

## Genotype, Coagulase Type and Antimicrobial Susceptibility of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Dermatology Patients and Healthy Individuals in Korea

Shin-Moo Kim<sup>1\*</sup>, Dong-Cho Lee<sup>2</sup>, Seok-Don Park<sup>2†</sup>, Bo-Suk Kim<sup>2</sup>, Jin-Kyung Kim<sup>3</sup>, Mi-Rae Choi<sup>1</sup>, Se-Young Park<sup>2</sup>, Soo-Myung Hwang<sup>4</sup>, Na-Young Shin<sup>5</sup>, Eun-Sook Shim<sup>1</sup>, Pil-Seung Kwon<sup>1</sup>, Dong-Yeul Kwon<sup>6</sup>, Sung-Ho Hur<sup>7</sup>, Ho-Jun Kim<sup>8</sup>, Hyo-Bin Lim<sup>9</sup> and Yunsop Chong<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan, Korea,

<sup>2</sup>Department of the Dermatology, Wonkwang University Hospital, Iksan, Korea, <sup>3</sup>Vestibulocochlear Research Center & Department of Microbiology, College of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Korea,

<sup>4</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Catholic University of Pusan, Busan, Korea, <sup>5</sup>Department of Internal Medicine, Division of Infectious Diseases, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea,

<sup>6</sup>College of Pharmacy and Wonkwang-Oriental Medicines Research Institute, Wonkwang University, Iksan, Korea,

<sup>7</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Dong-eui Institute of Technology University, Busan, Korea,

<sup>8</sup>Department of Biology, Sunchon National University, Sunchon, Korea, <sup>9</sup>Division of Life-Environment, College of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University, Iksan, Korea,

<sup>10</sup>Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most prevalent dermatology pathogens in hospitals and increasingly recognized in communities. We determined PFGE pattern of SmaI-restricted genomic DNA, coagulase type, and antimicrobial susceptibility of MRSA isolated in 2008 from dermatology inpatients and healthy hospital employees in A Hospital and from primary school children in Iksan city, Korea. Overall, the isolation rate of MRSA was 3.8% from the 788 normal persons: 4.9% from hospital employees and 1.1% from primary school children. MRSA was isolated in six of 13 (46.2%) family members of four school children with MRSA. The most prevalent coagulase serotype was II from patients and V from healthy individuals. Ten of twenty and six of twenty MRSA isolates from patients and from healthy personnel, respectively, had identical PFGE patterns, suggesting that these are originated from identical clones. Against MRSA from patients, only vancomycin was the most active (MIC range  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$ ), whereas the resistance rates were 35% to rifampin and 65% to mupirocin. The resistance rates of patient isolates were  $\geq 90\%$  to amikacin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, fusidic acid, gentamicin and tetracycline. In conclusion, the MRSA carriage rates of healthy hospital workers were relatively high, 2.3~7.7%, depending on groups. Family members of a few primary school children with MRSA showed a high carriage rate, suggesting that intrafamily transmission occurred. MRSA isolated from dermatology inpatients were relatively more resistant to various antimicrobial agents, including mupirocin, but all isolates were susceptible to vancomycin.

**Key Words:** Genotype, Coagulase type, MRSA, Antimicrobial susceptibility

Received: October 7, 2009/ Revised: October 20, 2009

Accepted: November 4, 2009

\*Corresponding author: Shin-Moo Kim. Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan 570-750, Korea. Phone: +82-63-840-1211, Fax: +82-63-840-1211, e-mail: smkim1211@hanmail.net

†Co-corresponding author: Seok-Don Park. Department of Dermatology, Wonkwang University Hospital, Iksan 570-711, Korea. Phone: +82-63-850-1601, Fax: +82-63-842-1895, e-mail: sdpark@wonkwang.ac.kr

\*\*This study was supported by a research fund from Wonkwang Health Science University, 2009.

## 서 론

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)는 methicillin이 치료에 사용되기 시작한 2년 뒤인 1961년 영국에서 처음 보고되었다 (1). MRSA는 1970년대 후반부터 큰 종합병원 환자에 원내감염 (hospital-associated infection)을 일으키는 문제의 세균이 되었고, 또한 1980년에는 미국에서 지역사회 MRSA (community-associated MRSA, CA-MRSA) 감염이 처음 보고되었다 (2). MRSA는 농양이나 창상감염 등의 피부감염, 패혈증, 폐렴, 독성쇼크증후군, 식중독 등의 여러 가지 감염을 일으킬 수 있는 중요한 병원성 세균이다. 지역사회 감염 MRSA는 위험 인자가 없는 건강인의 피부나 비강 정착이 증가되고 있고 (3, 4), 위중한 감염도 보고되고 있다 (5).

우리나라 3차병원에서 분리되는 *S. aureus* 중 MRSA는 70% 이상이며 (6, 7), 1, 2차병원에서도 40% 이상으로 보고되고 있다 (8). 환자에서 분리된 MRSA가 건강인에서 분리된 MRSA와 역학적관계가 있는지에 대한 보고는 드물다. *S. aureus*의 역학조사를 위해서는 coagulase typing과 유전자형, 항균제 감수성 시험이 이용되고 있으며, coagulase typing은 항원성 차이에 의해서 8종의 혈청형이 보고되었다 (9). 최근에는 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), ribotyping (10, 11), random amplified polymorphic DNA (12) 등과 같은 세균유전체 분석에 의한 MRSA 감염의 역학조사가 이용되고 있다. 특히 제한효소를 이용하여 유전체를 비교하는 PFGE는 MRSA 균주의 확산 및 역학적 형별과 유전적 관계를 밝힐 수 있는 것으로 알려져 있다 (13).

본 연구에서는 전북 익산시 A 종합병원의 피부과 환자와 건강한 직원 및 익산시 초등학교와 가족에서의 MRSA의 분리율, coagulase 혈청형과 PFGE에 의한 유전자형 및 항균제 감수성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### MRSA 균주의 분리

건강인에서 MRSA를 분리하기 위해서는 2008년 1월부터 7월까지 전북 익산시의 A 종합병원 의료인과 비의료인 403명, 초등학교 372명, MRSA 보균 초등학교 가족 13명의 총 788명의 비강에서 검체를 채취하였다. 환자에

서 분리한 MRSA는 익산시 A 종합병원에 입원한 피부과 환자의 상처검체에서 분리한 균주를 시험에 사용하였다.

건강인의 비강검체와 환자에서 분리균주는 성별과 나이를 구분하지 않고 무기명으로 하였다.

건강인에서 MRSA를 분리하기 위해서는 비강면봉을 *Staphylococcus* broth 10 ml (증류수 1000 ml에 NaCl 75 g, yeast extract 2.5 g, tryptone 10 g)에 넣고 하룻밤 37°C에 배양 후 mannitol salt agar (Difco Lab., Livonia, MI, USA)와 6 µg/ml 농도의 oxacillin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)이 함유된 mannitol-salt-oxacillin (MSO) 우무 배지에서 증식과 발효 반응, 시험관법 coagulase 시험, DNase test agar w/methyl green 배지에서 DNase 반응이 양성인 것을 *S. aureus*로 동정하였으며, *femA* 유전자를 polymerase chain reaction (PCR) 시험으로 확인하였다.

*S. aureus*의 methicillin 내성은 MSO에서 증식하고 mannitol을 발효하는 집락을 30 µg cefoxitin과 1 µg oxacillin disk를 쓴 디스크확산법과 4% NaCl과 oxacillin 6 µg/ml이 첨가된 oxacillin salt-agar screening법 (19)으로 시험하였다. MRSA 확인을 위해서는 PCR 시험으로 *mecA* 유전자를 검출하였다. 분리된 균주는 시험에 사용할 때까지 15% glycerol 함유 brain heart infusion (BHI) 배지에 넣어서 -70°C에 보관하였다.

### PCR에 의한 *femA*와 *mecA* 유전자 검출

PCR을 위한 *S. aureus* DNA는 가열법으로 추출하였다. 즉 1.5 ml microcentrifuge tube에 cell lysis buffer (50 mM glucose, 10 mM EDTA, 25 mM Tri-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, Genotek, Co., Daejeon, Korea) 50 µl와 하룻밤 배양된 세균을 섞어서 우유빛 정도의 부유액을 만들고 100°C에서 10분간 가열하여 12,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액 2 µl를 PCR 반응에 사용하였다.

*mecA* (554 bp)와 *femA* (372 bp) 유전자 증폭을 위한 PCR용 primer (14, 15)는 *mecA* F: 5'-ATGAGATTAGGCA-TCGTTTC-3', R: 5'-TGGATGACAGTACCTGAGCC-3'; *femA* F: 5'-CATGATGGCGAGATTACAGG-3', R: CGCTAAAGG-TACTAACACACGG-3' 서열의 oligonucleotide를 합성하여 사용하였다 (Genotek Co.).

Primer-F와 Primer-R을 각각 2 µl, PCR master mix reagent (dNTP, *Taq* polymerase, MgCl<sub>2</sub>) 4 µl, 8-MOP 12 µl, DNA sample 2 µl를 넣어 PCR 반응의 최종액을 20 µl로 하였으며, primer와 검체 DNA를 제외한 모든 반응액 (0.2 M

dATP, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 8.8, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Triton ×100)은 실험조건을 같게 하기 위해 한 제조번호의 상품화된 (Genotek Co.) 시약을 -20℃에 보관하면서 사용하였다. PCR에서 첫째 cycle은 94℃에서 5분간 predenaturation한 후 94℃에서 1분간 denaturation, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 1분간 extension 조건을 30 cycles, 72℃에서 5분간 last extension의 조건으로 thermal cycler (GeneAmp PCR system 9700, Perkin-Elmer Cetus, Foster City, CA, USA)를 이용하여 증폭하였다. PCR 산물은 ethidium bromide가 들어있는 2% agarose gel 상에서 200 volt 20분간 전기영동으로 분획하고 특이적인 띠 (*mecA*, 554 bp; *femA*, 372 bp)를 자외선 하에서 관찰하였다.

#### Coagulase 혈청형 시험

MRSA 균주의 coagulase 혈청형은 Hwang 등 (17)의 방법에 따라 8종의 항혈청 (Denka Seiken Co, Tokyo, Japan)으로 시험하였다. 즉, MRSA 균주를 혈장첨가 BHI broth 5 ml에 접종하여 37℃에 하룻밤 배양한 배양액을 혼합기로 혼합 후 3000 rpm에 30분간 원심하여 그 상층액을 사용하였다. Coagulase 기질용액으로는 polyethylene glycol-aminocarpronic acid-fibrinogen (PAF)을 사용하였으며, U-microplate well에 I-VIII 항혈청 (Denka Seiken Co.) 각각을 0.1 µl씩 넣고, 배양액 10 µl를 각 항혈청이 들어있는 well에 넣어 가볍게 혼합한 후에 다시 실온에서 5분간 방치하였다. 이어서 PAF 기질용액을 각 well에 20 µl 넣은 후 37℃ 배양기에서 2시간 이후부터 30분 간격으로 형특이 coagulase와 항혈청간의 중화반응에 의한 응고역제반응 여부를 관찰하여, 혈장응고를 저지하는 well의 항혈청을 가진 것을 시험한 MRSA 균주의 coagulase 혈청형으로 판정하였다.

#### PFGE에 의한 유전자 분석

PFGE 시험은 (18) MRSA 균주를 3 ml의 LB broth (Difco)에서 하룻밤 배양한 후 spectrophotometer 610 nm에서 흡광도 0.3~0.25 ( $\sim 2.69 \times 10^7$ /ml)로 맞춘 후 1 ml를 Eppendorf tube에 분주한 다음 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액 제거 후 침사를 1 ml의 TE buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM 또는 0.1 mM EDTA)로 세척하였다. 이를 다시 원심분리한 후 상층액 제거 후 침사에 lysis II buffer (6mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 M NaCl, 100 mM EDTA, 0.5% Brij-58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sodium

lauroylsarcosine) 50 µl를 첨가한 다음, 37℃, 15분 정도 배양한 후 2% low melting agarose 50 µl와 100 units lysostapin 2 µl를 섞은 다음 plug를 만든 후 4℃에서 굳혔다. Plug를 Eppendorf tube에 담은 다음 lysis I buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 100 unit lysostapin, lysozyme 1 mg/ml)를 250 µl 분주 후 37℃, 1시간 반응시킨 다음 lysis I buffer를 제거하고 250 µl의 lysis II buffer를 넣고 37℃, 1시간 반응시켰다. 다시 lysis II buffer를 제거 후 proteinase K buffer (0.5 M EDTA, 25 unit/ml proteinase K) 250 µl를 넣고 50℃ 항온수조에 하룻밤 두었다. 그 다음 날 증류수로 3회 세척 반복 후 wash buffer로 3회 세척 반복하였다. Plug를 1% PFGE grade agarose (0.5 × TBE로 만듦) gel의 well에 넣고 CHEP DR III (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)로 전기영동을 시행하였다. 전기영동의 조건은 Block I을 initial pulse 5초, final pulse 15초, 200 V, 6 V/cm, 10 시간 12~14℃로 하였으며, Block II를 initial pulse 15초, final pulse 60초, 200 V, 6 V/cm, 13시간 12~14℃로 하였으며, 전기영동이 끝난 gel을 ethidium bromide 염색용액 (0.5 µg/ml)이 들어있는 증류수 500 ml에 넣어 20분간 염색하였다. 이어서 증류수로 20분간 씻은 후 UV로 확인하였으며, DNA pattern은 Biometrics 프로그램 (Bio-Rad Laboratories, Inc.)을 이용하여 상관관계를 분석하였다.

#### 항균제 감수성 시험

항균제 감수성은 CLSI 디스크 확산법과 우무희석법 (19)에 의하였으며, 디스크 확산법에는 amikacin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), clindamycin (2 µg), erythromycin (15 µg), gentamicin (10 µg), tetracycline (30 µg), tobramycin (10 µg) 및 vancomycin (30 µg) 디스크 (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD, USA)와 mupirocin (5 µg) 디스크 (Oxoid, Hampshire, UK)를 사용하였다. 우무희석법에는 ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, gentamicin, mupirocin, rifampin, tetracycline, vancomycin (Sigma)과 fusidic acid (Dongwha Pharm., Seoul, Korea)를 사용하였다.

항균제를 규정된 용제로 녹이고 멸균한 Mueller-Hinton medium (Difco)에 첨가하여 원하는 항균제 농도의 배지를 만들었다. 시험세균을 Tryptic soy agar (TSA, Difco)에 계대배양하고 Tryptic soy broth (TSB, Difco)에 부유하여 탁도를 McFarland의 제0.5관에 맞추고 이어서 1/10로 희석하여 접종에 사용하였다. 시험세균은 Steer의 replicator로

접종하였다. 접종된 평판은 35℃에 24시간 배양 후 결과를 판독하였다. 세균의 증식을 완전히 억제시킨 최소의 항균제 농도를 최소억제농도 (minimum inhibitory concentration, MIC)로 하되 1개의 집락이 생긴 것은 무시하였다. 항균제 감수성 시험의 정도관리를 위해서는 *S. aureus* ATCC 33591을 동시에 시험하였다. MIC의 해석은 CLSI (19)의 breakpoint에 따랐고, fusidic acid의 경우는 MIC  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$ 를 내성으로 해석하였다 (20).

## 결 과

### 건강인 비강에서 MRSA의 분리

2008년 1월과 7월 사이에 전북 익산시 A 종합병원의 일부의료인과 비의료인, 익산시 일부 초등학교 및 MRSA 보균자 가족의 건강인 총 788명의 비강에서 MRSA 보균율은 3.8%이었다. 이중 MRSA 보균 학생 가족의 보균율은 46.2%로 가장 높았으며, 의료인은 6.2% (의사 7.7%, 간호사 5.7%), 비의료인은 2.3%이었고, 초등학교생은 1.1%를 보였다.

**Table 1.** Isolation rates of MRSA from nasal swab of healthy individuals

Subject	No. of specimens cultured	No. (%) of specimen MRSA positive
A Hospital worker		
Doctor	65	5 ( 7.7)
Nurse	210	12 ( 5.7)
Non-medical personnel	128	3 ( 2.3)
Primary school pupil	372	4 ( 1.1)
Family member <sup>a</sup>	13	6 (46.2)
Total	788	30 ( 3.8)

<sup>a</sup> Member of four pupils with MRSA

### MRSA 균주의 coagulase 혈청형

피부과 환자와 건강인에서 분리된 MRSA 균주에서 coagulase 혈청형의 분포는 Table 2와 같다. 즉 피부과 환자 균주의 coagulase 혈청형에서 II형이 73%로 가장 높고, IV형이 13%, V형이 11%, VII형이 3%순이었다. 건강인에서는 V형이 57%로 가장 높고, VII형이 26%, II형이 7%, I형이 3% 순이었다.

### PFGE의 유전자형

피부과 환자와 건강인에서 분리된 각각 20주의 MRSA DNA를 *SmaI* 제한효소로 처리하여 PFGE를 분석한 바 I-VIII cluster로 분류되었다. 가장 많은 균주가 cluster VII (57.5%)이었고, 피부과 환자 균주인 10주 즉, 번호1~3, 6, 8, 10~12, 19~20과 건강인 균주 6주 즉 21 (비의료인), 21, 24, 26 (의료인), 27~28 (초등학교생)은 유사도가 100%로 PFGE cluster형이 동일하였으며, coagulase II형도 47.5%로 cluster VII에 속하였다. 건강인 중에서도 의료인 균주 중 cluster I (39와 40), cluster II (23과 25), cluster V (35와 36)와 초등학교생 가족균주인 cluster VI (31과 32)는 각각 유사도가 100%이었다.

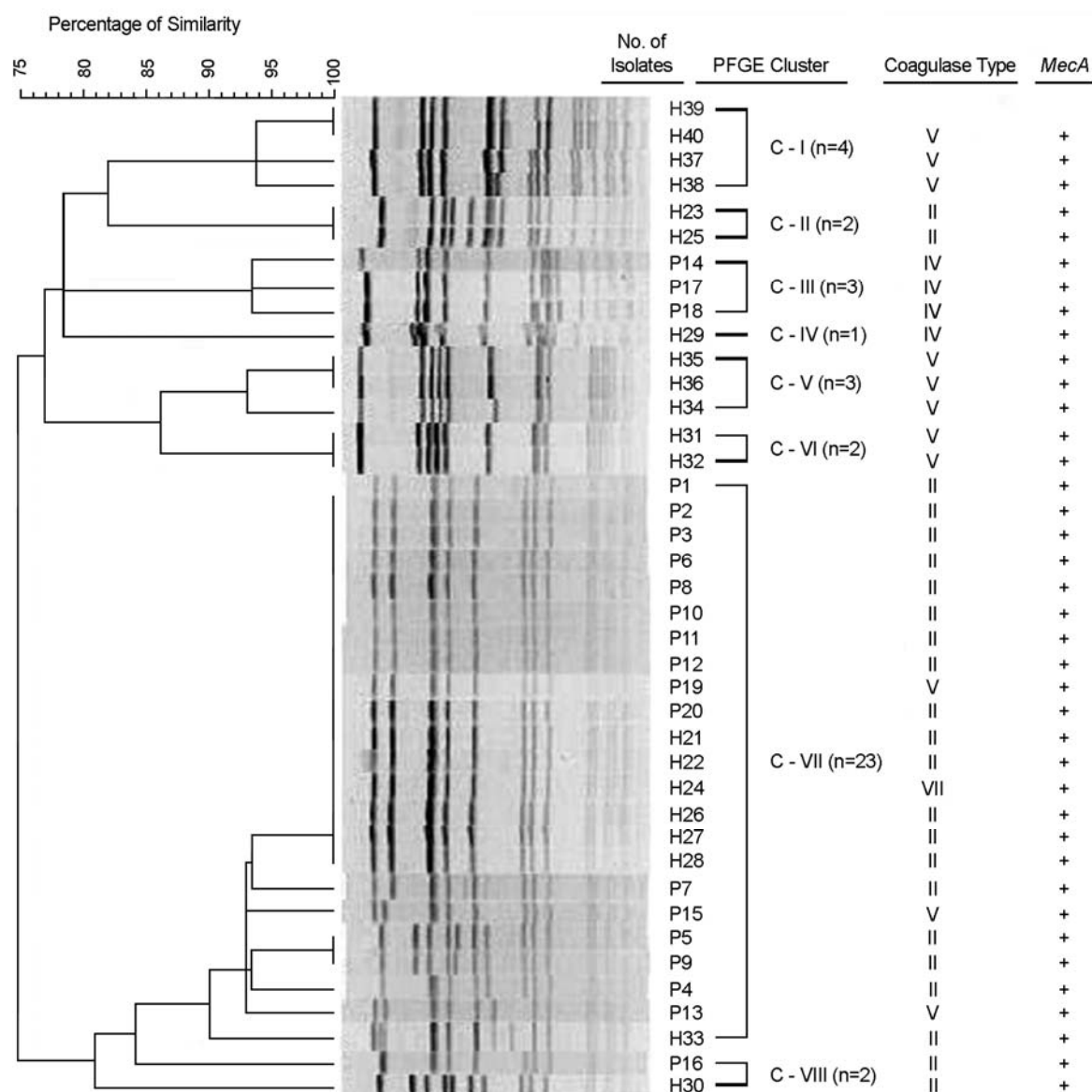
### 항균제 감수성 시험

디스크 확산법으로 항균제 감수성을 시험한 결과, 환자에서 분리된 MRSA는 chloramphenicol에 90%, cotrimoxazole에 85%로 높은 감수성이었으나, mupirocin에는 35%, clindamycin, erythromycin, gentamicin, tobramycin에는 각각 5%로 낮은 감수성을 보였으며, amikacin, ciprofloxacin, tetracycline에는 모든 균주가 내성이었다. 건강인에서 분리된 MRSA는 chloramphenicol, mupirocin과 vancomycin에 모두가, cotrimoxazole에 95%가, ciprofloxacin과 clindamycin에 90%가 감수성이었으나, tetracycline에는 65%, genta-

**Table 2.** Distribution of coagulase serotypes of MRSA strains isolated from dermatology patients and healthy individuals

Source (No. tested)	No. (%) of isolates with coagulase serotypes								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	NT <sup>a</sup>
Dermatology patients (30)	0	22 (73)	0	4 (13)	3 (11)	0	1 ( 3)	0	0
Healthy individuals (30)	1 (3)	2 ( 7)	0	0	17 (57)	0	8 (26)	0	2 (7)
Total (60)	1 (2)	24 (40)	0	4 ( 7)	20 (33)	0	9 (15)	0	2 (3)

<sup>a</sup> NT, not typable



**Figure 1.** PFGE dendrogram of SmaI-restricted DNA of MRSA isolates from dermatology patients and healthy persons. PFGE banding patterns were analyzed using the Dice coefficient and the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA). The coagulase type and presence of *mecA* gene are also shown.

micin에는 50%, erythromycin에는 35%, amikacin에는 20%, tobramycin에는 10%의 낮은 감수성 비율을 보였다 (Table 3).

피부과 환자 분리 MRSA에 대해 낮은 MIC 범위를 보인 항균제는 vancomycin이 2 µg/ml, rifampin이 ≤0.5~4 µg/ml, mupirocin이 0.125~32 µg/ml이었다. Ciprofloxacin, erythromycin, fusidic acid, gentamicin, tetracycline의 MIC 범위는 넓었다. 모든 균주에 대해 vancomycin의 MIC는 2 µg/ml이었고, 90%의 균주를 억제시킨 MIC (MIC<sub>90</sub>)는

rifampin이 4 µg/ml, mupirocin이 16 µg/ml이었다.

건강인 분리 MRSA에 대해 낮은 MIC 범위를 보인 항균제는 mupirocin이 0.125~0.25 µg/ml, rifampin이 ≤0.5 µg/ml, vancomycin이 0.125~2 µg/ml, clindamycin이 0.5~≥128 µg/ml, fusidic acid 0.06~64 µg/ml 순이었다. MIC<sub>90</sub>은 mupirocin이 0.25 µg/ml, rifampin이 ≤0.5 µg/ml, clindamycin이 ≤0.5 µg/ml, vancomycin이 2 µg/ml, fusidic acid가 32 µg/ml이었다.

피부과 환자 분리 MRSA는 ciprofloxacin, erythromycin,

**Table 3.** Antimicrobial susceptibility of MRSA isolates determined by the CLSI disk diffusion test

Antimicrobial agents	% of MRSA isolates from					
	Patients (n = 20) <sup>a</sup>			Healthy individuals (n = 20)		
	S <sup>b</sup>	I	R	S	I	R
Amikacin	0	0	100	20	50	30
Chloramphenicol	90	0	10	100	0	0
Ciprofloxacin	0	0	100	90	0	10
Clindamycin	5	0	95	90	5	5
Erythromycin	5	0	95	35	20	45
Gentamicin	5	0	95	50	10	40
Mupirocin	35	0	65	100	0	0
Tetracycline	0	0	100	65	0	35
Tobramycin	5	0	95	10	5	85
Vancomycin	100	0	0	100	0	0
Cotrimoxazole	85	0	15	95	0	5

<sup>a</sup>No. of isolates tested.<sup>b</sup>S, susceptible; I, intermediate; R, resistant**Table 4.** Antimicrobial susceptibilities of MRSA isolated from dermatology patients and healthy individuals determined by the CLSI agar dilution method

Source of MRSA (No. tested)	Antimicrobial agents	MIC (μg/ml)			% Resistant
		Range	50%	90%	
Patient (n = 20)	Ciprofloxacin	16~128	32	64	100
	Clindamycin	≤0.5~≥128	≥128	≥128	95
	Erythromycin	≥128	≥128	≥128	100
	Fusidic acid	0.125~≥64	≥64	≥64	90
	Gentamicin	1~≥128	128	≥128	95
	Mupirocin	0.125~32	16	16	65
	Rifampin	≤0.5~4	1	4	35
	Tetracycline	64~≥128	64	64	100
	Vancomycin	2	2	2	0
Healthy individuals (n = 20)	Ciprofloxacin	≤0.5~128	≤0.5	≤0.5	10
	Clindamycin	≤0.5~≥128	≤0.5	≤0.5	5
	Erythromycin	≤0.5~64	≤0.5	64	50
	Fusidic acid	0.06~≥64	0.06	32	15
	Gentamicin	≤0.5~≥128	4	≥128	50
	Mupirocin	0.125~0.25	0.125	0.25	0
	Rifampin	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0
	Tetracycline	≤0.5~64	≤0.5	32	35
	Vancomycin	0.125~2	0.5	2	0

tetracycline에는 모두가, clindamycin에는 95%가 내성이었으나, erythromycin에 내성인 20주 중 1주는 clindamycin에 감수성을 보여 D-zone test 시험을 한 바 유도형 내성을 보여 clindamycin 역시 모두 내성으로 판정되었으며, fusidic acid에 90%, mupirocin에 65%, rifampin에 35%가 내성이었고, vancomycin에는 내성균주가 없었다 (Table 4).

한편 건강인에서 분리된 MRSA의 내성률은 erythromycin과 gentamicin에는 각각 50%이었고, erythromycin에 내성인 20주 중 7주 (35%)는 clindamycin에 감수성을 보여 D-zone 시험을 한 바 유도형 내성을 보여 clindamycin은 40% 내성으로 판정되었으며, tetracycline에 35%, fusidic acid에 15%, ciprofloxacin에 10%가 내성이었고, mupirocin, rifampin 및 vancomycin에 내성인 균주는 없었다 (Table 4).

## 고 찰

MRSA는 원내감염의 중요한 원인균이지만 근년에는 지역사회 감염도 증가되고 있다 (21). CDC는 수술창상 또는 입원 후 72시간 이상 경과한 환자의 모든 부위에서 MRSA가 검출된 경우 병원감염 (hospital infection)이라고 규정하였으며, 외래 환자 또는 입원 후 72시간 이내에 MRSA가 검출되는 경우를 지역사회 감염 (community-acquired infection)으로 정의하였다 (22). 이 연구에서 피부과 입원 환자에서 분리된 MRSA는 모두 CDC 정의에 따라 병원감염 MRSA (hospital acquired MRSA, HA-MRSA)로 판단하였다. 1990년대부터 CA-MRSA 감염은 서서히 증가하였고 럭비 (23), 레슬링 선수에서도 MRSA가 전파한 예 (24), 형무소내에서 MRSA의 집단감염 (25), MRSA에 의한 식중독 등 (26), CA-MRSA에 의한 감염도 HA-MRSA와 같이 증가되고 있다.

MRSA 보균률이 Hisata 등 (27)은 보육원과 유치원의 건강한 소아의 비강에서 4.3%, Hussain 등 (28)은 소아과 외래 환자에서 0.6%, Suggs 등 (29)은 외래 소아과 환자에서 2.2%임을 보고하였다. 한편 국내에서 MRSA의 보균률이 Kim 등은 (30) 대학생의 비강에서 2.1%, Seong 등 (31)은 대학병원 의사의 비강에서 12.5%임을 보고하였다.

본 연구에서 A 종합병원의 건강한 직원, 초등학교 및 초등학교 가족의 788명 중 30명 (3.8%)에서 MRSA를 분리하였으며, 이를 자세히 보면, 건강한 병원 직원 403명의 7.4%에서 분리되었는데, 이중 의사에서는 7.7%로 그

비율이 가장 높았으며, 간호사 5.7%, 비의료인 2.3% 순이었다. 건강한 의료인의 보균율 6.2%는 국내 건강인의 2.1%의 보균율보다 (30) 높았으나, 국내 일부 대학병원 직원에서 분리된 7%보다는 낮은 분리율이었다 (31). 전북 익산시 초등학교 372명의 1.1%에서 MRSA가 분리되었고, MRSA가 분리된 초등학교 가족 13명 중의 46.2%에서 MRSA가 분리되어 가족간의 전파가 추정된다.

MRSA에 의한 원내감염을 방지하기 위해서 감염방어책을 시행하는 것과 동시에 MRSA의 감염원, 감염경로의 정확한 파악이 필요하기 때문에 MRSA의 형별 (typing)이 사용된다. 일본에서는 MRSA의 여러 가지 형별법 가운데 coagulase 혈청형 시험이 많이 이용되고 있는데, 일본의 Moriwaki (32)는 의료종사자에서 분리된 MRSA 균주 중 모두가 coagulase II형이었음을 보고하였고, Nakahara 등 (33)도 환자검체에서 분리된 균주의 46.8~79.7%가 coagulase II형으로 가장 많았다고 하였으며, 국내의 Lee와 Chong (34)은 III형이, Hwang과 Kim (16)은 II형의 비율이 가장 높음을 보고하였다.

본 연구에서 피부과 환자와 건강인의 비강에서 분리한 MRSA 각 30주의 coagulase 혈청형을 시험한 바, 피부과 환자 분리주는 II형이 73%로 가장 높은 비율을 보여 일본 보고 및 국내 일부 보고와도 비슷하였으나, 건강인에서는 V형이 57%로 가장 많아서 환자 분리 MRSA와는 그 비율이 달랐다.

HA-MRSA와 CA-MRSA에 대한 역학조사를 위해서 PFGE에 의한 genomic typing이 이용되고 있다 (18). PFGE 분석에 의해 Kim 등 (35)은 NICU (neonatal intensive care unit)에 입원한 16명의 환자 중 5명에서 분리된 MRSA의 감염원은 다른 병원에서 이송된 환자였다고 하였으며, Lee와 Chong (34)은 창상에서 분리한 MRSA는 지방유행에 의한 감염으로 보고하였다.

본 연구에서 피부과 환자와 건강인에서 분리된 MRSA의 PFGE 유전자형은 8 cluster로 구별되었는데, 가장 많은 균주는 cluster VII (57.7%)에 속하였고, 피부과 환자에서 분리된 MRSA 10주와 건강인에서 분리된 MRSA 6주는 유사도가 100%로 동일한 clone으로 추정되었다. 특히 건강인 분리 MRSA 중에는 의료인과 비의료인 및 초등학교 학생 분리균주 각각 2주가 같은 PFGE형을 보였다. 한편 cluster II에 속한 H23과 H25 균주는 같은 병원에 근무하는 의료인에서 분리되었으며, cluster VI에 속한 H31과 H32는 같은 가족에서 분리되었으며 상동성이 각각 100%

이었으므로 동일한 clone이 의료인 사이에 또는 가족 사이에 전파되었다고 추정되었다.

HA-MRSA와는 대조적으로 CA-MRSA는  $\beta$ -lactam계 이외의 항균제에는 감수성인 것이 특징이며 (36) CA-MRSA가 HA-MRSA로부터 유래되었는지 병원환경에서 진화되었는지는 확실히 알려져 있지 않다 (37). 본 연구에서는 피부과 환자에서 분리된 HA-MRSA는  $\beta$ -lactam계 이외의 항균제 즉, amikacin, ciprofloxacin, erythromycin, kanamycin, tetracycline에는 모든 균주가, clindamycin, erythromycin, gentamicin, tobramycin에는 95%, fusidic acid에는 90%, mupirocin에는 65%, rifampin에는 35%의 균주가 내성이었으나, vancomycin에는 내성이 없었다. 한편, 건강인에서 분리된 MRSA는  $\beta$ -lactam계 이외의 항균제 즉, tobramycin에는 85%가, erythromycin과 gentamicin에는 각각 50%, clindamycin 40%, tetracycline에는 35%, amikacin에는 30%가, fusidic acid에는 15%가 내성을 보였으나, mupirocin, rifampin 및 vancomycin에는 모두가 감수성을 보여 외국의 보고 (39, 41)와 다소 차이가 있었으며, HA-MRSA와 지역사회 감염으로 추정하는 CA-MRSA와 현저한 내성 차이를 보였다.

Afset와 Maeland (38)는 피부와 연조직에서 분리한 *S. aureus* 균주 중 32.5%가, Larsen 등 (39)은 지역사회 피부와 연조직검체에서 분리한 *S. aureus* 중 21.6%가, Ravenscroft 등 (40)은 아토피 습진 환자에서 분리한 *S. aureus* 중 26%가 fusidic acid에 내성이라고 보고하였으나, 본 연구에서는 피부과 환자와 건강인에서 분리한 MRSA의 fusidic acid 내성률이 각각 90%와 15%를 보여, MRSA 치료제로 사용하는 경우는 항균제 감수성 시험이 필요하다고 판단되었다.

MRSA와 methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA)를 비강에서 제거하기에 mupirocin 연고제가 효과적인 것으로 알려져 있다 (41). 그러나 mupirocin이 1985년부터 사용된 이후 (42), 1987년에 mupirocin-resistant *S. aureus* (MuRSA)의 임상 분리균주가 처음 보고되었고 (43), mupirocin 사용이 증가함에 따라 mupirocin 고도내성 ( $\geq 512 \mu\text{g/ml}$ )과 저도내성 ( $8\sim 256 \mu\text{g/ml}$ )인 균주의 감염이 알려졌다. 한국에서는 1994년부터 mupirocin 연고가 사용된 이래로 2003년에 4.7%의 mupirocin 고도내성 MRSA가 처음 보고되었고 (44), 그 이후 2006년에 6.1% mupirocin 고도내성과 5.2%의 저도내성 MRSA 분리율이 보고되었다 (45). 본 연구에서 건강인 비강에서 mupirocin 저도내성 MRSA

가 분리되지 않았으나, 환자검체에서는 MIC가  $16\sim 32 \mu\text{g/ml}$ 인 mupirocin 저도내성 균주가 분리되어 mupirocin 고도내성 균주도 앞으로 확산될 가능성이 있다고 추정되었으며, 계속 감시하여 고도내성균의 출현과 전파방지에 대한 대책을 세워야 하겠다.

결론으로, 건강한 병원근무자의 MRSA 보균율은 직종에 따라서 2.3~7.7%로 비교적 높았다. 초등학교의 MRSA 보균율은 낮았으나, MRSA 보균 학생 가족의 보균율은 높아져 가족 사이의 전파를 시사하였다. 피부과 환자에서 분리한 MRSA는 건강인에서 분리한 MRSA보다 항균제 내성율이 더 높았고, 환자 분리 MRSA 중에는 mupirocin 내성균이 있었으나, vancomycin에는 모든 MRSA가 감수성이어서 감염 치료제로 사용될 수 있음에 변함이 없다고 판단되었다.

## 참 고 문 헌

- 1) Jevons MP. "Celbenin"-resistant staphylococci. Br Med J 1961;124:124-5.
- 2) Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. Ann Intern Med 1982;96:11-6.
- 3) Hussain FM, Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in healthy children attending an outpatient pediatric clinic. Pediatr Infect Dis J 2001;20:763-7.
- 4) Suggs AH, Maranan MC, Boyle-Vavra S, Daum RS. Methicillin-resistant and borderline methicillin-resistant asymptomatic *Staphylococcus aureus* colonization in children without identifiable risk factors. Pediatr Infect Dis J 1999; 18:410-4.
- 5) Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, Tang AW, Phung TO, Spellberg B. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. N Engl J Med 2005; 352:1445-53.
- 6) Chong Y, Lee K. Present situation of antimicrobial resistance in Korea. J Infect Chemother 2000;6:189-95.
- 7) Kim JM, Park ES, Jeong JS, Kim KM, Kim JM, Oh HS, Yoon SW, Chang HS, Chang KH, Lee SI, Lee MS, Song JH, Kang MW, Park SC, Choe KW, Pai CH. Multicenter surveillance



- study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. Nosocomial Infection Surveillance Committee of the Korean Society for Nosocomial Infection Control. *Am J Infect Control* 2000;28:454-8.
- 8) Kim HB, Sa CM, Yoo J, Kim BS, Yun OJ, Yoon HR, Lee YS. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* isolated from the patients admitted to non-tertiary hospitals. *Korean J Infect Dis* 2000;32:259-63.
- 9) Tenover FC, Arbeit R, Archer G, Biddle J, Byrne S, Goering R, Hancock G, Hébert GA, B Hill, Hollis R. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1994;32:407-15.
- 10) Aarestrup FM, Wegener HC, Rosdahl VT. Evaluation of phenotypic and genotypic methods for epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Denmark. *Vet Microbiol* 1995;45:139-50.
- 11) Prevost G, Jaulhac B, Piemont Y. DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis is more effective than ribotyping in distinguishing among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 1992;30:967-73.
- 12) Saulnier P, Bourneix C, Prevost G, Andremont A. Random amplified polymorphic DNA assay is less discriminant than pulsed-field gel electrophoresis for typing strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1993;31:982-5.
- 13) Ichiyama S, Ohta M, Shimokata K, Kato N, Takeuchi J. Genomic DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiological marker for study of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1991;29:2690-5.
- 14) Yokoyama TS. Study on *mec* gene in methicillin-resistant *Staphylococci*. *Kansenshogaku Zasshi* 1993;67:1203-10.
- 15) Lee HK, Lee EJ, Pakh YJ, Kim BK, Kang MW, Shim SI. Relationship between the level of methicillin resistance and *mecA*, *mecI*, *femA*, genes in *Staphylococci*. *Korean J Infect Dis* 1998;30:36-44.
- 16) Hwang SM, Kim TU. Changes in coagulase serotype of *Staphylococcus aureus* isolates in Busan, 1994~2005. *Korean J Microbiol* 2007;43:346-50.
- 17) Hwang SM, Seki K, Sakurata J, Ogasawara M, Murai M, Ohmayu S, Kurosaka K, Masuda S. Improved methods for detection and serotyping of coagulase from *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol* 1989;33:175-82.
- 18) 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; 41:1574-85.
- 19) CLSI. Performance standards for microbial susceptibility testing 19th informational supplement. M100-S19. CLSI 2009, Wayne Pa.
- 20) MacGowan AP, Wise R. Establishing MIC breakpoints and the interpretation of *in vitro* susceptibility tests. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:17-28.
- 21) Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamanoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, Baba T, Terasawa M, Sotozono C, Kinoshita S, Yamashiro Y, Hiramatsu K. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococci* among healthy Japanese children. *J Clin Microbiol* 2005;43:3364-72.
- 22) Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
- 23) Stacey AR, Endersby KE, Chan PC, Marples RR. An outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection in a rugby football team. *Br J Sports Med* 1998;32:153-4.
- 24) Lindenmayer JM, Schoenfeld S, O'Grady R, Carney JK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a high school wrestling team and the surrounding community. *Arch Intern Med* 1998;158:895-9.
- 25) CDC. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a state prison-Mississippi, 2000. *Morp Mortal Wkly Rep* 2001;50:919-22.
- 26) Jones TF, Kellum ME, Porter SS, Bell M, Schaffner W. An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2002;8:82-4.
- 27) Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamanoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, Baba T, Terasawa M, Sotozono C, Kinoshita S, Yamashiro Y, Hiramatsu K. Dissemination of Methicillin-resistant *Staphylococci* among healthy Japanese children. *J Clin Microbiol* 2005;43:3364-72.

- 28) Hussain FM, Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in healthy children attending an outpatient pediatric clinic. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:763-7.
- 29) Suggs AH, Maranan MC, Boyle-Vavra S, Daum RS. Methicillin-resistant and borderline methicillin-resistant asymptomatic *Staphylococcus aureus* colonization in children without identifiable risk factors. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:410-4.
- 30) Kim SM, Song NK, Shin SH, Chung JO, Lee GS, Kim YH, Oh JS, Cha CD, Moon SE, Kim KJ, Shim ES, Kim EC, Seong CN, Chong Y. Nasal carriage of MRSA among healthy individual and detection of *mecA* and *femA* gene methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Korean J Clin Lab Sci* 1999; 31:91-104.
- 31) Seong HK, Bae YS, Kim YH. The epidemiological of nasal colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients and doctors. *J Exp Biomed Sci* 2004;10:309-15.
- 32) Moriwaki T. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from inpatients and medical workers in orthopedics ward. *Kansenshogaku Zasshi* 2003;77:1058-66.
- 33) Nakahara S, Kawayama T, Yokoyama T, Akiyoshi H, Okubo Y, Honda J, Tokunaga N, Ichikawa Y, Oizumi K, Kajimura K. Antibiotics susceptibilities and other biological properties of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Observation in the last 2 years in our university hospital. *Kansenshogaku Zasshi* 1994;68:339-45.
- 34) Lee MS, Chong Y. Characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wounds in Korean patients. *J Infect Chemother* 1996;2:130-35.
- 35) Kim EC, Jung HJ, Oh MD, Lee HJ, Oh HS, Choe KW. Epidemiological typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak isolates by pulsed field gel electrophoresis and antibiogram. *Yonsei Med J* 1998;39:587-94.
- 36) Weber JT. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2005;41:S269-72.
- 37) Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis* 2001;7:178-82.
- 38) Afset JE, Maeland JA. Susceptibility of skin and soft-tissue isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* to topical antibiotics: indications of clonal spread of fusidic acid-resistant *Staphylococcus aureus*. *Scand J Infect Dis* 2003; 35:84-9.
- 39) Larsen AR, Skov RL, Jarlier V, Henriksen AS. Epidemiological differences between the UK and Ireland versus France in *Staphylococcus aureus* isolates resistant to fusidic acid from community-acquired skin and soft tissue infections. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:589-94.
- 40) Ravenscroft JC, Layton AM, Eady EA, Murtagh MS, Coates P, Walker M, Cove JH. Short-term effects of topical fusidic acid or mupirocin on the prevalence of fusidic acid resistant (FusR) *Staphylococcus aureus* in atopic eczema. *Br J Dermatol* 2003;148:1010-7.
- 41) Parras F, Guerrero MC, Bouza E, Blazquez MJ, Moreno S, Menarguez MC, Cercenado E. Comparative study of mupirocin and oral co-trimoxazole plus topical fusidic acid in eradication of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:175-9.
- 42) Schmitz FJ, Jones ME. Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? *Int J Antimicrob Agents* 1997;9:1-19.
- 43) Rahman M, Noble WC, Cookson B. Mupirocin resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* ii;1987:387-8.
- 44) Yun HJ, Lee SW, Yoon GM, Kim SY, Choi S, Lee YS, Choi EC, Kim S. Prevalence and mechanisms of low-and high-level mupirocin resistance in staphylococci isolated from a Korean hospital. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:619-23.
- 45) Yoo JI, Shin ES, Cha JO, Lee JK, Jung YH, Lee KM, Kim BS, Lee YS. Clonal dissemination and *mupA* gene polymorphism of mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from long-term-care facilities in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:365-7.