Korean Society for
Clinical Laboratory ScienceKorean Journal of
CLINICAL LABORATORY SCIENCE

ORIGINAL ARTICLE

Molecular Subtyping of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Patients' Nasal CavitySang-Ha Kim^{1,2,†}, Sung-Bae Park^{3,4,†}, Heechul Park^{3,4}, Jun Seong Kim^{3,4}, Jungho Kim³, Jiyoung Lee³, Jaewon Lim⁵, Young Kwon Kim¹, Sunghyun Kim^{3,4}¹Department of Health Sciences, The Graduate School of Konyang University, Daejeon, Korea²Department of Laboratory Medicine, Konyang University Hospital, Daejeon, Korea³Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Health Sciences, Catholic University of Pusan, Busan, Korea⁴Clinical Trial Specialist Program for In Vitro Diagnostics, Brain Busan 21 Plus Program, The Graduate School, Catholic University of Pusan, Busan, Korea⁵Department of Clinical Laboratory Science, College of Medicine and Sciences, Daegu Haany University, Kyungsan, Korea

환자의 비강으로부터 분리된 메티실린 내성 황색 포도알균의 분자 아형 분석

김상하^{1,2,†}, 박성배^{3,4,†}, 박희철^{3,4}, 김준성^{3,4}, 김정호³, 이지영³, 임재원⁵, 김영권¹, 김성현^{3,4}¹건양대학교 보건복지대학원 보건학과, ²건양대학교병원 진단검사의학과, ³부산가톨릭대학교 보건과학대학 임상병리학과, ⁴부산가톨릭대학교 일반대학원 BB21+ 사업단, ⁵대구한의대학교 의과대학 임상병리학과

ARTICLE INFO

Received April 28, 2020

Revised June 2, 2020

Accepted June 5, 2020

Key words

Infection control

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Molecular epidemiology

Nasal cavity

ABSTRACT

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a bacterium that causes infections in different parts of the body and causes skin and soft tissue infections (SSTI). The present study examined the antimicrobial resistance patterns and molecular epidemiological characteristics of MRSA isolated from nasal swabs in clinical patients. SCCmec type of MRSA isolates from clinical patients were analyzed: 24 cases were SCCmec type-II; two cases were type-II/IVa; one case was type-II/V; one case was type-IVa; 11 cases were not-typeable. The mec complex type of MRSA isolates from clinical patients were analyzed: 29 cases were mec complex type A, and 10 cases were not-typeable, but type B was not found in the present study. In conclusion, SCCmec type-II and mec complex type A were the most dominant MRSA subtypes among the MRSA isolates from a nasal swab of patients, and the results were similar to other studies on hospital-acquired MRSA (HA-MRSA). These results can not only provide basic data for hospital infection management but also be a good guideline for MRSA infections in the Republic of Korea.

Copyright © 2020 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

서론

황색포도알균(*Staphylococcus aureus*)은 병원감염 및 지역사회 감염을 일으키는 주요 원인균으로, 농양이나 창상감염 등의 피부감염, 패혈증 및 폐렴, 독소쇼크증후군 등 광범위 질환을 일으키는 것으로 알려져 있다[1, 2]. *S. aureus*는 자연계에 널리 분포하며, 환경에 대한 저항성이 강하여 생물체에 기생하

Corresponding author: Sunghyun Kim

Department of Clinical Laboratory Science, College of Health Sciences, Catholic University of Pusan, 57 Oryundae-ro, Geumjeong-gu, Busan 46252, Korea

E-mail: shkim0423@cup.ac.kr

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2511-6555>[†]The first two authors contributed equally to this work.

pISSN 1738-3544 eISSN 2288-1662

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

지 않고도 장기간 생존할 수 있는 세균이다. 건강한 사람의 피부, 점막, 상기도, 비뇨기, 소화기 등에 정상 상재균 및 주변 환경에도 존재하지만, 피부의 상처나 호흡기를 통하여 쉽게 인체에 감염될 수도 있다. 주요 집락 형성 부위는 비강(nasal cavity)이며, 비강 내 집락화된 *S. aureus*는 비말을 통하여 비강에서부터 인체의 다른 부위로 이동 및 정착하는 것으로 알려져 있다. 특히 포도알균 속(genus)의 다양한 종(species) 가운데 황색포도알균(황색포도구균, *S. aureus*)은 세균 중 가장 병독성(virulence)이 높은 것으로 알려져 다양하고 심각한 질병을 흔히 일으키기 때문에 의학적으로 가장 중요하다. *Staphylococcus* 속에 속하는 *S. aureus*는 건강인의 약 30~60%가 이 세균을 보유하고 있으며, 그 중 10~35%에서 비강 입구부위(anterior nares)에 장기간 집락화 될 수 있는 가능성을 지니고 있다[3, 4]. 신체의 여러 부위에 존재하며, 과거에는 오염균으로 간주되었던 혈장 응고효소 음성 포도알균(coagulase negative *Staphylococci*, CoNS)도 최근에는 면역력이 억제되거나 저하된 환자에서 기회감염균으로써 다양한 감염의 원인이 됨에 따라 임상적 중요성이 부각되고 있다.

1960년대 초, 영국에서 *S. aureus* 감염 치료에 광범위하게 사용되던 항생제인 메티실린에 내성을 가지는 메티실린 내성 황색 포도알균(methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)의 출현이 알려지면서, 1970년 후반에 이르러서는 병원 내 감염을 일으키는 중요한 세균으로 인식되기 시작하였고, 다제내성 MRSA 분리율의 증가는 사회적으로 심각한 보건 문제로 인식되고 있다[5, 6].

고전적인 MRSA는 주로 병원에서 감염되어 β -lactam계 이외의 항생제에 대해서 감수성을 나타내는 경우가 많은 것으로 알려져 왔으나, 최근에는 β -lactam계 항생제 이외의 ciprofloxacin, clindamycin, gentamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등에 대해서 다제내성을 보이는 지역사회 관련 MRSA (community-associated MRSA, CA-MRSA)의 발생 보고가 늘어남에 따라 이에 대한 관심 또한 증가하고 있는 추세이다[7]. 2010년 발표된 소아에서의 황색포도알균의 비강 보균율 연구 결과에 따르면, nasal swab을 시행한 소아 총 428명 중 약 9.3%에 해당하는 40명의 비강 내에서 MRSA가 분리 배양 되었다. 이 중 2명(5%)의 소아만이 최근 1년 이내에 입원 또는 수술력 등의 의료기관 관련 감염 위험 인자를 가지고 있는 의료기관 관련 MRSA (hospital-associated MRSA, HR-MRSA)로 확인되었고, 나머지 38명(95%)은 CA-MRSA로 확인 되었다[8].

따라서 본 연구에서는 추후 환자에서 분리된 MRSA 분리 배

양 균주를 대상으로 분자유전학적인 분석을 통해 *mecA* 및 *mecB* 유전자를 검출하고, Staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec* typing과 *mec* complex typing을 시행하여, MRSA 분리 배양 균주의 아형을 분석한 후, 관련 선행연구를 통해 의료기관 환경에서 분리된 MRSA의 분자유전학적 특성 분석결과와 비교 분석하여 그 결과를 바탕으로 항생제 내성 세균에 관한 병원 내 감염관리 및 소독체계 확립에 대한 기초자료로 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

2018년 1월부터 3월까지 국내 대전지역 소재 2차 의료기관에서 폐렴이나 고열 및 기타 폐질환자의 nasal swab으로부터 분리 배양된 된 총 39주의 MRSA를 대상으로 SCC*mec*과 *mec* complex 아형의 분자유전학적 특성을 분석하였다.

2. 세균 배양 및 동정

환자의 비강으로부터 채취된 모든 검체는 혈액무배지(blood agar plate, BAP) (BNF KOREA, Gimpo, Korea)에 접종하여 37°C 세균 배양기에서 18~24시간 배양하였다. 계대순수 배양을 통해 단일 집락으로 분리된 세균은 Gram 염색을 시행하여 Gram 양성 및 음성 세균을 분리하였고, MicroScan WalkAway-96 자동화 동정 시스템(Beckman Coulter, West Sacramento, CA, USA)을 이용해 세균 종을 동정하였다.

3. 항생제 감수성 시험

BAP 배지에서 유의한 집락을 0.45% 생리 식염수에 부유시켜 McFarland 탁도가 0.6~0.9이 되게 탁도를 맞춘 후 MicroScan WalkAway-96 자동화 동정 시스템(Beckman Coulter) 장비를 이용하여 항생제 감수성 시험을 시행하였다. 결과의 정확도를 위해 표준균주인 *S. aureus* ATCC 29213를 사용하여 주 1회 임상검체와 동일한 방법으로 항생제 감수성 시험을 실시하여 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Wayne, PA, USA) 기준 허용범위에 적절한지 확인하였다. 항생제 감수성 시험 시행 후 감수성과 내성 여부의 판정은 CLSI 가이드라인에서 권고하는 표준 값을 적용하여 실시하였다. 항생제 감수성 시험에 사용된 항생제는 azithromycin, β -lactamase, ciprofloxacin, clindamycin, daptomycin, erythromycin, fosfomycin, fusidic acid, gentamicin, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, mupirocin, ri-

fampin, synergid, teicoplanin, tetracycline, trimetho-prim-sulfamethoxazole, vancomycin을 포함해 총 19종이다.

4. Genomic DNA 추출

BAP 배지에서 배양된 세균의 집락을 5% Chelex[®] Resin (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)/TBE 용액 500 µL에 혼탁 시킨 후 100°C에서 10분간 끓인 후 6,032 ×g로 2분간 원심분리한 후 상층액을 이용하였다. 이후 추출한 genomic DNA (gDNA)는 Nanodrop 2,000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 장비를 이용해 농도와 순도를 측정하였다.

5. SCCmec과 mec complex 아형 분석 및 mecA 유전자 검출

SCCmec과 mec complex typing 및 메티실린 내성 유전자인 mecA 유전자 검출을 수행하기 위해 추출한 1 µL gDNA (약 10 µg/µL)를 주형 DNA로 10 µL Prime Taq PCR Premix (GeNet Bio, Daejeon, Korea), 각각의 10 pmole/µL Forward primer와 reverse primer를 7 µL 멸균 증류수를 첨가하여 총 20 µL의 혼합액을 만들어 multiplex PCR을 수행하였다. 본 연구에 사용한 primer의 염기서열은 기존 연구자료를 바탕으로 시행하였다(Table 1, 2) [9, 10]. 반응이 끝난 PCR 산물 3 µL를 1.5% agarose/TBE gel에 분주하여 전기영동을 통

해 그 결과를 확인하였다(Figure 1).

결 과

1. 환자의 비강에서 분리 배양된 MRSA의 항생제 감수성 시험 결과

환자의 비강에서 분리 배양된 39주의 MRSA는 oxacillin을 포함하여 ampicillin, amox/K clav, imipenem, penicillin에 모두 내성을 나타냈으나, daptomycin, linezolid, synergid, teicoplanin, trimethoprim/sulfamethoxazole, vancomycin에는 모두 감수성을 나타냈다. Ciprofloxacin, azithromycin, clindamycin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin에 대해서는 내성율이 66.6~74.3%였으며, fusidic acid와 tetracycline에 대해서는 내성율이 43.6~61.5%, 그리고 fosfomycin, mupirocin, rifampin에는 15.4~30.7%의 내성율을 나타냈다.

2. 환자의 비강에서 분리 배양된 MRSA에서의 mecA 유전자 검출

환자의 비강에서 분리 배양된 39주의 MRSA 임상분리균주를 대상으로 mecA 유전자 검출을 위한 PCR 분석을 실시한 결과 총 39주의 모든 MRSA 균주(100%)에서 양성인 것을

Table 1. Specific primer sets used in this study for subtyping of SCCmec type & mec complex subtypes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate

Target regions			Nucleotide sequences (5'–3')		Amplicon size (bp)	Accession No.	Reference
SCC <i>mec</i> subtypes	SCC <i>mec</i> type I	Forward	5'–GCT TTA AAG AGT GTC GTT ACA GG–3'		613	AB033763	Zhang et al, 2005 [10]
		Reverse	5'–GTT CTC TCA TAG TAT GAC GTC C–3'				
	SCC <i>mec</i> type II	Forward	5'–CGT TGA AGA TGA TGA AGC G–3'		398	D86934	
		Reverse	5'–CGA AAT CAA TGG TTA ATG GAC C–3'				
	SCC <i>mec</i> type III	Forward	5'–CCA TAT TGT GTA CGA TGC G–3'		280	AB37671	
		Reverse	5'–CCT TAG TTG TCG TAA CAG ATC G–3'				
	SCC <i>mec</i> type IVa	Forward	5'–GCC TTA TTC GAA GAA ACC G–3'		776	AB063172	
		Reverse	5'–CTA CTC TTC TGA AAA GCG TCG–3'				
	SCC <i>mec</i> type IVb	Forward	5'–TCT GGA ATT ACT TCA GCT GC–3'		493	AB063173	
		Reverse	5'–AAA CAA TAT TGC TCT CCC TC–3'				
	SCC <i>mec</i> type IVc	Forward	5'–ACA ATA TTT GTA TTA TCG GAG AGC–3'		200	AB096217	
		Reverse	5'–TTG GTA TGA GGT ATT GCT GG–3'				
	SCC <i>mec</i> type IVd	Forward	5'–CTC AAA ATA CGG ACC CCA ATA CA–3'		881	AB097677	
		Reverse	5'–TGC TCC AGT AAT TGC TAA AG–3'				
	SCC <i>mec</i> type V	Forward	5'–GAA CAT TGT TAC TTA AAT GAG CG–3'		325	AB12121	
		Reverse	5'–TGA AAG TTG TAC CCT TGA CAC C–3'				
Methicillin resistance	<i>mecA</i> gene	Forward	5'–GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT–3'		147	X52593	
		Reverse	5'–ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T–3'				
<i>mec</i> complex subtypes	<i>mec</i> complex group A	Forward	5'–CCC TTT TTA TAC AAT CTC GTT–3'		146	IS1272	
		Reverse	5'–ATA TCA TCT GCA GAA TGG G–3'				
	<i>mec</i> complex group B	Forward	5'–TAT TTT TGG GTT TCA CTC GG–3'		1,305	CA05	
		Reverse	5'–CTC CAC GTT AAT TCC ATT AAT ACC–3'				

Table 2. Multiplex PCR conditions for *SCCmec* & *mec* complex subtyping

Targets	Pre-denaturation	Denaturation	Annealing	Extension	Final extension
	1 cycle		40 cycle		1 cycle
<i>mecA</i>	94°C/5 min	94°C/30 sec	50°C/30 sec	72°C/30 sec	72°C/10 min
<i>SCCmec</i> type I			55°C/30 sec	72°C/30 sec	
<i>SCCmec</i> type II					
<i>SCCmec</i> type III					
<i>SCCmec</i> type IVa					
<i>SCCmec</i> type IVb			50°C/30 sec	72°C/1 min	
<i>SCCmec</i> type IVc			55°C/30 sec	72°C/30 sec	
<i>SCCmec</i> type IVd					
<i>SCCmec</i> type V					
<i>mec</i> complex A			54°C/30 sec	72°C/1 min	
<i>mec</i> complex B

Figure 1. Multiplex PCR assay to identify *SCCmec* subtypes. Multiplex PCR assay identifies *SCCmec* subtypes I, II, III, IVa, IVb, IVc, IVd, V. LM, ladder marker: 1 to 23, MRSA isolates; NC, Negative control.

확인하였다.

3. 환자의 비강에서 분리 배양된 MRSA의 *SCCmec*과 *mec* complex 아형 분자 특성

환자의 비강으로부터 분리 배양된 MRSA 39주의 *SCCmec* 아형 분석 결과 *SCCmec* type-II가 24건(61.5%), *SCCmec* type-II/IVa가 2건(5.1%), *SCCmec* type-II/V가 1건(2.6%), *SCCmec* type-IVa가 1건(2.6%), *SCCmec* not-typeable이 11건(28.2%)으로 분석되었다. 환자로부터 분리 배양된 MRSA 39주의 *mec* complex 아형 분석 결과, group A가 29건(74.4%), not-typeable이 10건(25.6%)이었으며, group B는 없는 것으로 분석되었다(Table 3).

4. MRSA의 *SCCmec*과 *mec* complex 아형 분자 특성에 따른 항생제 내성 양상

환자의 비강에서 분리 배양된 MRSA 39주에 속하는 모든

*SCCmec*과 *mec* complex 아형은 ampicillin과 amox/K clav에 모두 내성을 나타냈다.

SCCmec type-II형에 속하는 총 24주의 MRSA 중 22주(91.7%)가 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin, azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin 등 11개 항생제에 대해 내성을 나타냈으며, 19주(79.2%)는 앞에서 언급한 11개 항생제와 더불어 tetracycline에 대해서도 추가적인 내성을 나타냈고, 17주(70.8%)는 앞에서 언급한 12개 항생제와 더불어 fusidic acid에 대해서도 추가적인 내성을 나타냈다. *SCCmec* type-II형에 속하는 총 24주의 MRSA 중 16주(66.7%)가 gentamycin에 대한 내성을 나타냈으며, 11주(45.8%)가 fosfomycin에 대한 내성을 나타냈고, rifampin과 mupirocin에 대해서는 각각 4주(16.7%)가 내성을 나타냈다. *SCCmec* type-II/IVa형에 속하는 것으로 보이는 총 2주의 MRSA의 항생제 감수성 시험 결과는 ampicillin, amox/K

Table 3. Comparison of SCC*mec* & *mec* complex subtypes of MRSA isolates from nasal swab of clinical patients

Targets	Results	No. of samples, N (%)	Total
<i>mecA</i> gene	Positive	39 (100.0)	39 (100.0)
	Negative	0 (0.0)	
<i>mec</i> complex subtypes	Group A	29 (74.4)	
	Group B	0 (0.0)	
	Not-typeable	10 (25.6)	
SCC <i>mec</i> subtypes	I	0 (0.0)	
	II	24 (61.5)	
	III	0 (0.0)	
	IVa	1 (2.6)	
	IVb	0 (0.0)	
	IVc	0 (0.0)	
	IVd	0 (0.0)	
	V	0 (0.0)	
	II/IVa	2 (5.1)	
	II/V	1 (2.6)	
	Not-typeable	11 (28.2)	

clav, imipenem, oxacillin, penicillin, azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin 등 11개의 항생제에 대한 공통 내성을 나타냈으며, 1주(50%)는 앞에서 언급한 11개 항생제와 더불어 gentamycin에 대한 추가적인 내성을 나타냈다.

SCC*mec* type-II/V형에 속하는 것으로 보이는 1주의 MRSA의 항생제 감수성 시험 결과는 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin, azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin, tetracycline, fusidic acid, gentamycin, fosfomycin, rifampin 등 15개의 항생제에 대한 내성을 나타냈다.

SCC*mec* type-IVa형에 속하는 1주의 MRSA의 항생제 감수성 시험 결과는 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin, azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin, gentamycin 등 12개의 항생제에 대한 내성을 나타냈다.

mec complex group A형으로만 분류된 총 3주의 MRSA는 모두 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin 등 5가지 항생제에 공통으로 내성을 나타냈으며, 1주(33.3%)는 tetracycline, gentamycin, mupirocin 등 3가지 항생제에 대한 추가적인 내성을 나타냈으며, 1주(33.3%)는 azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin, tetracycline, fosfomycin, rifampin, mupirocin 등 10가지 항생제에 대한 추가적인 내성을 나타냈다.

SCC*mec*과 *mec* complex 아형분석에서 not-typeable로 분류된 MRSA 8주 모두 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin 등 5가지 항생제에 공통으로 내성을 나타냈으며, 그 중 1주(12.5%)는 tetracycline과 gentamycin 등 2가지 항생제에 대해 추가적인 내성을 나타냈으며, 1주(12.5%)는 azithromycin, clindamycin, erythromycin를 포함해 3가지 항생제에 추가적인 내성을 나타냈고, 1주(12.5%)는 azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin, tetracycline, gentamycin, mupirocin을 포함해 9가지 항생제에 추가적인 내성을 나타냈다(Table 4).

고 찰

MRSA의 감염에 의해 야기되는 피부와 연조직 감염은 집단생활을 하는 사람들에게서 많이 발생되고 있으며 인플루엔자나 폐렴과 함께 의료기관으로의 입원의 주요한 감염 원인이 되고 있다[11].

일반적으로 당뇨 및 투석 환자, 장기 의료·복지시설 등에서 발생하는 HA-MRSA의 SCC*mec* 아형은 주로 SCC*mec* type-I, -II, -III 아형으로 다약제에 대한 내성(multi-drug resistance)을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[12]. 과거 국내에서 실시된 연구 결과에 따르면, 일반 입원실과 중환자실에서 분리된 MRSA 중 약 25%가 CA-MRSA로 조사되었으며, 항생제 감수성 시험 결과 Oxacillin 약제에 대해 모두(100%) 내성을 보였고, 그 외 erythromycin, ciprofloxacin, trime-

Table 4. Comparison of phenotypic antibiotic resistance patterns of MRSA isolates according to *SCCmec* & *mec* complex subtypes

Strains	Phenotypic antimicrobial resistance profile	Clinical diagnosis	<i>SCCmec</i> & <i>mec</i> complex subtypes
Patients' nasal cavity	HA-MRSA-35 AM, AUG, IMP, OX, P	Diabetes mellitus	<i>SCCmec</i> type-II, <i>mec</i> complex group A
	HA-MRSA-1 AM, AUG, IMP, OX, P, GM	General weakness	
	HA-MRSA-15 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF	Pneumonia	
	HA-MRSA-36 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, MUP	Dyspnea	
	HA-MRSA-12 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, GM	Bacterial pneumonia	
	HA-MRSA-25 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, GM	Fever	
	HA-MRSA-31 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA	Pneumonia	
	HA-MRSA-7 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, FOS	Pneumonia	
	HA-MRSA-26 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, FOS	Hyperglycemia	
	HA-MRSA-29 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, FOS	Acute respiratory failure	
	HA-MRSA-17 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, FOS	Chronic obstructive airway disease	
	HA-MRSA-22 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, FOS	Pneumonia	
	HA-MRSA-2 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM	Pneumonia	
	HA-MRSA-5 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM	Acute respiratory failure	
	HA-MRSA-30 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM	Spontaneous bacterial Peritonitis	
	HA-MRSA-9 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS	Acute traumatic subarachnoid hemorrhage	
	HA-MRSA-14 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS	Pneumonia	
	HA-MRSA-34 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS	Fever	
	HA-MRSA-20 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS, RIF	Bronchitis	
	HA-MRSA-24 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS, MUP	Malignant neoplasm of stomach	
	HA-MRSA-4 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, RIF, MUP	Acute pneumonia	
	HA-MRSA-10 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, RIF, MUP	Pneumonia	
	HA-MRSA-3 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS, RIF	Malignant neoplasm of main bronchus	<i>SCCmec</i> type-II
	HA-MRSA-11 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, GM	Pneumonia	
	HA-MRSA-16 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, GM	Lung mass	<i>SCCmec</i> type-II/IVa <i>mec</i> complex group A
	HA-MRSA-32 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF	Panperitonitis	
	HA-MRSA-27 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FA, GM, FOS, RIF	Bronchitis	<i>SCCmec</i> type-II/IV, <i>mec</i> complex group A
	HA-MRSA-21 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, GM	Acute cholecystitis	<i>SCCmec</i> type-IVa, <i>mec</i> complex group A
	HA-MRSA-13 AM, AUG, IMP, OX, P, TE, GM, MUP	Fever	<i>SCCmec</i> not-typeable, <i>mec</i> complex group A
	HA-MRSA-23 AM, AUG, IMP, OX, P	Cerebral infarction	
	HA-MRSA-39 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, FOS, RIF, MUP	Dyspnea	<i>SCCmec</i> & <i>mec</i> complex not-typeable
	HA-MRSA-6 AM, AUG, IMP, OX, P	Alcoholic liver cirrhosis	
	HA-MRSA-8 AM, AUG, IMP, OX, P	General medical examination	
	HA-MRSA-18 AM, AUG, IMP, OX, P	Anaphylatic reaction	
	HA-MRSA-19 AM, AUG, IMP, OX, P	Acute Pneumonia	
	HA-MRSA-28 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, E	Hyperplasia of prostate	
	HA-MRSA-33 AM, AUG, IMP, OX, P	Bronchopneumonia	
	HA-MRSA-37 AM, AUG, IMP, OX, P, TE, GM	Acute bronchiolitis	
	HA-MRSA-38 AM, AUG, IMP, OX, P, AZI, CD, CP, E, LVX, MXF, TE, GM, MUP	Intestinal obstruction	

Abbreviations: HA-MRSA, Hospital acquired-MRSA; AM, Ampicillin; AUG, Amox/K clav; IMP, Imipenem; OX, Oxacillin; P, Penicillin; GM, Gentamycin; AZI, Azithromycin; CD, Clindamycin; CP, Ciprofloxacin; E, Erythromycin; LVX, Levofloxacin; MXF, Moxifloxacin; MUP, Mupirocin; TE, Tetracycline; FA, Fusidic acid; FOS, Fosfomycin; RIF, Rifampin.

thoprim/sulfamethoxazole, rifampin 약제에 대해 각각 83.6%, 53.4%, 10.9%, 4.1% 내성을 나타내는 것으로 조사되었다[13].

SCC*mec*과 *mec* complex 아형 분석 결과, 환자의 비강에서 분리 배양된 MRSA 39주 중 22주가 *mec* complex group A이면서 SCC*mec* type-II 아형으로 분류되어 가장 많은 분포를 나타냈고, 다음으로 *mec* complex와 SCC*mec* 아형 모두 유형이 밝혀지지 않은 not-typeable이 8주로 많은 분포를 나타낸 반면, *mec* complex group A이면서 SCC*mec* type-II/V와 SCC*mec* type-IVa가 각각 1주로 가장 적은 분포를 나타냈다. 이 결과는 HA-MRSA의 SCC*mec* 아형 중 SCC*mec* types-II형이 가장 우세하다는 과거의 연구결과와 유사한 양상을 나타내었다[9, 12]. 본 결과에서 나타난 not-typeable 8 주의 경우 기존에 알려지지 않은 다른 아형의 존재임을 확인하기 위해 SCC*mec* 부위의 DNA sequencing 분석을 통한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 MRSA로 분리 배양된 총 39주에 대한 항생제 감수성 시험 결과, 환자의 비강에서 분리 배양된 MRSA 총 39주 모두 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin 등 5가지 항생제에 공통으로 내성을 나타냈다. 본 연구를 통해 환자의 비강에서 분리된 MRSA 아형 중 가장 많은 비중을 차지하는 SCC*mec* type-II아형에 속하는 총 24주(61.5%)의 MRSA 중 22주(91.7%)가 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin, azithromycin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, levofloxacin, moxifloxacin 등 11개 항생제에 대해 내성을 나타냈으며, 12가지 항생제에 대한 내성을 나타낸 MRSA가 19주(79.2%), 13가지 항생제에 대한 내성을 나타낸 MRSA는 17주(70.8%)에 달했다. 반면에, 환자의 비강에서 분리된 총 8주(20.5%)의 not-typeable MRSA 균주 중 5주(62.5%)는 ampicillin, amox/K clav, imipenem, oxacillin, penicillin 등 5가지 항생제에 대해서만 내성을 나타내어, 환자의 비강에서 주로 분리 배양되는 SCC*mec* type-II 아형이 지니는 다약제에 대한 내성 특성과 분명한 차이가 있는 것으로 나타났다[3].

현재까지 밝혀진 SCC*mec* type은 type I에서 VI까지 크게 분류되며 내성유전자를 포함하는 plasmid나 transposon 등에 따라 subtype이 매우 다양한 것으로 나타났다. 본 연구에서는 환자의 전체를 대상으로 MRSA의 보급율을 조사한 것이 아니기 때문에, 환자로부터 분리 배양된 MRSA 특성을 대변하기에는 통계학적 유의성이 낮을 수 있기 때문에 분자 아형에 따른 항생제 내성 패턴의 특성을 정확하게 비교 분석하기에는 제한점

이 있을 수 있다. 하지만, 본 연구결과와 의료기관 획득MRSA에 관한 다른 연구결과와 유사한 결과를 나타내었으며[14], 이는 본 연구가 병원내에서 언제든 MRSA집단 감염으로 인한 피부와 연조직 감염 환자가 발생할 가능성이 있으며, 이로 인해 집단감염 초래할 수 있다는 중요성을 지니고 있다.

따라서 병원내 MRSA 감염 환자 발생 시 이에 따른 후속조치를 실시함에 앞서 병원내에서 MRSA의 전파를 예방할 수 있는 사전 대책을 더욱 강구하고 적극적으로 감염의 예방을 홍보하는 것이 매우 중요할 것으로 판단된다. 또한, 면역력이 저하 및 억제된 환자나 기저질환을 가지고 있는 고령자 등에서 새롭게 출현하는 항생제 내성균의 발생위험이 높고, 균의 국내 유입 및 확산이 감염관리의 새로운 문제로 대두되고 있기 때문에 이러한 내성균의 출현을 최대한 억제하고, 조기에 발견하여 적절한 예방지침을 시행함으로써 감염과 확산을 예방하는 것이 중요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 환자의 비강으로부터 분리 배양된 총 39건의 MRSA 분리 배양 균주를 이용해 *mecA* 유전자 검출, SCC*mec* typing과 *mec* complex typing을 분석해 보고자 하였다. 임상 환자의 비강으로부터 분리 배양된 MRSA 총 39주 중 SCC*mec* type-II가 24건, type-II/IVa가 2건, type-II/V가 1건, type-IVa가 1건, not-typeable이 11건으로 분석되었으며, *mec* complex type A가 29건, not-typeable이 10건이었으며, type B는 없는 것으로 분석 되었다. 결론적으로, 환자의 비강으로부터 분리된 MRSA 분리 배양 균주 중 SCC*mec* type-II와 *mec* complex type A 아형이 가장 많이 분포하고 있었으며, 이 결과는 의료기관 획득 MRSA에 관한 다른 연구결과와 유사한 결과를 나타냈다. 이후 환자의 비강으로부터 분리 배양된 not-typeable 아형의 MRSA 균주를 대상으로 국내에서 발견되는 새로운 MRSA 아형 규명에 관한 추가 연구가 필요할 뿐만 아니라, MRSA 분리 배양 균주의 아형을 분석함으로써 그 분자적 특성을 분석한 결과를 바탕으로 병원 감염관리를 위한 기초자료를 제공할 수 것으로 사료된다.

Acknowledgements: This paper was supported by Brain Busan 21 Plus project.

Conflict of interest: None

Author's information (Position): Kim SH^{1,2}, M.T.; Park SB^{3,4}, Park H^{3,4}, Kim JS^{3,4}, Graduate student; Lee J³,

Researcher; Kim J³, Lim J⁵, Kim YK¹, Kim S^{3,4}, Professor.

REFERENCES

1. Archer GL, Mayhall CG. Comparison of epidemiologic markers used in investigation of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. J Clin Microbiol. 1983;18:395-399.
2. Bouvet A, Fournier JM, Audurier A, Branger C, Orsoni A, Girard C. Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolates in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 1990;28:1338-1341.
3. Park JY, Kim SD, Lee JS. Infection of methicillin-resistant *S. aureus* nasal carriage in the community pediatric population. Korean J Epidemiol. 2006;28:171-181.
4. Williams RE. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. Bacteriol Rev. 1963;27:56-71.
5. Cuevas O, Cercenado E, Bouza E, Castellares C, Trincado P, Cabrera R, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: a multicentre prevalence study (2002). Clin Microbiol Infect. 2007;13:250-256. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01672.x>
6. Fujino T, Sekiguchi J, Kawana A, Konosaki H, Nishimura H, Saruta K, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Tokyo hospital in 2003. Jpn J Infect Dis. 2004;57:83-85.
7. Chambers HF. Methicillin resistance in Staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 1997;10:781-791.
8. Kim YM, Oh CE, Kim SH, Lee J, Choi EH, Lee HJ. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* from healthy children attending day care center. Korean J Pediatr Infect Dis. 2010;17:9-15. <https://doi.org/10.14776/kjpid.2010.17.1.9>
9. Kim HS, Park SB, Kim SH, Kim S, Hyun SH, Kim YK. Molecular genetic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients and environment of general hospital intensive care unit in a Chungnam province, Korea. Korean J Clin Lab Sci. 2018;50:110-117. <https://doi.org/10.15324/kjcls.2018.50.2.110>
10. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2005;43:5026-5033.
11. Landrum MI, Neumann C, Cook C, Chukwuma U, Ellis MW, Hospenthal DR, et al. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* blood and skin and soft tissue infections in the US military health system, 2005-2010. JAMA. 2012;308:50-59. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.7139>
12. Okuma K, Iwakawa J, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, et al. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. J Clin Microbiol. 2002;40:4289-4294. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.11.4289-4294.2002>
13. Song JS, Choe PG, Song KH, Cho JH, Kim SH, Bang JH, et al. Multicenter study for frequency and clinical features of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. Infect Chemother. 2006;38:325-333. <https://doi.org/10.14776/piv.2019.26.e2>
14. Kang CK, Cho JE, Choi YJ, Jung Y, Kim NH, Kim CJ et al. agr dysfunction affects staphylococcal cassette chromosome mec type-dependent clinical outcomes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59:3125-3132. <https://doi.org/10.1128/AAC.04962-14>