCATACCA	M28521	385	A	16
	<i>sed</i> -F	GTGGTCAAATAGATAGGACTGC				
	<i>sed</i> -R	ATATGAAGGCTCTGTGG	M21319	171	B	16
	<i>see</i> -F	TACCAATTAACCTTGATAGAC				
	<i>see</i> -R	CTCTTTGCACCTTACCGC	AF064773	328	B	16
	<i>seg</i> -F	CGTCTCCACCTGTTGAAGG				
	<i>seg</i> -R	CCAAGTGATTGTCTATTGTCG	U11702	360	C	16
	<i>seh</i> -F	CAACTGCTGATTTAGCTCAG				
	<i>seh</i> -R	GTCGAATGAGTAATCTCTAGG	AF064774	466	B	16
	<i>sei</i> -F	CAACTCGAATTTCAACAGGTACC				
	<i>sei</i> -R	CAGGCAGTCCATCTCCTG	AF053140	142	C	16
<i>sej</i> -F	CATCAGAAGTGTGTTCCGCTAG					
<i>sej</i> -R	CTGAATTTTACCATCAAAGGTAC	M17347	93	A	19	
<i>eta</i> -F	GCAGGTGTTGATTTAGCATT					
Exfoliative toxins	<i>eta</i> -R	AGATGTCCTATTTTGCTG	M17348	226	C	20
	<i>etb</i> -F	ACAAGCAAAGAATACAGCG				
	<i>etb</i> -R	GTTTTGGCTGCTTCTCTTG				

Abbreviation: F, forward; R, reverse

U, genomic DNA 100 ng 및 반응완충용액(10 mM Tris-HCl, 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂)에 총 부피가 50 µl가 되도록 증류수를 첨가하였다. PCR 반응은 PCR thermal cycler TP 600을 이용하였으며 PCR 반응 조건은 95°C 에서 5분간 초기 denaturation 시키고, 95°C에서 30초, 59°C에서 30초, 72°C에서 40초의 cycle을 30회 반복한 후 마지막으로 72°C에서 10분 동안 반응 시켰다. PCR 산물은 2% agarose gel에 전기영동한 후 확인 하였다.

2.3 디스크확산법 및 최소억제 농도 (MIC)

항생제 감수성 검사는 디스크 확산법 (Disc diffusion method)으로 실시하였다. 혈액 배지에배양한 균을 생리식염수로 McFarland 0.5관에 맞춘 세균현탁액을 멸균된 면봉에 충분히 적신후 Muller-Hinton (MHA) 배지에 접종 후 항생제 디스크를 올려놓고 35°C

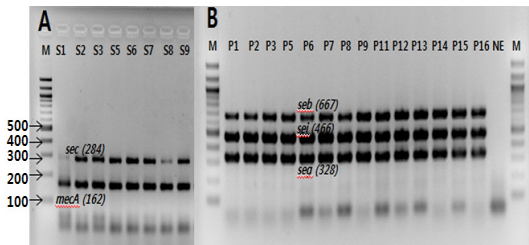
incubator에서 24시간 배양한 후 디스크 주위에 형성된 억제대의 직경을 mm 단위로 측정하였고 항생제 판정은 CLSI 기준[21]을 따랐으며, 매 시험마다 대조 균주로 *S. aureus* ATCC 25923를 사용 하였다. 최소억제 농도 (MIC) 검사는 자동화 기기인 Vitek II automated system(bioMérieux, Hazelwood, MO, USA) AST-P601 카드를 사용하여 항생제 감수성 검사를 실시하였다. Oxacillin에 대한 MIC 판정기준은 4µg/ml 이상을 사용 하였다.

3. 결과

3.1 대상 균주

임상검체로부터 분리된 MRSA 총 101균주의 [Fig. 1] Agarose gel electrophoresis of the multipl-ex PCR

amplification products from MRSA clinical isolates(Fig. 1)



Lanes M, 1 kb plus DNA ladder; A lane S1~S9, primer set A; B lane P1~P16, primer set B; A lane S1~S9 (*mecA* and *sec*); B lane P1~P16 (*seb*, *sei* and *seg*); A and B lane NE, negative control (distilled water).

검체별 분리원은 객담 38건, 농 21건, 소변 18건, 혈액 10건, 창상 4건, 중심관 팁 3건, 체액 3건, 귀 분비물 2건, 농양 2건 순으로 분리 되었으며, 분리 장소로는 외래환자(Outpatient) 25 균주와 일반병동환자

(Generalward) 46균주, 중환자실(Intensive care unit)은 30균주가 분리되었다(Table 2).

3.2 *mecA* 유전자 및 독소 유전자 분석

MRSA 101개 균주 모두에서 *mecA* 유전자를 확인 하였고 독소 유전자들의 특이적인 primer를 사용하여 multiplex PCR 실시한 결과 독소성 쇼크증후군 독소 유전자 *tst*는 42균주(41.6%)와 Leukocidin 독소 유전자 *pvl* 1균주(1.0%), 표피 박탈성 독소 유전자 *etb* 2균주(2.0%)를 확인 하였으며 독소 유전자중 가장 많이 분리된 *seg* 유전자가 59균주(58.4%)에서 검출되었으며 다음으로 *sec* 와 *sei* 유전자가 각각 57(56.4%), 56균주(55.4%)에서 확인하였고, 검체별 독소 유전자 검출을 보면 혈액, 창상, 중심관 팁, 객담에서 분리된 MRSA 균주가 다른 검체에서 분리된 MRSA에 비해 독소 유전자 보유 빈도가 높음을 알아 볼 수 있었다(Table 3). 그러나 장독소 *sea*, *sed*, *see*, *sej*와 표피 박탈성 독소 *eta* 유전자를 보유한 균주는 찾아볼 수 없었다. 그리고, MRSA 101 균주 중 70균주(69.3%)에서 2개 이상의 독소 유전자를

Table 2. Sources of MRSA

Hospital ward /specimens	Sputum (n=38)	Pus (n=21)	Urine (n=18)	Blood (n=10)	Wound (n=4)	Catheter tip (n=3)	Body fluid (n=3)	Ear discharge (n=2)	Abscess (n=2)	Total (n=101)
Outpatient	6	9	7	3						25
General ward	16	9	7	4	3	2	2	2	1	46
Intensive care unit	16	3	4	3	1	1	1		1	30

Table 3. *mecA* and toxin genes detected in MRSA clinical isolates

Toxin gene	Primer	MRSA									Total (n=101)
		Sputum (n=38)	Pus (n=21)	Urine (n=18)	Blood (n=10)	Wound (n=4)	Catheter tip(n=3)	Body fluid(n=3)	Ear discharge (n=2)	Abscess (n=2)	
MEC A	<i>mecA</i>	38	21	18	10	4	3	3	2	2	101(100%)
TST-1	<i>tst</i>	13	11	7	5	2	1	1		2	42(41.6%)
PVL	<i>pvl</i>				1						1(1.0%)
	<i>sea</i>										0
	<i>seb</i>	14	3	7	4	1					29(28.7%)
	<i>sec</i>	22	13	10	6	3	1	2			57(56.4%)
	<i>sed</i>										0
	<i>see</i>										0
	<i>seg</i>	25	14		9	3	3	2	2	1	59(58.4%)
	<i>seh</i>	1	1	3							5(5%)
	<i>sei</i>	24	12		9	3	3	2	2	1	56(55.4%)
ET	<i>sej</i>										0
	<i>eta</i>										0
	<i>etb</i>	1	1								2(2.0%)

Abbreviation : MECA, Methicillin resistant determinant A; TST-1, toxic shock syndrome toxin-1; PVL, panton-valentine leukocidin; SE, enterotoxin; ET, exfoliative toxin

Table 4. Combination of toxin genes detected in MRSA clinical isolates

Toxin genes	Sputum (n=38)	Pus (n=21)	Urine (n=18)	Blood (n=10)	Wound (n=4)	Catheter tip (n=3)	Body fluid (n=3)	Ear discharge (n=2)	Abscess (n=2)	Total (n=101)
<i>seb, sec, seg, sei, tst</i>	11	3		4	1					19(18.8%)
<i>seb, sec, seg, sei</i>	3									3(3.0%)
<i>sec, seg, sei, tst</i>	2	5			1	1				9(8.9%)
<i>sec, seg, sei</i>	4	2		2	1		2			11(10.9%)
<i>seg, sei, tst</i>		2		1					2	5(5.0%)
<i>seb, sec, tst</i>			7							7(6.9%)
<i>seg, sei, pvl</i>				1						1(1.0%)
<i>seg, sei</i>	4			1		2		2		9(8.9%)
<i>sec, seg</i>	1	2								3(3.0%)
<i>sec, seh</i>		1	2							3(3.0%)
<i>etb</i>	1	1								2(2.0%)
<i>sec</i>	1		1							2(2.0%)
<i>seh</i>	2		1							3(3.0%)
<i>tst</i>		1					1			2(2.0%)
None	9	4	7	1	1					22(21.8%)

Table 5. Antibiotic resistance of MRSA clinical isolates

Antibiotics	MRSA									
	Sputum (n=38)	Pus (n=21)	Urine (n=18)	Blood (n=10)	Wound (n=4)	Catheter tip (n=3)	Body fluid (n=3)	Ear discharge (n=2)	Abscess (n=2)	Total (n=101)
Ampicillin	38	21	18	10	4	3	3	2	2	101(100%)
Benzylpenicillin	37	21	17	8	4	2	2	2	2	95(94.1%)
Ciprofloxacin	20	15	9	6	2	2	2	1	2	59(58.4%)
Clindamycin	30	18	13	7	3	2	3	2	2	80(79.2%)
Daptomycin	1	1		1						3(3.0%)
Erythromycin	32	20	15	8	3	3	2	2	1	86(85.1%)
Gentamicin	22	13	9	4	2	1	2	1	1	55(54.5%)
Habekacin	1			1						2(2.0%)
Linezolid	1									1(1.0%)
Mupirocin	3	2	1	1	1	1				9(8.9%)
Rifampin	4	2	2	1	1		1		1	12(11.9%)
Tetracycline	28	14	12	7	3	2	2	1	2	71(70.3%)
Tigecycline	2	1	1	1						5(5.0%)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	2	2	2	1	1			1		9(8.9%)
Teicoplanin	1									1(1.0%)
Telithromycin	36	18	17	9	3	2	1	2	2	90(89.1%)
Vancomycin	2*									2(2.0%)

* vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA)

보유하고 있었으며 독소 유전자 다수를 동시 보유한 조합으로 가장 많은 분포를 나타낸 *seb, sec, seg, sei, tst* 유전자를 19균주(18.8%)에서 확인 하였으며 다음으로 11균주(10.9%)에서 검출된 *sec, seg, sei* 유전자 조합이었다(Table 4).

3.3 MRSA의 항생제 내성 양상

항생제 감수성 결과는 Ampicillin은 100% 내성을 보였으며 Benzylpenicillin, Telithromycin, Erythromycin, Erythromycin, Clindamycin, Tetracycline이 각각

95(94.1%), 90(89.1%), 86(85.1%), 80(79.2%), 71(70.3%)균주 순으로 내성을 보였으나 Daptomycin, Habekacin, Linezolid, Teicoplanin과 Vancomycin의 내성율은 1~3%로 내성은 거의 없었다(Table 5). 독소 유전자 보유 와 항생제에 대한 내성율은 19균주(18.8%)의 *seb, sec, seg, sei, tst* 의 동일한 독소 유전자 조합을 갖고 있는 균주들은 Ampicillin, Benzylpenicillin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Gentamicin, Erythromycin, Tetracycline, Telithromycin에 대한 항생제 내성율이 100% 였으며 다음으로 11균주(10.9%)에서 *sec, seg, sei*

의 동일한 독소 유전자를 보유한 균주들 또한 Ampicillin, Benzylpenicillin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Tetracycline에 100% 내성을 보였다(Table 6).

4. 고 찰

임상에서 분리된 MRSA 균주를 대상으로 13 가지 독소 유전자 분포와 동일 독소 유전자 균주들간의 항생제 내성과의 상관성을 비교 분석한 결과 *seg* 유전자가 59균주(58.4%)로 가장 많이 분리되었으며 장독소인 *sec*와 *seb*가 각각 57균주(56.4%), 29균주(28.7%), 독소성 쇼크 증후군 독소 유전자 *tst*는 42균주(41.6%)에서 검출 되었다. 이는 Kim 등[22]의 결과 보다 *seg* 유전자 보유율은 높았지만 *tst*, *seb*, *sec* 독소 유전자 보유율은 낮았다. 그리고 1균주의 *pvl* 유전자가 검출 되었는데 만성 폐쇄성 폐질환을 주소로 장기간 입원중인 중환자실 환자의 혈액 검체에서 검출 되었는데 이 유전자는 병원획득 감염보다는 지역사회 감염 환자로 부터 주로 피부 감염으로 인한 분리 보고[17]와는 다르게 장기간 입원중인 환자에게서 검출이 되어 지역사회 감염과 병원획득 감염의 균주간의 내성인자 획득, 전이 그리고 독성인자의 변형 등의 변이 균종으로 이어지고 있음을 추정 할 수 있다.

그리고, 분리된 MRSA 101 균주중 70균주(69.3%)에서 2개 이상의 독소 유전자를 보유하고 있었는데, 다른 연구 보고에서도 대부분의 MRSA 균주가 2~4개의 독소 유전자를 동시에 보유하고 있다는 것과 일치한다 [22,23]. 또한 *S. aureus*는 *tst*와 *sec* 유전자를 동시에 보유한다는 것이 알려져 있었는데[24,25,26] 이번 연구를 통해서도 *tst*와 *sec* 유전자를 동시에 보유한 35(34.7%) 균주를 확인 하였고, *tst*가 *sec*외에도 *seg*와 *sei* 유전자를 동시에 보유한다는 보고[27]와도 일치 하였다(Table 4).

항생제 감수성결과 분리된 모든 균주에서 Ampicillin는 100% 내성을 Benzylpenicillin, Telithromycin, Erythromycin, Clindamycin, Tetracycline이 각각 95(94.1%), 90(89.1%), 86(85.1%), 80(79.2%), 71(70.3%) 균주 순으로 내성을 보였는데 이는 MRSA가 모든 β -lactam 계에 내성을 갖으면서 점점 내성을 추가하여 다른 약제에도 다양한 내성을 동반하는 대표적인 다제 내성균이라는 것을 확인 할 수 있었다. 그러나, 현재까지 MRSA치

료에 유효한 항생제인Daptomycin, Linezolid, Teicoplanin, Vancomycin의 내성율이 1~3%로 낮음을 확인하였으나 이 항생제들 역시 어느 정도 내성이 존재하고 있다는 것을 확인 할 수 있었다.

독소유전자와 항생제 내성율과의 관계에서 *sec*, *seg*, *sei* 유전자 3개를 동시보유한 조합의 11균주(10.9%) 항생제 내성율이 Ampicillin, Benzylpenicillin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Tetracycline에 100% 내성을 보였으며, *seb*, *sec*, *seg*, *sei*, *tst* 유전자 5개를 동시보유한 조합의 19균주(18.8%)에서의항생제 내성을 또한 Ampicillin, Benzylpenicillin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Tetracycline외에도 Telithromycin 까지 내성을 보였으며, 독소유전자를 다수 보유한 균주들이 한계를 보유한 균주들 보다 내성율이 높았다(Table 6). 그리고, MRSA 균주의 항생제 내성율에 대한 결과는 다른 연구에서도 Aminoglycosides, Tetracyclines과 Quinolones에 대한 빈번한 내성을 보고[28]한 것 보다 내성이 더욱 많아져 Clindamycin, Erythromycin, Telithromycin까지도 내성을 보였다.

본 연구에서와 같이 MRSA가 독소유전자 보유를 늘려감으로서 다제 내성을 획득하는 균주가 향후 계속 증가 할 것으로 예상되며 또한 지역사회 감염 환자의 독소 유전자가 병원획득 감염 환자에게 전이로 인한 변이균종이 출현함으로 철저한 병원감염 관리를 통해서 예방하며 아울러 항생제의 올바른 사용으로 내성이 유도되지 않도록 하는 것이 우선되어야 할 것이다.

References

- [1] J. S. Kim, H. S. Kim, W. K. Song, H. C. Cho, K. M. Lee, E. C. Kim. Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated in 13 Korean hospitals. Korean J Lab Med 24:223-9, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2009.24.2.223>
- [2] Frigatto EA, Machado AM, Pignatari AC, Gales AC. Is the cefoxitin disk test reliable enough to detect oxacillin resistance in *coagulase negative staphylococci*? J Clin Microbiol 43:2028-9, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.4.2028-2029.2005>
- [3] Y. Chong, K. Lee, Y. J. Park, D. S. Jeon, M. H. Lee, M. Y. Kim, C. H. Chang, E. C. Kim, N. Y. Lee, H. S. Kim,

- E. S. Kang, H. C. Cho, I. K. Paik, H. S. Lee, S. J. Jang, A. J. Park, Y. J. Cha, S. H. Kang, M. H. Lee, W. Song, J. H. Shin. Korean nationwide surveillance of antimicrobial resistance of bacteria in 1997. *Yonsei Med J* 39:569-77, 1998.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3349/ymj.1998.39.6.569>
- [4] H. B. Kim, H. C. Jang, H. J. Nam, Y. S. Lee, B. S. Kim, W. B. Park, K. D. Lee, Y. J. Choi, S. W. Park, M. D. Oh, E. C. Kim, K. W. Choe. In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. *Antimicrob Agents Chemother* 48:1124-7, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.4.1124-1127.2004>
- [5] H. Lee, D. Yong, K. Lee, S. G. Hong, E. C. Kim, S. H. Jeong, Y. J. Park, T. Y. Choi, Y. Uh, J. H. Shin, W. K. Lee, J. Lee, J. Y. Ahn, S. H. Lee, G. J. Woo. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea in 2004. *Korean J Clin Microbiol* 8:66-73, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.7.2155-2161.2002>
- [6] H. Lee, C. K. Kim, J. Lee, S. H. Lee, J. Y. Ahn, S. G. Hong, Y. J. Park, S. H. Jeong, E. C. Kim, W. K. Lee, Y. Uh, J. H. Shin, T. Y. Choi, H. S. Kwak, K. Lee. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea in 2005 and 2006. *Korean J Clin Microbiol* 10:59-69, 2007.
- [7] Korea Centers for Disease Prevention and Control. Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System 2010 Annual report. 12-21, 2010.
- [8] Sina H, Ahoyo TA, Moussaoui W, et al. Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin, soft tissue, and bone related infections. *BMC Microbiology* 13(1):188, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-13-188>
- [9] H. B. Kim. Community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Korean J Intern Med*. 72:120-130, 2007.
- [10] Sabouni F, Mahmoudi S, Bahador A, Pourakbari B, Sadeghi RH, Ashtiani MT, Nikmanesh B, Mamishi S. Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* Isolates in an Iranian Referral Children's Hospital. *Osong Public Health Res Perspect*. 2:96-100, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrp.2014.03.002>
- [11] H. J. Huh, E. S. Kim, S. L. Chae. Evaluation of the BD GeneOhn MRSA Real-time PCR Assay for Detection of Nasal Colonization by MRSA. *Korean J Clin Microbiol*. 2:74-78, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5145/KJCM.2011.14.2.74>
- [12] Cheesbrough M. District laboratory practice in tropical countries. Cambridge: Cambridge University Press; 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511543470>
- [13] H. N. Choe, C. Park, H. R. Kim, K. S. Baik, S. N. Kim, and C. N. Seong. Characteristics and antibiotic susceptibility of imipenem-resistant clinical isolates producing carbapenemase. *J. Life Sci*. 20:1214-1220, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2010.20.8.1214>
- [14] Mehrotra. M, G. Wang, and W. M. Johnson. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *J. Clin. Microbiol*. 38:1032-1035, 2000.
- [15] Oliveira, D. C. and H. De Lencastre. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 46:2155-2161, 2002.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.7.2155-2161.2002>
- [16] Monday, S. R. and G. A. Bohach. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *J. Clin. Microbiol*. 37: 3411-3414, 1999.
- [17] Lina, G., Y. Piemont, F. Godail-Gamot, M. Bes, M. O. Peter, V. Gauduchon, F. Vandenesch, and J. Etienne. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin. Infect. Dis*. 29:1128-1132, 1999.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1086/313461>
- [18] Løvseth, A., S. Loncarevic, and K. G. Berdal. Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolates. *J. Clin. Microbiol*. 42:3869-3872, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.8.3869-3872.2004>
- [19] C. Y. Lee, J. J. Schmidt, A. D. Johnson- Winegar, L. Spero, and J. J. Iandolo. Sequence determination and comparison of the exfoliative toxin A and toxin B genes from *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol*. 169:3904-3909, 1987.
- [20] Jackson, M. P. and J. J. Iandolo. Sequence of the exfoliative toxin B gene of *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol*. 167:726-728, 1986.
- [21] Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 19th Informational Supplement. CLSI document M100-S19 (ISBN 1-56238-690-5). Wayne, PA: Clinical

and Laboratory Standards Institute, 2009.

- [22] J. S. Kim, W. Song, H. S. Kim, H. C. Cho, K. M. Lee, M. S. Choi, and E. C. Kim. Association between the methicillin resistance of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, their staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) subtype classification, and their toxin gene profiles. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 56:289-295, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.05.003>
- [23] H. J. Jung, J. I. Cho, E. S. Song, J. J. Kim, and K. S. Kim. PCR detection of virulence genes encoding coagulase and other toxins among clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 33:207-214. 2005.
- [24] Ho, G., W. H. Campbell, M. S. Bergdoll, and E. Carlson. Production of a toxic shock syndrome toxin variant by *Staphylococcus aureus* strains associated with sheep, goats, and cows. *J. Clin. Microbiol.* 27:1946-1948, 1989.
- [25] J. S. Kim, H. S. Kim, W. Song, H. C. Cho, K. M. Lee, and E. C. Kim. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with toxic shock syndrome toxin and staphylococcal enterotoxin C genes. *Korean J. Lab. Med.* 27:118-123, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3343/kjlm.2007.27.2.118>
- [26] Zschock, M., K. RiBe, and J. Sommerhauser. Occurrence and clonal relatedness of *sec/tst*-gene positive *Staphylococcus aureus* isolates of quartermilk samples of cows suffering from mastitis. *Lett. Appl. Microbiol.* 38:493-498, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01519.x>
- [27] Katsuda, K., E. Hata, H. Kobayashi, M. Kohmoto, K. Kawashima, H. Tsunemitsu, and M. Eguchi. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk on the basis of toxin genes and coagulase gene polymorphisms. *Vet. Microbiol.* 105:301-305, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.12.004>
- [28] Akcam, F. Z., G. B. Tinaz, O. Kaya, A. Tigli, E. Ture, and S. Hosoglu. Evaluation of methicillin resistance by cefoxitin disk diffusion and PBP2a latex agglutination test in *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*, and comparison of *mecA* with *femA*, *femB*, *femX* positivities. *Microbiol. Res.* 164:400-403. 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2007.02.012>

김진수(Jean-Soo Kim)

[정회원]



- 1997년 7월 ~ 2001년 3월 : 서울 삼성의료원 근무
- 2001년 4월 ~ 2012년 3월 : 건양대학교병원 근무
- 2012년 3월 ~ 2014년 2월 : 광양보건대학교 교수
- 2014년 3월 ~ 현재 : 대전보건대학교 교수

<관심분야>

Histotechnology, Diagnostic cytology

박철(Chul-Park)

[정회원]



- 2009년 2월 : 순천대학교 생물학과 (이학석사)
- 2015년 2월 : 순천대학교 생물학과 (박사수료)
- 2011년 3월 ~ 현재 : 광양보건대학교 임상병리과 조교수

<관심분야>

미생물학, 임상화학