

## 인천지역에서 분리된 황색포도상구균의 분자생물학적 특성 분석

오보영 · 김정희\* · 공용우 · 이제만 · 고종명 · 김용희

인천광역시 보건환경연구원 질병조사과

황색포도상구균은 주요한 기회 감염균으로, 최근 여러 가지 항생제에 내성을 지닌 메치실린 내성 황색포도상구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)이 늘어나 문제가 되고 있다. 이에 본 연구에서는 인천지역 관내 설사환자에서 분리한 장독소 양성인 *S. aureus*를 대상으로 항생제 감수성시험 및 PCR을 이용한 *tsst*, *eta*, *etb*, *mecA* 유전자 검사를 실시하여 생물학적인 특성을 조사하였고, *tsst* 양성인 MRSA를 대상으로 Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE)에 의한 유전자형을 분석함으로써 경시적인 분자역학적 특성을 파악하고자 하였다. 그 결과 2,281건의 대변에서 173주의 장독소 양성인 *S. aureus*를 분리하였으며 A독소와 C독소가 각각 39%, 58%를 차지하는 것으로 나타났다. 항생제 감수성 결과 장독소 양성주는 모두 MRSA였으며, 이중 51%가 *tsst* 양성인 것으로 나타났고 *eta*, *etb* 유전자는 검출되지 않았다. *mecA* 내성유전자는 MRSA 균주의 97%가 양성으로 나타났다. *tsst* 양성인 MRSA 88주를 대상으로 PFGE한 결과, 10개의 유형으로 나뉘었으며 그중 A형, H형 및 F형이 각각 58%, 10%, 9%로 주요한 형으로 나타났다.

**Key words** □ antimicrobial resistance, MRSA, *mecA*, PFGE, *tsst*

*Staphylococcus aureus* (황색포도상구균)은 화농성 감염증의 원인 균으로서 인체의 부스럼, 종창 등 흔한 피부감염성 질환에서부터, 식중독, 패혈증, 수막염, 골수염, 급성 화농성 관절염, 폐렴, 피부열상 및 독소 쇼크 증후군 등 심각한 병증을 야기시키는 그람양성 구균이다. 이들은 숙주의 면역작용을 방해하며 동정의 중요한 지표가 되는 내열성의 coagulase, exotoxin인 hemolysin (용혈독소), 식중독의 원인이 되는 enterotoxin (장관독소), toxic shock syndrome을 일으키는 toxic shock syndrome toxin (*tsst*), 백혈구를 파괴하는 leukocidin 및 피부박탈효소인 exfoliative toxin A와 B (*eta*, *etb*) 등을 독소인자로 지니고 있는 것으로 알려져 있다(8).

황색포도상구균은 병원 및 지역사회에서 흔히 감염을 일으키는 원인균으로, 근래에는 여러 가지 항생제에 내성을 지닌 methicillin 내성 황색포도상구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)이 늘어나 문제가 되고 있다.

MRSA는 주로 *mecA* 유전자에 의해 생성된 변형 페니실린 결합 단백질(penicillin binding protein, PBP 2a)으로 인해 penicillin, cephalosporin, carbapenem 등 모든  $\beta$ -lactam제에 내성을 일으키며, macrolide, clindamycin, tetracycline, aminoglycoside 등 다른 계열의 항균제에도 내성을 보이는 다약제 내성균으로 MRSA에 의한 감염은 치료가 어렵고 입원기간을 연장시키며 의료비용을 높이고 치명적인 뿐 아니라 일단 토착화 된 후에는 근절하기 매우 어렵기 때문에 MRSA에 의한 감염은 심각한 역학적 문제를 야

기하고 있다(5).

이에 본 연구에서는 2007년 인천지역 관내 설사환자에서 분리한 장독소양성인 *S. aureus*를 대상으로 항생제 감수성시험 및 PCR을 이용한 *tsst*, *eta*, *etb*, *mecA* 유전자 검사를 실시하여 생물학적인 특성을 조사하였고, *tsst* 양성인 MRSA를 대상으로 PFGE에 의한 유전자형을 분석함으로써 경시적인 분자역학적 특성을 파악하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 대상균주

2007년 1월부터 11월까지 인천광역시 지역의 병원에 내원한 설사환자의 대변 2,281건을 수거하여 분리한 609주의 황색포도상구균을 대상으로 하였다.

#### 장독소 확인시험

분리된 황색포도상구균에 대한 장독소확인시험은 SET-RPLA(reverse passive latex agglutination kit, Denka Seiken, Japan)를 사용하였다. 분리된 균을 Tryptic soy broth (Difco, USA)에 접종하여 37°C에서 18~20시간 진탕배양한 후 배양액을 810×g, 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여 시험에 사용하였다. 상등액을 25  $\mu$ l씩 microplate 5열에 넣고, 각 열에 각각 latex A, B, C, D 및 대조 latex 25  $\mu$ l씩을 첨가하고 실온에서 18~20시간 정지한 후, 응집형태를 육안으로 관찰하여 독소형을 확인하였다.

#### 항생제감수성 시험

장독소를 가진 황색포도상구균 173주를 대상으로 National

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-32-440-5438, Fax: 82-32-440-5491  
E-mail: sheen97@incheon.go.kr

Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에 근거한 디스크 확산법을 실시하였고 MIC를 측정하였다. 본 시험에 사용한 항생제 디스크는 15종으로 모두 BBL사의 Ampicillin (AM, 10 µg), Cefepime (FEP, 30 µg), Cefotetan (CTT, 30 µg), Ciprofloxacin (CIP, 5 µg), Chloramphenicol (C, 30 µg), Clindamycin (CC, 2 µg), Erythromycin (E, 15 µg), Gentamycin (GM, 10 µg), Imipenem (IPM, 10 µg), Oxacillin (OX, 1 µg), Penicillin (P, 10 µg), Rifamfin (RA, 5 µg), Tetracycline (TE, 30 µg), Sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT, 1.25/23.75 µg) 및 Vancomycin (VA, 30 µg)을 사용하였으며, 정도관리 균주로 *S. aureus* ATCC 25923을 사용하였다. 디스크 확산법에서 oxacillin에 내성을 보이는 균주의 경우 액체배지 희석법을 실시하여 MIC를 측정하였다.

### PCR 검사

NCCLS의 표준디스크 시험법으로 선별한 oxacillin 내성주 173종에 대하여 독소성 쇼크증후군 독소유전자(*tsst*)와 표피박탈 독소유전자(*eta*, *etb*) 및 *mecA* 내성유전자 유무를 확인하였다. 본 실험에 사용한 primer는 *tsst*-F; AAGCCCTTTGTGCTTGCG, *tsst*-R; ATCGAACTTTGGCCATACCTT, *eta*-F; CTAGTGCATT TGTATTCAAGACG, *eta*-R; TGCATTGACACCATAGTACTTA TTC, *etb*-F; ACGGCTATATACATTCAATTCAATG, *etb*-R; AAAGTTATTCAATTAATGCACTGTCTC, *mecA*-F; CTCAGGT ACTGCTATCCACC, *mecA*-R; CACTTGGTATATCTTCACC와 같고 PCR 반응조건은 독소유전자의 경우 95°C에서 5분간 변성하고, 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 30초씩 28회 반복한 후 72°C에서 7분간 반응하였으며, 내성유전자의 경우 95°C에서 2분간 변성하고 95°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 1분씩 28회 반복한 후 72°C에서 5분간 반응하였다.

### PFGE

본 연구에서 *tsst* 양성인 MRSA주 88주를 대상으로 PFGE 실험하기까지 일련의 과정은 Fig. 1과 같다. 시험균주를 TSA 배지에 접종하여 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 2 ml의 cell suspension TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7.5)에 Biomerieux Vitek colorimeter를 사용하여 15~17% 탁도로 균체

를 현탁하였다. 현탁액 200 µl에 lysostaphin (2 mg/ml) 1 µl, lysozyme (20 mg/ml) 1 µl를 넣은 후 37°C에서 10분간 반응시킨 후 proteinase K (20 mg/ml) 5 µl를 첨가하고, 미리 준비해 둔 1.2% plug agarose (Seakem Gold agarose, FMC Bio Product, USA) 200 µl와 혼합하여 plug mold (BIO-RAD, USA)에 넣고 굳혔다. 제조한 plug는 plug wash TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7.5) 1.5 ml에 넣은 후 40 µl의 Proteinase K (20 mg/ml)를 첨가하여 55°C에서 1시간 30분 동안 반응시켰고, 반응이 종료된 plug는 멸균증류수로 1회, plug wash TE buffer로 4회 세척한 후 4°C에 보관하였다. 각 plug는 세척한 후 제한효소 완충용액(NEB, England) 10 µl, 제한효소 *Sma*I (NEB, England), 2 µl (40 unit), 100× BSA (NEB, England) 1 µl, 멸균증류수 87 µl를 넣고 25°C에서 4시간 동안 반응시켰고, marker로 사용한 *S. braenderup* ATCC BAA-664는 제한효소 *Xba*I (NEB, England) 2 µl (40 unit)를 넣어 처리하였다. 제한효소 반응이 끝나면 CHEF II Mapper PFGE system (BIO-RAD, USA)을 이용하여 gradient 6.0 V/cm, angle 120°, initial time 5.16초, final time 40.17초 조건에서 14°C에서 17시간 전기영동하였으며, EtBr (0.5 µg/ml)로 염색하였다. PFGE 결과는 BioNumeric software (Applied Math)를 이용하여 균주간의 유연관계를 비교분석하였다.

## 결과 및 고찰

### RPLA에 의한 장독소 유형

황색포도상구균으로 확인 동정된 609주를 대상으로 latex agglutination kit을 사용하여 장독소 생성을 확인한 결과 A독소가 68주, C독소가 100주, D독소 1주, A·B 복합독소 1주, A·C 복합독소 1주, A·D 복합독소 1주 및 B·D 복합독소 1주가 분리되었으며 비독소는 436주인 것으로 나타났다.

### 항생제감수성 결과

장독소 양성인 173주의 항생제 내성을 측정한 결과 ampicillin, oxacillin에 대해 100% 내성을 지닌 것으로 나타났으며 penicillin, cefepime, cefotetan, tetracycline에 대한 내성률은 각각 99.42%, 94.80%, 89.60%, 83.24%였다(Fig. 2). 다제 내성률을 살펴보면

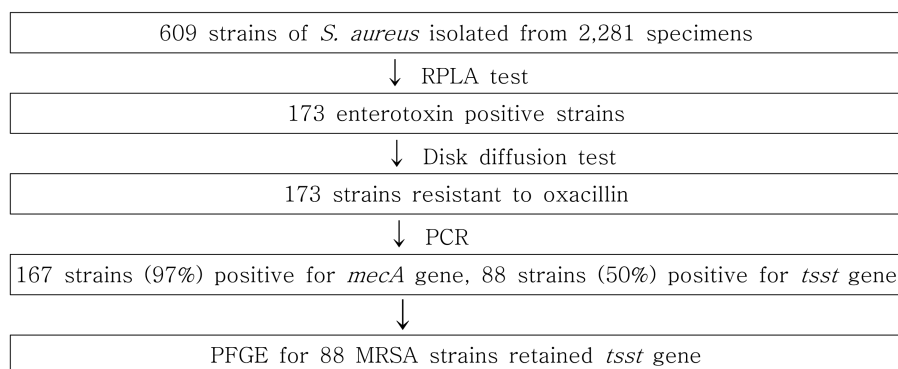
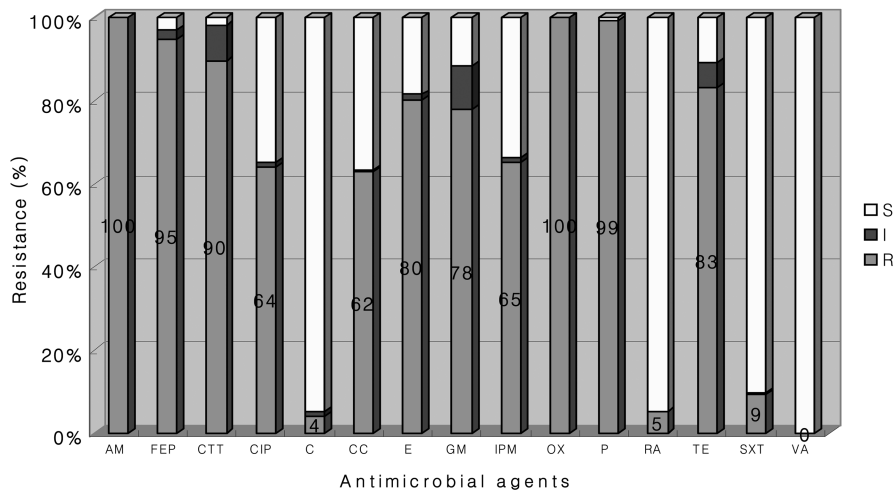


Fig. 1. Scheme of PFGE procedure in this study



**Fig. 2.** Antibiotic resistance patterns of the isolates. Susceptibility tests against antibiotics were performed by disc diffusion method. S, susceptible; I, intermediate; R, resistant.

Abbreviations: AM, Ampicillin; FEP, Cefepime; CTT, Cefotetan; CIP, Ciprofloxacin; C, Chloramphenicol; CC, Clindamycin; E, Erythromycin; GM, Gentamycin; IPM, Imipenem; OX, Oxacillin; P, Penicillin; RA, Rifamfin; TE, Tetracycline; SXT, Sulfamethoxazole/trimethoprim; VA, Vancomycin.

최소 3개에서 최고 13개 항생제에 내성을 보였으며 Ampicillin, Cefepime, Cefotetan, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamycin, Imipenem, Oxacillin, Penicillin, Tetracycline에 내성을 보이는 패턴이 36.41% (63주)로 우점형으로 나타났다. 디스크 확산법에서 173주 모두 oxacillin에 대한 억제직경이 10 mm 이하였으며, MIC를 측정된 결과 4 µg/ml 이상으로 나타나 MRSA로 판정되었다.

#### Methicillin 내성유전자 및 독소유전자 검사

Disk diffusion test에서 oxacillin 내성균주로 선별된 173주의 PCR 검사결과 *mecA* 내성유전자는 전체 균주의 96.53%인 167주, *tsst* 독소유전자는 88주 (50.86%)가 양성인 것으로 나타났으며, *eta*, *etb* 유전자는 모두 음성이었다. *tsst* 양성 88주는 모두 *mecA* 유전자를 지니고 있었으며, 1주 (A독소)를 제외한 나머지 87주가 C독소를 지닌 것으로 나타났다.

#### PFGE에 의한 DNA 분석

*tsst* 독소유전자를 지닌 MRSA를 대상으로 PFGE 시험을 실시한 결과 93%의 상동성을 기준으로 총 88주가 10개의 형으로 분류되었으며 24개의 pulsotype으로 세분화되었다(Table 1). 전체 밴드 size는 30~700 kb이며 각 균주의 fragment 수는 11~14개로 확인되었다. PFGE subtype을 분석한 결과 A형(51주)에서는 7개의 pulsotype A1-A7으로, B형(3주)은 B1-B2, D형(3주)은 D1-D2, E형(4주)은 E1-E2, F형(8주)은 F1-F2, G형(2주)은 G1-G2, H형(9주)은 H1-H2, I형(5주)은 I1-I3으로 분류되었으며 C형(2주)과 J형(1주)은 한가지 유형으로만 나타났다. PFGE 양상은 A형이 51주(57.95%)로 가장 높은 빈도를 보였으며 H형이 9주(10.22%), F형이 8주(9.09%)의 순으로 나타나 주요 유형 균주로 확인되었다.

**Table 1.** PFGE patterns using restriction enzyme *SmaI* of *tsst* positive *S. aureus* isolates

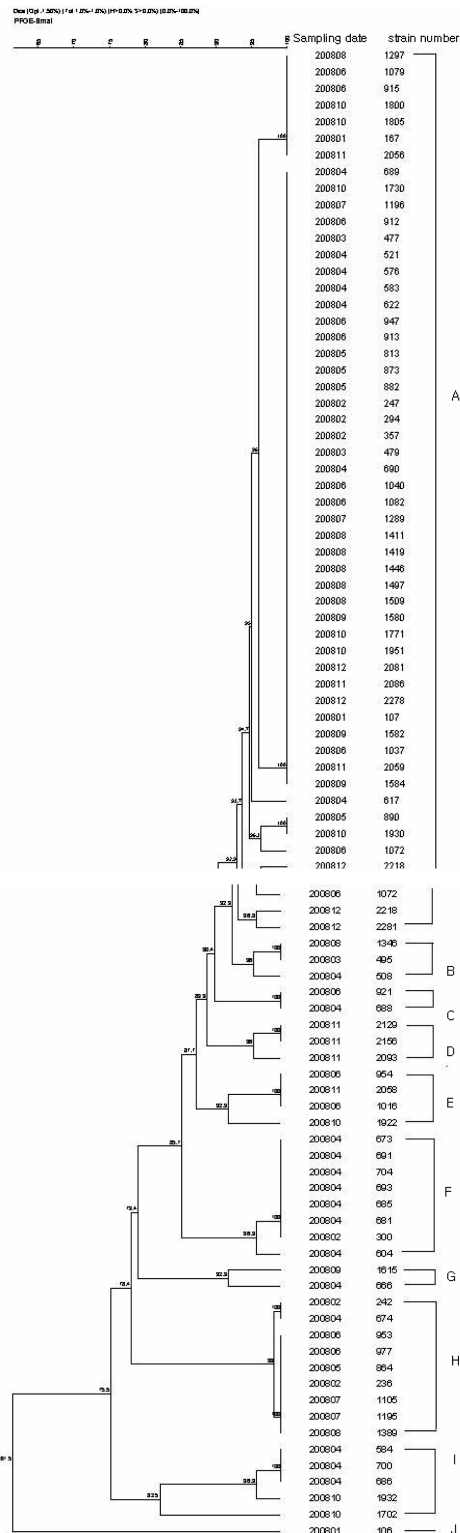
PFGE patterns <sup>a</sup>	Subtype (No. of isolates)	Total isolates no. (%)
A	A1(7), A2(38), A3(1), A4(2), A5(1), A6(1), A7(1)	51 (57.95%)
B	B1(2), B2(1)	3 (3.41%)
C	C(2)	2 (2.27%)
D	D1(2), D2(1)	3 (3.41%)
E	E1(3), E2(1)	4 (4.55%)
F	F1(7), F2(1)	8 (9.09%)
G	G1(1), G2(1)	2 (2.27%)
H	H1(2), H2(7)	9 (10.23%)
I	I1(3), I2(1), I3(1)	5 (5.68%)
J	J(1)	1 (1.14%)

<sup>a</sup> A to J are PFGE profiles and A1 to I3 are subtype profiles.

그 중 subtype A2 (38주)와 H2 (7주), F1 (7주)이 가장 많은 분리주수를 나타내어 우점형이었으며 A1-A7 pulsotype은 93.7% 이상, F1-F2는 96.3% 이상, H1-H2는 99% 이상의 similarity coefficient를 보였다(Fig. 3).

## 고 찰

Methicillin 내성균주는 Jevons (13)에 의해 영국에서 처음 보고된 이래 많은 연구가 이루어져 왔으며, 스페인, 프랑스, 이탈리아 등지에서는 30% 이상(16, 14, 19)으로 그리스에서는 43% 정도



**Fig. 3.** Unweighted pair group method with average dendrogram of PFGE results based on the Dice matrix and schematic representation of the type (*Sma*I restriction enzyme) of *tsst* positive MRSA isolates.

가 methicillin 내성균주로 보고되었다(19). 미국에서도 1970년 후반에 종합병원에서 원내감염을 일으키는 중요한 균종이 되었으

며, 2003년 병원 내에서 분리되는 황색포도상구균 중 methicillin 내성인 것은 59.5%에 달한다고 보고하였다(11). 우리나라에서도 1960년대에는 MRSA가 거의 분리되지 않았으나, 1970년대에 임상검체에서 분리된 황색포도상구균 중 methicillin 내성 황색포도상구균은 10% 미만이었으며, 1980년대에는 급격히 상승하여 23~48%로 보고되었고, 1998년에는 60~70%로 보고되었다(2, 4, 6). 일본에서도 병원 내 감염이 되고 있는 황색포도상구균 중 MRSA가 50~70% 정도가 분리되었다고 보고하고 있다(23). 본 연구에서 설사환자 2,281명의 대변에서 황색포도상구균 609주를 분리하여 26.69%의 검출율을 보였고 장독소가 있는 173주 모두 MRSA 표현형을 지닌 것으로 나타났다. 그러나 본 연구에서는 비독소 황색포도상구균에 대한 항생제 내성검사가 이루어지지 않아 MRSA가 전체 분리된 황색포도상구균에서 차지하는 비율은 언급할 수 없는 한계가 있었다.

Methicillin에 대한 내성은 복잡하여 완전히 규명되지 못하고 있으나  $\beta$ -lactamase의 과잉생산(17), 주로 염색체내에 위치하는 *mecA* 유전자의 발현(20, 21), PBP형의 변화(22)에 의한 것으로 알려져 있다. *mecA* 유전자는 78 kDa인 penicillin 결합 단백질 (penicillin binding protein 2a; PBP2a)을 코딩하는데 이들 단백질은  $\beta$ -lactam 항생제에 대한 낮은 친화성을 지니고 있으므로 다른 PBP들을 비활성화할 정도의 약물농도에서 세포벽 형성이 가능하도록 함으로써 세균으로 하여금 methicillin에 대한 내성을 나타내게 하는 것으로 알려지고 있다(9). 본 연구에서 6균주는 disk diffusion method에 의한 약제 감수성 검사에서 methicillin 내성으로 나타났으나, PCR 방법에서는 *mecA* gene이 검출되지 않아 PBP gene 변이나  $\beta$ -lactamase 과잉생산으로 인한 borderline균으로 보인다. *mecA* 음성을 보이면서 methicillin 내성의 표현형을 보이는 경우는 국내외적으로 몇몇 경우에서 보고된 바 있었는데 1998년 이해경 등(6)의 연구에서는 MRSA의 42.2%에서 *mecA* 음성을 보고하면서 그 원인이 균주의 냉동, 저장의 과정에서 *mecA* 유전자가 저절로 소실되었을 것으로 추측하였으며 1992년 Hiramatsu 등(12)은 *mecA* 음성이면서 MIC는 12.5  $\mu$ g/ml인 MRSA 균주를 보고하면서 PBP1이나 PBP3의 페니실린 결합능이 감소되었거나 PBP4나 베타락탐 분해효소의 과량생산에 의해 내성이 발현되기 때문이라고 하였다.

임상에서 분리되는 황색포도상구균은 다양한 세포의 독소와 병독성 인자를 생성하여 병원성을 일으키는 원인이 되고 있다. 황색포도상구균이 생성하는 장독소(enterotoxin)들은 식중독의 원인이며, 구토, 설사와 함께 급성위장염을 일으키게 된다. 본 연구에서 609주의 포도상구균을 대상으로 SET-RPLA 실험결과 SEC가 전체의 28.4%로 우점하였고 두 번째로 SEA가 11.16% (68주)를 차지하고 있는 것으로 나타났다. 박 등(3)은 부산지역에서 설사환자에서 황색포도상구균을 분리하였는데 A독소가 37.5%로 가장 많이 검출되었으며 그 뒤로 B와 C가 각각 4.7%와 3.1%를 차지했다고 보고한 바 있다. 독소 형은 지역에 따라 분포가 다양할 것으로 생각된다.

Todd 등(18)은 발열, 발진, 혈압강하 및 장기에 장애를 일으키는 포도상구균성 독소쇼크 증상을 보고하였으며, 생리대를 통한

**Table 2.** Comparison of antimicrobial resistance and PFGE patterns for *tsst* positive *S. aureus* isolates

No. of anti-microbial agents	Resistant patterns	No. of isolates (%)	PFGE patterns
13	AM, FEP, CTT, CIP, C, CC, E, GM, IPM, OX, P, RA, TE	1 (1.14)	A(1)
12	AM, FEP, CTT, CIP, C, CC, E, GM, IPM, OX, P, TE	3 (3.41)	A(1), B(1), I(1)
	AM, FEP, CTT, CIP, C, CC, GM, IPM, OX, P, RA, TE	1 (1.14)	A(1)
	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, GM, IPM, OX, P, RA, TE	7 (7.95)	F(7)
	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, GM, IPM, OX, P, TE, SXT	1 (1.14)	J(1)
11	AM, FEP, CTT, CIP, C, E, GM, IPM, OX, P, TE	1 (1.14)	A(1)
	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, GM, IPM, OX, P, TE	56 (63.64)	A(38), B(2), C(1), D(3), F(1), G(1), H(6), I(4)
10	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, GM, IPM, OX, P	9 (10.23)	A(3), C(1), E(2), G(1), H(2)
	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, GM, OX, P, TE	1 (1.14)	E(1)
	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, IPM, OX, P, TE	3 (3.41)	A(1), E(1), H(1)
	AM, FEP, CTT, CIP, E, GM, IPM, OX, P, TE	1 (1.14)	A(1)
9	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, GM, OX, TE	1 (1.14)	A(1)
	AM, FEP, CTT, CIP, CC, E, IPM, OX, P	2 (2.27)	A(2)
8	AM, FEP, CTT, CIP, IPM, OX, P, TE	1 (1.14)	A(1)
Total		88 (100)	

Abbreviations: AM, Ampicillin; FEP, Cefepime; CTT, Cefotetan; CIP, Ciprofloxacin; C, Chloramphenicol; CC, Clindamycin; E, Erythromycin; GM, Gentamycin; IPM, Imipenem; OX, Oxacillin; P, Penicillin; RA, Rifamfin; TE, Tetracycline; SXT, Sulfamethoxazole/trimethoprim; VA, Vancomycin;

여성 생식기감염과 관련이 있는 것으로 알려졌다. 이러한 독소 쇼크증후군(toxin shock syndrome)은 최근에는 남성뿐 아니라 어린이, 노인에게서도 분리되고 있다(15). *tsst* 생성균주는 다른 황색포도상구균에 비해 중금속과 항생제에 대한 내성이 높은 것으로 보고되고 있는데(18), 본 실험에서 *tsst* 양성 균주 88주와 음성 균주 85주의 항생제 감수성결과를 비교해보았을 때, 3제에서 7제까지 항생제 내성을 지니는 균주가 *tsst* 음성주의 경우 전체의 57.65% (49주)가 이 범위에 해당하였고, *tsst* 양성주는 모두 8제 이상의 약제에 대해 내성을 보였다. 또한 개별 항생제 내성 결과도 Sulfamethoxazole/trimethoprim를 제외한 모든 약제에 대해 *tsst* 양성인 균주가 음성인 균주보다 내성률이 최저 5.64%에서 최고 72.94% 높았다. *tsst* 양성주는 Ciprofloxacin, Clindamycin, Imipenem에 대한 내성률이 100%, 96.59%, 97.73%인데 비해, 음성주는 각각 27.06%, 27.06%, 31.76%로 내성률이 낮았다(자료 미제시).

본 실험에서는 *tsst* 생성 MRSA균 88주를 이용하여 PFGE를 실시하였고, UPGAMA법을 이용하여 dendrogram을 얻었다. 그 결과 93% 상동성을 기준으로 모두 10가지(A-J형) 분자유형과 24가지 subtype으로 세분화되었으며 A형이 총 51주로 가장 우위로 나타났다. 88주중 1주만이 A독소였는데 J형으로 분류되었으며, 우점형인 A 그룹과 61.5%의 유전적 연관성이 있었다.

Olmos 등(16)은 96주의 MRSA를 PFGE한 결과 6 pattern (A~F)으로 분류하였으며 82주(88%)가 A pattern에 속하였고 67%에서 유사성을 나타냈다고 보고하였다. Chiou 등(10)은 식중

독 환자에서 분리된 71주의 황색포도상구균을 PFGE를 실시하여 22 type으로 분류하였다. 이 등(5)은 1991~1998년까지 104주의 MRSA를 대상으로 연도별, 검체별, 분리장소별 PFGE형을 비교, 원인에 2가지 주요한 type이 토착화 되고 있음을 보고한 바 있으며, 김 등(1)은 6개월간 106주를 대상으로 다제내성 유형별, 검체별로 PFGE형을 비교한 바 있다. 그러나 본 연구에서 1년이라는 비교적 단시간 동안에 인천지역 관내 병원에 내원한 환자들의 대변을 대상으로 실험을 실시한 바, 검체별 비교는 불가능하였고 분리월별, 장독소 유형별 비교에서 유의성이 없었다. 단 다제내성 패턴과 PFGE형을 비교한 결과 Ampicillin, Cefepime, Cefotetan, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamycin, Imipenem, Oxacillin, Penicillin, Rifamfin, Tetracycline에 내성을 보이는 균주의 경우 모두 F형이었으나 균주 수가 적은(7주) 관계로 유전적 연관성이 있다고 할 수 없었다(Table 2). 앞으로 저자는 장기간에 걸친 데이터를 축적하여 년도 별 추이 및 생물학적 특성에 따른 PFGE형을 비교할 필요가 있으며, 이것을 토대로 지역 내 질병발생시 역학의 기초 자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. 김영재, 전동석, 김재룡. 2001. Pulsed-Field Gel Electrophoresis를 이용한 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*의 분자역학적 분석. 대한임상병리학회지 21, 122-128.

2. 박숙자, 정윤섭, 이삼열. 1977. 임상검사에서 분리된 균주의 항생제 감수성. *대한병리학회지* 11, 119-125.
3. 박은희, 민상기, 이주현, 박연경, 정구영, 빈재훈. 2005. 설사환자에서 분리된 *Staphylococcus aureus*의 특성. *생명과학회지* 15, 647-651.
4. 이미경, 최영숙, 정윤섭, 이삼열. 1987. Methicillin 내성 포도상 구균의 분리율과 그 검출을 위한 감수성 검사방법의 비교. *대한임상병리학회지* 7, 265-273.
5. 이진수, 박옥, 손장욱, 우홍정, 정희진, 김우주, 김민자, 박승철. 일개 대학병원에서 분리된 MRSA의 경시적 분자역학적 연구. *대한감염학회지* 33, 32-40.
6. 이혜경, 이은정, 박연준, 김병기, 강문원, 심상인. 1998. 포도구균의 메티실린 내성 정도와 내성 관련 유전자 *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *femA*와의 연관성. *대한감염학회지* 30, 36-44.
7. 정윤섭. 1991. 항균제 내성의 최근 동향. *대한화학요법학회지* 9, 5-11.
8. 정혜진, 조준일, 송은섭, 김진주, 김근성. 2005. Methicillin 내성 *S. aureus* 임상분리균주의 Coagulase와 주요 독소 유전자의 PCR 검출. *한국미생물·생명공학회지* 33, 207-214.
9. Chambers, H.F. 1997. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implication. *Clin. Microbiol. Rev.* 10, 781-791.
10. Chiou, C-S., W. Hsiao-Lun, and Y. Li-Chu. 2000. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and coagulase gene restriction profile analysis techniques in the molecular typing of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2186-2190.
11. Debra, A.G. and M.J. Dowzicky. 2007. Prevalence and regional variation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the USA and comparative in vitro activity of tigecycline, a glycylcycline antimicrobial. *J. Med. Microbiol.* 56, 1189-1195.
12. Hiramatsu, K., H. Kihara, and T. Yokota. 1992. Analysis of borderline-resistant strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using polymerase chain reaction. *Microbiol. Immunol.* 36, 445-453.
13. Jevons, M.P. 1961. "Celbenin"-resistant Staphylococci. *Br. Med. J.* 1, 142.
14. Linnemann, Jr., C.C., P. Moore, J.L. Staneck, and M.A. Pfaller. 1991. Reemergence of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a general hospital associated with changing Staphylococcal strains. *Am. J. Med.* 91, 238-244.
15. Musser, J.M., P.M. Schlievert, A.W. Chow, P. Ewan, R.N. Kresiswirth, V.T. Rosdahl, A.S. Naidu, W. Witte, and R.K. Selander. 1990. A single clone of *Staphylococcus aureus* cause the majority of cases of toxic shock syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 225-229.
16. Olmos, A., J.J. Camarena, J.M. Nogueira, J.C. Navarro, J. Risen, and R. Sanchez. 1998. Application of an optimized and highly discriminatory method based on Arbitrarily Primed PCR for epidemiologic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial infections. *J. Clin. Microbiol.* 36, 1128-1134.
17. Sabath, L.D. 1982. Mechanism of resistance to beta-lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.* 97, 339-344.
18. Todd, J., M. Fishaut, F. Kapral, and T. Welch. 1978. Toxic-shock syndrome associated with phage-group-1 Staphylococci. *Lancet* 2, 1116-1118.
19. Tsakris, A., J. Douboyas, and K. Kyriakis. 1996. Multidrug resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Greece. *J. Chemother.* 8, 251-253.
20. Ubukata, K., R. Nonoguchi, M. Matsuhashi, and M. Konno. 1989. Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of *mecA* gene, which encodes methicillin resistant *S. aureus*-specific penicillin-binding protein. *J. Bacteriol.* 171, 2882-2885.
21. Wada, A., T. Karayama, K. Hiramatsu, and T. Yokota. 1991. Southern hybridization analysis of the *mecA* detection from methicillin resistant *S. aureus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 176, 1319-1325.
22. Wyke, A.W., J.B. Ward, M.V. Hayes, and N.A.C. Curtis. 1981. A role in vivo for penicillin-binding protein-4 of *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Biochem.* 119, 389-393.
23. Yoshichika, A., I. Yasuyoshi, N. Mitsuaki, S. Naohiro, D. Yohei, S. Keigo, Y. Tetsuya, and K. Takeshi. 2000. Trends in antimicrobial-drug resistance in Japan. *Emerg. Inf. Dis.* 6, 572-575.

(Received December 3, 2008/Accepted December 19, 2008)

# ABSTRACT : Molecular Characterization of Clinically Isolated *Staphylococcus aureus*

Bo-Young Oh, Jung-Hee Kim\*, Young-Woo Gong, Jae-Mann Lee, Jong-Myoung Go, and Yong-Hee Kim (Incheon Institute of Health and Environment, Incheon 400-102, Republic of Korea)

*Staphylococcus aureus* is one of the most significant pathogens and a causative agents of nosocomial infections. The emergence of methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), in particular, has become a major clinical and epidemiological problems worldwide. In this study, we analyzed the toxin genes and investigated molecular epidemiological characteristics of *S. aureus* isolated from stools of diarrheal patients at the hospitals in Incheon. Of the 609 strains from 2,281 specimens, 173 strains retained enterotoxin; 68 isolates (39.30%), 100 isolates (57.80%) were classified to A and C type, respectively. In the antibiotic susceptibility, all of enterotoxin positive isolates were resistant to oxacillin. Eighty eight strains (50.86%) of 173 MRSA isolate possessed *tsst* gene, but *eta* and *eth* genes were not detected at all. In the detection of MRSA associated genes by PCR method, *mecA* genes were detected in 167 strains (96.53%). From the result of PFGE analysis, we classified *tsst*-positive MRSA to 10 types and 24 subtypes. Type A, H and F were the major strains comprised of 57.95% (51strains), 10.22% (9 strains) and 9.09% (8 strains) respectively.