

치과병원 진료실 내에서 메티실린 또는 반코마이신 저항성 *Staphylococcus aureus*의 검출

민정희¹ · 박순남^{2,4} · 황호길^{1,3,4} · 민정범^{1,3} · 김화숙⁵ · 국중기^{2,3,4*}

조선대학교 치과대학 ¹보존학교실, ²구강생화학교실, ³구강생물학연구소,
⁴2단계 BK21 첨단치과의료연구인력양성사업단, ⁵전남과학대학 치위생과

ABSTRACT

DETECTION OF METHICILLIN OR VANCOMYCIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* FROM DENTAL HOSPITAL

Jung-Hee Min¹, Soon-Nang Park^{2,4}, Ho-Keel Hwang^{1,3,4},

Jung-Beum Min^{1,3}, Hwa-Sook Kim⁵, Joong-Ki Kook^{2,3,4*}

¹Department of Conservative Dentistry, ²Department of Oral Biochemistry, and

³Oral Biology Research Institute, College of Dentistry,

⁴The Second Stage of BK21 High-tech Dental Care & Human Resource Training Center, Chosun University,

⁵Department of Dental Hygiene, Chunnam Techno College, Gokseong County, Jeonnam

The purpose of this study was to obtain the basic information for the improvement of dental environment by investigating the presence of methicillin- or vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA or VRSA) isolated from dental health care workers (DHCWs) and environment of the Chosun University Dental Hospital (CUDH) and a private dental clinic (control group). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was isolated from anterior nares of 42 DHCWs and 38 sites, unit chairs, x-ray devices, computers, etc., at 10 departments of the CUDH and 20 DHCWs and 11 sites at the private dental clinic. *S. aureus* was isolated on mannitol salt agar plate and confirmed by PCR with *S. aureus* species-specific primer. Antimicrobial susceptibility test of clinical isolates of *S. aureus* against several antibiotics including methicillin (oxacillin) was performed by investigating minimum inhibitory concentration (MIC) using broth microdilution assay. In addition, PCR was performed to detect the methicillin- or vancomycin-resistant gene. The data showed that one strain of *S. aureus* was isolated from DHCWs of the CUDH and three strains of *S. aureus* was isolated from 3 samples of the private dental clinic, respectively. All of the isolates from the CUDH and the private dental clinic had resistance to penicillin G, amoxicillin and vancomycin and susceptibility to oxacillin and ciprofloxacin. The *S. aureus* strains were already obtained the resistance to penicillin G and amoxicillin. These results suggest that two dental clinics were under relatively safe environment. [J Kor Acad Cons Dent 32(2):102-110, 2007]

Key words: MRSA, VRSA, Minimum inhibitory concentration, PCR

- Received 2006.3.15., revised 2006.6.22., accepted 2006.7.7. -

* Corresponding Author: **Joong-Ki Kook**

Dept. of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun Univ.

375 Seosuk-dong, Dong-gu, Kwangju, 501-825, Korea

Tel: 82-62-230-6877 Fax: 82-62-224-3706

E-mail: jkkook@chosun.ac.kr

※ 이 논문은 2005년도 조선대학교 부속 치과병원 연구보조비 (국중기) 지원에 의하여 연구되었음.

I. 서 론

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 건강인의 액와나 인후, 비강 등에 존재하는 정상 상주균으로 가벼운 피부 감염증에서 심각한 봉와직염이나 심내막염, 골수염, 패혈증을 야기할 수 있고 나아가 사망에 까지 이를 수 있는 화농성 질환의 80%를 차지하는 원인균으로 알려져 있다^{1-4,6,7}. 여전히 대두되고 있는 *S. aureus*에 의한 병원 내 감염은 병원 내 진료인과 진료 보조인력 및 진료실 환경 자체가 병원 내 감염 원인균 전파를 매개하거나 감염로가 될 수 있다^{2,4}. 치과영역에서도 *S. aureus*가 진료인과 환자 간에 삼출액, 피부 및 타액 등에 의한 접촉이나 또는 공기 중에 떠도는 aerosol 형태로 존재하다가 진료기구나 유니트 চে어 등에 내려앉아 접촉됨으로써 감염되어 치과치료 후의 심내막염이나 균혈증, 골수염, 연조직 감염 및 치명적 결과를 야기할 수 있는 병원감염에 깊이 관여하고 있다^{3,4,6}. 특히 구강악안면 감염환자가 많고 항생제 사용이 빈번한 구강악안면 외과에서 그 의미가 크다고 할 수 있다. 최근 이러한 *S. aureus*에 의한 병원감염이 꾸준히 증가되는 것으로 보도되고 있으나 구강 및 악안면 감염증 치료의 일반적 방법인 항생제가 내성획득균주의 출현으로 인해 문제시 되고 있다².

*S. aureus*의 치료를 위해 1940년대부터 penicillin의 사용은 곧 내성균주의 출현을 가져와 1950년대 후반에는 대다수가 penicillinase를 생산하게 되어 penicillinase에 저항성이 있는 β -lactam계 항생제인 methicillin을 사용하였으나 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)가 곧이어 보고되었고, 이후 그 수가 지속적으로 증가하여 1980년대 이후에는 다약제 내성 (multidrug resistance)을 보이는 MRSA가 감염 원인균으로서 주목받게 되었다⁸. 이에 MRSA에 유효한 선택적 치료제로서 glycopeptide계 항생제인 vancomycin 등이 사용되게 되었으나 빈번한 사용으로 인해 1986년 유럽에서 vancomycin에 내성을 갖는 장구균 (vancomycin resistant enterococci, VRE)이 출현하게 되었고 1996년 일본에서 vancomycin에 저항적인 *S. aureus*의 분리가 보고된 이래 vancomycin에 대한 감수성 저하 경향을 보이고 있어, *S. aureus*에 의한 감염증 시 치료제 선택에 있어 난관에 봉착하게 되었다⁷⁻⁹. 우리나라에서 황색포도상구균의 항생제 내성은 특히 문제가 심각하여, methicillin 내성율은 50% 정도로 매우 높게 보고되고 있으며 대한병원감염관리학회의 조사결과에 따르면 80%에 이르는 것으로 나타났다⁷.

이에 본 연구의 목적은 조선대학교 치과병원 내의 진료 환경 및 진료인과 진료 보조 인력으로부터 화농성 감염 및 병원 내 감염의 주요 원인균 중 하나이며 기회감염성 병원체인 *S. aureus*의 분포를 조사하고, 이중 methicillin- or vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA

or VRSA)의 존재여부를 확인하여, 이를 광주지역 개원치과와 비교분석함으로써 현재 조선대학교 치과병원의 MRSA와 VRSA의 오염정도를 파악하고 MRSA와 VRSA의 확산 예방을 위한 기초 자료를 얻기 위함이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 샘플채취 및 *S. aureus* 분리

조선대학교 치과병원 10개 임상진료실 환경과 진료요원을 대상으로 멸균된 면봉을 이용하여 진료 환경에서는 유니트 চে어의 헤드 레스트, চে어 버튼, চে어 손잡이, 라이트 손잡이, 입행구는 부분, 진료기구 선반과 진료실의 컴퓨터 자판기, 창문틀, 개수대, 상담 데스크, 환자대기실 등의 오염 가능성이 높은 부위에서, 진료요원에서는 전비강에서 각각 세균을 채취하였다. 비교분석을 위해 광주지역 개원치과를 대상으로 동일하게 시행하였다. 조선대학교 치과병원에서는 진료환경에서 38개, 진료요원에서 42개, 개인 치과에서는 진료환경에서 11개, 진료요원에서 20개의 샘플을 얻었다. 이들 샘플들을 staphylococci 선택배지인 mannitol salt agar (MSA, Bacto Proteose Peptone 1.0%, Bacto Beef Extract 0.1%, Bacto D-mannitol, 1.0%, Sodium Chloride 7.5%, agar 1.5%, Bacto Phenol Red 0.0025%, Difo Lab. Co., MI, USA)에 도말하고, 37℃ 세균배양기에서 24시간 배양하였다. 배지가 붉게 변색된 것은 *Staphylococcus epidermidis*로 간주하고 노랗게 변색된 것 중 모양, 색깔, 크기에 따라 다른 colony들을 다시 MSA 배지에 도말하여 37℃ 세균배양기에 배양하였다. 본 연구에서 대조균으로 *S. aureus* KCTC 1621를 사용하였고 이 균주는 한국생명공학연구원 생물자원센터 (KCTC, Korean Collection for Type Cultures)에서 분양받아 사용하였다.

2. 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction, PCR)을 이용한 *S. aureus*의 동정

2-1. 세균의 유전체 DNA 추출

각각의 세균을 3 ml의 액체배지에 배양한 후 10,000 × g의 원심력을 이용하여 수확하고, 이를 G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit (iNtRON Co., Seoul, Korea)를 이용하여 세균 유전체 DNA를 추출하였다. 즉, 세균을 수확한 다음 50 μ l의 Pre-incubation solution과 3 μ l의 lysozyme solution을 넣고 잘 혼합한 다음 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 여기에 250 μ l의 G-buffer solution을 넣고 잘 혼합한 다음 65℃에서 15분간 반응시키고, 250 μ l의 Binding solution을 넣고 잘 혼합한 다음 vortexing

하였다. 이러한 cell lysates를 G-spin™ column에 넣고 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다. Column에 500 μ l의 washing buffer A를 넣고 다시 1분간 원심분리하였다. 여기에 500 μ l의 washing buffer B를 넣고 다시 1분간 원심분리하고, G-spin™ column을 새로운 eppendorf tube에 넣고 100 μ l의 elution buffer를 넣고 1분간 실온에 방치한 다음 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다.

2-2. PCR

Staphylococci 선택배지에서 자라난 균주들 중 *S. aureus*를 동정하기 위하여 PCR을 시행하였다. PCR pre-mix (Bioneer Co., Seoul, Korea)에 추출한 유전체 DNA 4 μ l와 *S. aureus* 중 특이 primers (Table 1)인 sau1 및 sau2 10 pmol을 각각 1 μ l씩 넣은 후 총 20 μ l의 PCR 혼합용액이 되도록 DDW 14 μ l를 첨가하여 PTC-200 PCR machine (MJ research, USA)을 사용하여 PCR을 시행하였다¹⁰⁾. 이때의 시간과 온도 반응 조건은 다음과 같다. 94℃에서 3분간 pre-denaturation 시행한 후, 94℃에서 30초간 denaturation, 55℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 30초간 extension 단계를 30회 반복한 후, final extension을 위해 72℃에서 4분간 시행하였다. PCR 시행 후에 그 증폭산물 중 2 μ l를 취하여 1.5% agarose gel 상에 100V로 15분간 전기영동을 시행하고 UV transilluminator로 관찰하여 PCR 산물을 확인하였다. 이때의 size marker는 100bps DNA ladder (Bioneer Bioneer Co., Seoul, Korea)를 사용하였다.

3. 항생제 감수성 검사

본 연구에서는 penicillin G, amoxicillin, oxacillin (methicillin의 불안정성으로 인해, 이와 동일한 작용을 가지며 훨씬 안정한 항생제인 oxacillin을 사용함)¹¹⁾, ciprofloxacin, cefuroxime axetil, clindamycin 및 vancomycin의 총 7개의 항생제를 씨그마사 (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 항생제에 대한 최소성장 억제농도 (minimal inhibitory concentration; MIC)는 Murray와 Jorgensen의 방법에 의한 액체배지 희석법으로 측정하였다¹²⁾. 각각의 항생제 농도가 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 μ g/ml가 되도록 순차적으로 희석된 항생제가 첨가된 mannitol salt 액체배지 0.1 ml에 450 nm의 파장에 대한 흡광도 (A_{450})가 0.05로 일정하게 현탁된 세균배양액을 각각 0.1 ml씩 접종하고 37℃ 세균배양기에서 24시간 배양한 후 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이때 양성대조군인 ampicillin 5 mg/ml에 세균배양액이 희석된 것과 동일한 효과를 보일 경우를 MIC 값으로 결정하였다. 음성대

조군은 항생제를 넣지 않은 세균배양액으로 하였다.

4. PCR을 이용한 항생제 내성 유전자 존재 유무 확인

동정한 *S. aureus*의 항생제에 대한 내성기전을 알아보기 위해 기존에 알려진 항생제 내성유전자 primer를 이용하여 PCR을 시행한 후 최종 반응물 중 4 μ l를 1.5% agarose gel에 100V로 15분간 전기영동하여 항생제 내성유전자의 존재유무를 확인하였다. 이때 사용한 PCR 프라이머는 Table 2와 같다.

III. 연구결과

조선대학교 치과병원 및 광주지역 개원치과로부터 분리한 임상균주들의 mannitol 발효검사를 시행한 결과 노랑계 산성변화를 보이는 것은 *S. aureus*로, 붉게 염기성 변화를 보이는 것은 *S. epidermidis*로 사료되며, 각각 큰 colony와 작은 colony의 두 가지 형태를 보였으나 이들을 각각 채배양시 처음 군집형태와 차이를 보이지 않았다 (Figure 1).

치과 진료환경과 진료요원에서 *S. aureus* 분리비율은 조선대학교 치과병원에서는 진료요원 42명 중 1명에서만 분리되었고, 진료환경에서는 분리되지 않았다. 개원치과에서는 20명 중 2명의 샘플에서 *S. aureus*가 분리되었으며, 마찬가지로 환경에서는 어떠한 샘플에서도 분리되지 않았다. 개원치과의 샘플 중 한 개의 샘플에서 두 개의 *S. aureus* 균주가 분리되어 총 3개의 *S. aureus* 임상균주를 얻었다 (Table 3).

Murray와 Jorgensen¹²⁾의 방법에 의한 액체배지 희석법으로 측정된 항생제에 대한 최소성장억제농도 (minimum inhibitory concentration; MIC)는 Table 4와 같다. 조선대학교 치과병원에서 분리된 *S. aureus* (ChDC 42-2)는 oxacillin, cefuroxime에 감수성을 보였고, ciprofloxacin, clindamycin, amoxicillin, penicillin G, vancomycin 에는 내성을 보였다. 개원치과에서 분리된 ChDC S6의 경우는 oxacillin만 감수성을 보이고, clindamycin, amoxicillin, penicillin G, ciprofloxacin, cefuroxime, vancomycin에 내성을 보였다. 그리고 나머지 ChDC S7, ChDC S10의 경우는 연구한 모든 항생제에 대해서 내성을 보였다. 액체배지 희석법으로 시행한 결과 조선대학교 치과병원과 개원치과의 *S. aureus* 임상 분리 균주들은 모두 clindamycin, amoxicillin, penicillin G, ciprofloxacin, vancomycin에 내성을 가지고 있었으며 oxacillin과 cefuroxime에는 균주에 따라 내성 또는 감수성을 보였다. 각각의 항생제에 대한 *S. aureus*의 항생제 내성과 감수성을 구분하는 농도범위를 Table 5에 도시하였다⁶⁾. 항생제 내성 유전자의 존재 유무를 확인하기 위해 PCR을 시행 후



Figure 1. Isolation of *S. aureus* on mannitol salt agar (MSA) which is selective medium for the *S. aureus*. The color change of the medium to yellow means that mannitol was fermented by *S. aureus* (A). *S. epidermidis* had no ability of the fermentation of mannitol (B).

Table 1. PCR primers for the identification of *S. aureus*¹⁰⁾

Primer pair	Sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)
sau1	AAT CTT TGT CGG TAC ACG ATA TTC TTC ACG	107
sau2	CGT AAT GAG ATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA	

Table 2. PCR primers for the detection of *S. aureus*-antibiotic resistance genes¹⁵⁾

Target gene	Resistance phenotype	Sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)
<i>mecA</i>	PEN, OXA	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C	532
<i>erm(A)</i>	ERY, CLI	AAG CGG TAA ACC CCT CTG A TTC GCA AAT CCC TTC TCA AC	190
<i>erm(C)</i>	ERY, CLI	AAT CGT CAA TTC CTG CAT GT TAA TCG TGG AAT ACG GGT TTG	299
<i>vanA</i>	VAN	GTA GGC TGC GAT ATT CAA AGC CGA TTC AAT TGC GTA GTC CAA	231
<i>vanB</i>	VAN	GTA GGC TGC GAT ATT CAA AGC GCC GAC AAT CAA ATC ATC CTC	300

PEN, penicillin; OXA, oxacillin; ERY, erythromycin; CLI, clindamycin; VAN, vancomycin.

Table 3. Detection frequency of *S. aureus* in dental clinics

Site	Personnel	Environment
Dental Hospital	1 (42)	0 (38)
Private Dental Clinic	2 (20)	0 (11)

(): Number of samples

Table 4. Minimum inhibitory concentration of antibiotics against *S. aureus* of clinical isolates

Strains	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)						
	PEN	AMX	OXA	CIP	CXM	CLI	VAN
ChDC 42-2	> 64	> 64	1	32	1	> 64	64
ChDC S6	> 64	> 64	0.5	64	64	> 64	64
ChDC S7	> 64	> 64	16	64	64	64	64
ChDC S10	> 64	> 64	64	64	64	32	64

PEN, penicillin G; AMX, amoxicillin; OXA, oxacillin; CIP, ciprofloxacin; CXM, cefuroxime; CLI, clindamycin; VAN, vancomycin

Table 5. MIC interpretive standards for *S. aureus*

Antimicrobial agent	MIC (mg/ml) Interpretive Standards		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillin	≤ 0.12	-	≥ 0.25
Amoxicillin	$\leq 4/2$	-	$\geq 8/4$
Oxacillin	≤ 2	-	≥ 4
Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4
Cefuroxime	≤ 4	8 - 16	≥ 32
Clindamycin	≤ 0.5	1 - 2	≥ 4
Vancomycin	≤ 4	8 - 16	≥ 32

Table 6. Detection of *S. aureus*-antibiotic resistance genes from clinical isolates of *S. aureus*

Strains	Result of PCR				
	<i>mecA</i>	<i>ermA</i>	<i>ermC</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>
ChDC 42-2	- ^a	+ ^b	-	-	-
ChDC S6	-	-	-	-	-
ChDC S7	+	-	-	-	-
ChDC S10	+	-	-	-	-

-, not detected; +, detected

전기영동한 결과는 Table 6에 정리하였다. 조선대학교 치과병원에서 분리된 *S. aureus* (ChDC 42-2)는 erythromycin과 clindamycin에 내성 유전자인 *ermA*가 존재하였으며 개원치과에서 분리된 3개의 *S. aureus* 중 ChDC S7, ChDC S10에서 penicillin과 oxacillin에 내성 유전자 *mecA*가 존재하는 것으로 나타났다. 이는 액체배지

희석법에서 수행한 oxacillin에 내성을 보인 연구 결과와 일치하였다. 그러나 vancomycin에 내성인 것으로 나온 결과와는 다르게 vancomycin 내성 유전자인 *vanA*, *vanB*는 어떠한 균주에서도 검출되지 않았다. 대조균으로 사용된 *S. aureus*는 *ermA*, *ermC*, *mecA* 유전자를 가진 것으로 나타났다.

IV. 총괄 및 고안

*S. aureus*은 병원 내 감염의 주요 원인균으로 그 중요성이 날로 증가되고 있다. 특히 MRSA는 주로 대규모 종합병원을 중심으로 진료요원에 의해 수술 후 회복기의 환자나 중환자 또는 신생아들에 감염되어 폐렴, 농흉, 골수염, 각종 연조직 농양, 화상 및 창상 감염, 심내막염, 패혈증 및 균혈증 등 국소감염에서 심각한 전신감염에 이르기까지 다양한 감염증을 야기할 수 있으며^{1-3,6,7)}, 때로 사망에까지 이를 수 있는 화농성 질환의 80%를 차지하는 가장 흔한 원인균으로 주목받고 있다^{2,4,6)}. 병원 내 환경 및 진료요원과 환자가 황색포도상구균의 접촉에 의한 감염의 전파 즉, 교차감염을 야기하는 매개체 역할을 할 수 있으며, 최근 일반적인 감염증 치료에 사용되는 항생제 내성획득균주와 관련되어 종합병원에서 MRSA 감염의 증가가 임상적으로 큰 문제로 대두되고 있다. 특히 반합성 penicillin인 methicillin에 내성을 가진 균들은 대부분이 다약제 내성균이기 때문에 이러한 균주에 의한 감염증 시 항생제 선택에 있어 난점이 있다⁴⁾.

*S. aureus*는 정상인의 피부, 액와, 비강 및 회음부 등에 정상적으로 존재하여 검출부위가 다양하나 현재까지 연구 결과에 따르면 전비공이 *S. aureus*의 보균여부를 파악할 수 있는 가장 좋은 부위로 알려져 있어 본 연구의 샘플도 대상인의 전비공에서 채취하였다⁶⁾.

본 연구에서의 *S. aureus* 분리율은 조선대학교 치과병원에서 2.3%, 개원치과의원에서는 10%에 불과하며, 진료 환경 샘플에서는 전혀 검출되지 않았다. 치과진료실에서 황색포도상구균의 감염에 대한 연구에서도 병원환경에서 보다 치과병원에 근무하는 의료인에서 가장 높은 분리율을 보였다⁴⁾. 김과 문의 연구에서 치과 의료인에서 14.9%, 근무환경에서 15.9%의 *S. aureus*의 분리율에 비해 본 연구 결과는 매우 낮은 수치이며, 진료 환경 샘플에서 *S. aureus*가 검출되지 않은 것은 다행스러운 일이다²⁾. 본 연구에서의 *S. aureus* 분리율이 낮은 것은 조선대학교 치과병원과 개원치과가 지어진 지 5년 정도 밖에 안되어 비교적 오염도가 높지 않기 때문으로 사료되나, 채취한 샘플 수가 상대적으로 적다는 것 또한 배제할 수 없다.

원광대학교 치과대학병원과 개원치과의원 및 보건소 치과 의료인과 진료환경에서 분리한 *S. aureus*의 항생제 감수성을 조사한 연구에서는 penicillin과 ampicillin에 가장 높은 내성빈도를 보이고, erythromycin과 oxacillin의 순으로 높은 빈도를 보인다고 하였다²⁾. 항생제 감수성에 있어서는 vancomycin이 가장 높은 감수성을 나타냈으며, chloramphenicol, cephalothine 순으로 감수성이 높게 나타났고, MRSA 균주들이 의료인과 입원환자 모두에서 분리되어 병원 내 상호 교차감염이 의심된다고 하였다. 치과영역에 대한 *S. aureus*의 분포와 항생제 내성에 대한 또 다른 연구에

서는 penicillin이 63.8%로 가장 높은 내성빈도를 보이며, oxacillin이 22.0%로 두 번째로 내성빈도가 높은 것으로 나타났다⁶⁾. 본 연구에서 분리된 *S. aureus*는 액체배지 희석법을 이용한 항생제 감수성 검사를 한 결과 clindamycin, amoxicillin, penicillin G, ciprofloxacin, vancomycin에 내성을 가지고 있었다.

MRSA의 methicillin에 대한 내성기전은 페니실린 결합단백의 변화에 기인하는 것으로 알려져 있으며¹⁾ β -lactam계 항생제에 대한 친화성이 매우 낮은 penicillin-binding protein (PBP)인 PBP2a가 methicillin 내성에 대한 가장 중요한 결정인자라고 하였다^{4,11)}. PBP2a는 다른 PBP가 불활성되는 β -lactam계 항생제 농도에서도 세포벽의 주요성분인 peptidoglycan의 합성을 지속적으로 수행하여 내성을 발휘할 수 있으며, *mecA* 유전자에 의해 발현된다고 하였고, 또 다른 연구에서는 *mec* 유전자 이외에 *fem* 유전자도 methicillin 내성발현에 관여한다고 하였다⁴⁾. 따라서 MRSA는 다른 베타 락탐 항생제 (ampicillin, cefotaxime, cefamandole, cefazoline, moxalactam)에 대해서도 내성을 보일 수 있다^{1,10)}. 본연구에서 시험한 항생제들에 대한 내성 유무의 최종적 판단을 위해 PCR을 실시한 결과 조선대학교 치과병원에서 분리된 *S. aureus*는 erythromycin과 clindamycin에 내성 유전자인 *ermA*가 존재 하였으며, 개원치과에서 분리된 3개의 *S. aureus* 중 2개에서 penicillin과 oxacillin에 내성 유전자 *mecA*가 존재하는 것으로 나타났다. Vancomycin 내성을 보인 균주에서 vancomycin 내성 유전자인 *vanA*, *vanB*는 검출되지 않았다. 최근 관심이 증가되고 있는 VRSA에 대한 내성기전은 여러 연구들이 있으나 아직 확실하지 않다. 그러나 MRSA에 대한 vancomycin과 같은 glycopeptide계 항생제의 사용빈도가 특히 우리나라에서 증가함에 따라 이들 균주에 대한 내성화가 우려되며 따라서 이에 대한 연구를 통해 항생제 내성기전에 대한 정확한 이해가 신속히 요구되고, 감염증 시 항생제 감수성 검사를 통한 항생제의 합리적 사용으로 내성균주의 출현 예방에 대한 노력이 절실히 필요하다고 하겠다.

다약제 내성 *S. aureus*의 증가는 아직까지 항생제 오남용에 대한 사회적 인식의 부족에 따른 균의 내성화가 가장 큰 원인으로 사료되며, MRSA의 유일한 치료제로서 제시되는 vancomycin을 균주에 장기간 적용 시 vancomycin 내성균주를 만들 수 있다는 연구결과 또한 항생제 오남용에 대한 엄중한 경고를 주고 있다⁹⁾.

*S. aureus*의 항생제 내성에 관한 또 다른 연구에서는 포도상구균의 치료에 penicillin의 대용제로 흔히 이용되는 erythromycin과 clindamycin이 MRSA의 치료제로서 효용성이 없으며, MRSA에 의한 감염증의 치료에 강력하게 추천되어 왔던 ciprofloxacin도 MRSA에 대한 내성의 빠른 증가로 인해 더 이상 효과적이지 않다고 보고하였다¹⁾. 그러

나 모든 균주에서 vancomycin에 대해 100%의 감수성을 보였다 하였다. 본 연구조사에서는 이와는 달리 vancomycin이 모든 임상분리 균주에서 내성을 보이고 있었다.

Vancomycin에 대한 MIC가 점차로 증가되고 있으며 vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA)가 이미 보고된 점을 고려할 때 vancomycin의 사용에도 신중을 기해야 할 것이다¹⁾. 또한 병원 내 감염원인 *S. aureus*의 다약제 내성으로 인해 이러한 세균에 의한 감염증의 치료를 위해 반드시 항생제 감수성 검사를 실시하여 항생제를 선별 투약함으로써 세균의 내성획득의 기회를 줄이고 적절한 치료를 시행해야 할 것이다.

치과진료실 환경에서 분리된 세균의 소독제에 대한 감수성 검사에 관한 연구에서 전이감염은 무균법을 주의 깊게 실시함으로써 원내 감염의 확산을 억제 할 수 있을 것이며, 포도상구균의 집락화 제거에 chlorhexidine, zephanon, cresol 및 potadine을, 의료인에 의한 전이가 의심된다면 cephalothine의 사용이 권장된다고 하였다³⁾.

치과 진료실 환경 내에서의 항생제 내성유형을 분석한 한 연구에서, 환자에서 분리한 균주와 진료인력을 포함한 치과 진료실 환경에서 분리한 균주의 내성양상이 달랐는데, 이러한 현상은 제한효소 유형 및 ribotyping의 연구결과에서 나타난 의대병원 환경에서 분리된 *S. aureus*와 같은 병원에 입원한 환자에서 분리된 *S. aureus*의 유전자형이 다르다는 보고와 일치한다고 하였다³⁾. 본 연구에서는 내원 또는 입원 환자에 대한 조사를 시행하지 않았으나 환자로부터 분리한 *S. aureus*의 MRSA 또는 VRSA에 대한 연구 및 조선대학교 치과병원과 의과병원에서의 *S. aureus* 분포양상과 항생제 내성정도에 대한 비교분석도 향후 조선대학교 병원 내 기회감염성 병원체인 *S. aureus*에 대한 정확한 기본적인 자료의 구축을 위해 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 조선대학교 치과병원의 진료환경 및 진료요원으로 부터 기회감염성 병원체로 알려진 methicillin 또는 vancomycin 저항성 황색포도상 구균 (methicillin- or vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA or VRSA)의 존재 여부를 조사하여, 이를 광주지역 개원치과와 비교분석을 통해 현재 조선대학교 치과병원의 MRSA와 VRSA의 오염정도를 파악하고자 하였다. 이를 위해 진료실 환경 및 진료요원으로부터 분리한 *S. aureus* 균주들의 8종 항생제에 대한 감수성 조사를 시행하고, 기존에 알려진 항생제 내성 유전자 존재 여부를 PCR법을 이용하여 확인함으로써 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조선대학교 치과병원의 진료요원에서 채취한 샘플 중 1개 (2.3%), 개원 치과에서는 2명 (10%)의 진료요원의

샘플에서 *S. aureus*가 분리되었으며, 진료환경에서는 두 곳 모두에서 *S. aureus*가 검출되지 않았다.

2. 조선대학교 치과병원과 개원치과에서 분리된 *S. aureus*는 amoxicillin, penicillin G, ciprofloxacin, clindamycin, vancomycin에 내성을 보이며, oxacillin, cefuroxime에는 균주에 따라 감수성 또는 내성을 보였다.

3. 조선대학교 치과병원에서 분리된 *S. aureus*는 erythromycin과 clindamycin에 내성 유전자인 *ermA*가 존재 하였으며, 개원치과에서 분리된 3개의 *S. aureus* 중 2개에서 penicillin과 oxacillin에 내성 유전자 *mecA*가 존재하는 것으로 나타났다. Vancomycin 내성 유전자인 *vanA*, *vanB*는 어떠한 샘플에서도 검출되지 않았다.

이상의 결과를 종합할 때, 본 연구는 조선대학교 치과병원과 개원치과의 *S. aureus* 분포 및 MRSA 또는 VRSA의 존재여부를 조사하여 MRSA와 VRSA의 확산예방을 위한 치과진료 환경의 개선과 적절한 항생제 사용에 대한 기초 자료를 제공할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 신성희, 장정수, 임용. 최근 광주지역에서 분리된 황색포도상구균의 항생제 내성. *조선의대논문집* 25:52-60, 2000.
2. 김은숙, 문상은, 김강주, 유용옥, 정수진, 김신무, 문영희. 병원과 그 외부환경에서 분리된 포도상구균의 항균제 감수성과 카드름 저항성 비교. *생명공학연구소보* 3:61-67, 1995.
3. 임춘희, 최광주, 김보경, 이미성, 김강주. 치과진료실 환경에서 세균의 분리 및 소독제에 대한 감수성 검사. *원광치의학* 8:103-110, 1998.
4. 문상은, 이동근, 권경환, 김강주. 치과진료실에서 황색포도상구균의 감염유형 분석. *대한약안면성형재건외과학회지* 25:25-32, 2003.
5. Hubar JS, Pelon W. Low-cost screening for microbial contaminants in aerosols generated in a dental office. *Gen Dent* 53(4):270-272, 2005.
6. 김강주. 치과영역 포도상구균의 분포 및 항생제 내성. *대한치과 의사협회지* 2:110-118, 1996.
7. 김홍빈, 신동현, 박경운, 오명돈, 김의중, 최강원. 지역사회 성인의 전비공에서 분리된 황색포도상구균의 메티실린 내성을. *감염* 30:527-531, 1998.
8. 김홍빈, 오명돈. 반코마이신 내성 황색포도상구균. *감염* 33:62-70, 2001.
9. 박성언, 김종배. 국내에서 분리된 포도상구균의 Vancomycin 내성빈도 및 특성. *대한의생명과학회지* 6:201-208, 2000.
10. Martineau F, Picard FJ, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 36:618-623, 1998.
11. 정경혜. 지역사회병원에서의 황색포도상구균혈증에 대한 임상적 고찰. *감염* 29:39-47, 1997.
12. Murray PR, Jorgensen JH. Quantitative susceptibility test methods in major United States medical centers. *Antimicrob Agents Chemother* 20:66-70, 1981.
13. Cuny C, Witte W. PCR for identification of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains using a single primer pair specific for SCCmec elements and

- neighbouring chromosome-borne orfX. *Clin Microbiol Infect* 11(10):834-837, 2005.
14. Sang-Eun Moon, Eun-Sook Kim, Yong-Ouk You and Kang-Ju Kim. Distribution and Characterization of *Staphylococci* in Hospital. *J Oral Biol* 21:89-93, 1996.
 15. Birgit Strommenger, Christiane Kettlitz, Guido Werner, and Wolfgang Witte. Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detection of Nine Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 41(9):4089-4094, 2003.
 16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Suscetibility Testing: Fifteenth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/NCCLS antimicrobial susceptibility testing standards M2-A8 and M7-A6 Wayne, Pa, 25(No.1): p110-14, 2005.

국문초록

치과병원 진료실 내에서 메티실린 또는 반코마이신 저항성 *Staphylococcus aureus*의 검출

민정희¹ · 박순녕^{2,4} · 황호길^{1,3,4} · 민정범^{1,3} · 김화숙⁵ · 국중기^{2,3,4*}

조선대학교 치과대학 ¹보존학교실, ²구강생화학교실, ³구강생물학연구소,
⁴2단계 BK21 첨단치과의료연구인력양성사업단, ⁵전남과학대학 치위생과

본 연구는 조선대학교 치과병원의 진료환경 및 진료요원으로부터 기회감염성 병원체로 알려진 methicillin 또는 vancomycin 저항성 황색포도상 구균 (methicillin- or vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA or VRSA)의 존재 여부를 조사하여, 이를 광주지역 개원치과와 비교분석을 통해 현재 조선대학교 치과병원의 MRSA와 VRSA의 오염정도를 파악하고자 하였다. 이를 위해 진료실 환경 및 진료요원으로부터 분리한 *S. aureus* 균주들의 8종 항생제에 대한 감수성 조사를 시행하고, 기존에 알려진 항생제 내성 유전자 존재 여부를 PCR법을 이용하여 확인하였다. 그 결과, 조선대학교 치과병원의 진료요원에서 채취한 샘플 중 1개 (2.3%), 개원 치과에서는 2명 (10%)의 진료요원의 샘플에서 *S. aureus*가 분리되었으며, 진료환경에서는 두 곳 모두에서 *S. aureus*가 검출되지 않았다. 조선대학교 치과병원과 개원치과에서 분리된 *S. aureus*는 amoxicillin, penicillin G, ciprofloxacin, clindamycin, vancomycin에 내성을 보이며, oxacillin, cefuroxime에는 균주에 따라 감수성 또는 내성을 보였다. 조선대학교 치과병원에서 분리된 *S. aureus*는 erythromycin과 clindamycin에 내성 유전자인 *ermA*가 존재 하였으며, 개원치과에서 분리된 3개의 *S. aureus* 중 2개에서 penicillin과 oxacillin에 내성 유전자 *mecA*가 존재하는 것으로 나타났다. Vancomycin 내성 유전자인 *vanA*, *vanB*는 어떠한 샘플에서도 검출되지 않았다. 이상의 결과를 종합할 때, 본 연구는 조선대학교 치과병원과 개원치과의 *S. aureus* 분포 및 MRSA 또는 VRSA의 존재여부를 조사하여 MRSA와 VRSA의 확산예방을 위한 치과진료 환경의 개선과 적절한 항생제 사용에 대한 기초 자료를 제공할 것으로 사료된다.

주요어: 메티실린 또는 반코마이신 저항성 황색포도상 구균, 최소성장억제농도, 중합효소연쇄반응