대한임상병리학회지 : 제21권 제2호 2001
Korean J Clin Pathol 2001; 21: 122-8

Pulsed-Field Gel Electrophoresis를 이용한 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*의 분자역학적 분석

김영재 · 전동석* · 김재룡*

성균관의대 마산삼성의료원 임상병리과, 계명의대 동산의료원 임상병리과*

Molecular Epidemiologic Analysis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* using Pulsed-Field Gel Electrophoresis

Young-Jae Kim, M.D., Dong-Seok Jeon, M.D.,* and Jae-Ryong Kim, M.D.*

Department of Clinical Pathology, Sungkyunkwan University School of Medicine, Masan Samsung Medical Center, Masan, Department of Clinical Pathology,*Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Background : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important pathogen that is frequently involved in outbreaks of nosocomial infections. We did moleculoepidemiological analysis of MRSA strains isolated at the Dongsan Medical Center from January 1998 to June 1998 by means of a pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and antimicrobial resistance phenotyping.

Methods : One hundred six strains of MRSA, isolated from patients, were analyzed and classified by DNA fingerprinting with PFGE by CHEF-DR III (Bio-Rad Co., USA) after digestion with SmaI. An antimicrobial sensitivity test was performed and the patterns were compared to the PFGE patterns.

Results : Among the 106 isolates, 28 different PFGE patterns were identified. Nineteen patterns were responsible for more than one strain (2 to 24 strains). Twenty-seven patterns showed over 65% in the similarity coefficient and were classified into 8 groups (I-VIII). Group II strains were mostly isolated from wound and sputum, whereas group III from pleural fluid and urine. Most of group II isolates were from patients of the wards (40% of NS isolates, 71% of OS isolates and 60% of IM isolates) and ICUs (50% of SICU and MICU isolates). The antibiogram separated the isolates into 11 types. Type 6 was predominant and subdivided into groups II, III and VII of the PFGE patterns.

Conclusions : Molecular chromosomal DNA fingerprinting with PFGE revealed the clonal relationships of some MRSA isolates at the Dongsan Medical Center. Thus, molecular epidemiological analysis with PFGE would be valuable for delineating epidemic isolates of MRSA, for identifying the nosocomial reservoirs, and for tracing their intrahospital spread. *(Korean J Clin Pathol 2001; 21: 122-8)*

Key words : *MRSA, DNA fingerprinting, PFGE, Molecular epidemiological analysis, Antimicrobial sensitivity test*

서 론

Methicillin 내성 황색포도구균(methicillin-resistant *S. aureus*, 이하 MRSA)은 원내감염의 80%를 차지하므로 가장 중요한 감염의 원인균으로 알려져 있으며[1, 2], 병원 감염관리의 주된 대상으로 대두되고 있다. 따라서 병원에서 분리되는 균주에 대한 역학적 분석은 동일 균주의 원내전파를 알아내고, 이 균주

접 수 : 2001년 2월 10일 접수번호 : KJCP1467
수정본접수 : 2001년 4월 14일
교 신 저 자 : 전 동 석
우 700-310 대구광역시 중구 동산동 194
계명의대 동산의료원 임상병리과
전화 : 053-250-7222, Fax : 053-250-7275
E-mail : dsjun@dsmc.or.kr

들에 의한 감염원과 감염경로를 추적할 수 있게 함으로써 추후 감염발생을 예방하고 치료하는데도 이바지 할 수 있을 것이다.

병원성 감염균의 역학조사를 위한 기법으로는 생물형, 항균제 내성양상, 혈청형, 협막형, 박테리오신형, 박테리오파지형, 플라스마드형, 라이보형, 제한효소 분석법 및 random amplified polymorphic DNA (RAPD) 분석법 등이 있으며, 핵산염기서열 분석법도 이용될 수 있다[3, 4]. MRSA는 상대적으로 소수의 클론으로부터 유래하여 균주상호간에 높은 유전적 연관성을 지니고 있기 때문에[5], 통상적인 방법으로는 균주간의 구별이 어려우므로 정확한 역학적 분석을 위해서는 형별력(typeablility), 재현성(reproducibility), 분별력(discriminatory power)이 높은 분자생물학적 기법이 필요하겠다. 플라스미드 형별법[6], 라이보형별법[7, 8], 염색체 제한효소분석법[7, 9], pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)[10], arbitrary primed 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, 이하 PCR)[11, 12], 핵산염기서열 분석법[13] 등이 최근 많이 사용되고 있으며, 이중 PFGE법은 기존의 역학조사법보다 재현성 및 분별력이 우수하여 최근에 이르러 가장 정확한 분자역학 분석법으로 인정되고 있다[4].

이에 저자들은 본원에서 분리, 동정된 MRSA를 대상으로 PFGE를 이용한 염색체 유전자 분획유형을 분석하여 유전적 계통 및 상사성을 파악하여 역학적 형별조사를 하고 항균제내성 유형과 비교하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1998년 1월부터 6월까지 6개월간 계명의대 동산의료원 중환자실을 비롯한 병동 및 외래에서 분리된 임상검체 중 oxacillin disk법에서 MRSA로 분리된 106균주를 대상으로 하였다. 검체별로는 창상 43주, 객담 27주, 혈액 4주, 체액 5주, 요 6주, 안(eyes) 검체 6주, 그리고 이(ears)검체 15균주였으며 병동별로는 내과 중환자실 4주, 외과 중환자실 6주, 소아과 중환자실 3주, 신경외과 중환자실 13주, 신생아실 6주, 응급실 4주, 구병동 7주, 남병동 32주(신경외과 10, 정형외과 7, 내과 5 및 기타), 동병동 6주(이비인후과 및 안과), 서병동 4주, 신장내과 외래 2주, 소아과 외래 3주, 이비인후과 외래 14주 그리고 비뇨기과 외래 2주였고 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 25923을 이용하였다.

2. 항균제 감수성 검사

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에 근거한 디스크확산법에 따라 시험하였다[14]. Methicillin의 내성검출을 위해 oxacillin 디스크를 이용하였으며, 그 외에 ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, gentamicin, trimethoprim/sulfamethoxazole, vancomycin, teicoplanin 및 tetracycline 등 항균제 디스크(bioDiscs, bioMeriux, France)를 사용하였고 정도관리를 위해 *S. aureus* ATCC 25923을 동시에 시험하였다.

3. PFGE

1) 균배양 및 plug 제작

혈액한천에서 증식된 MRSA 단독 집락을 brain-heart infusion (BHI) broth 5 mL에 접종하여 배양하였다. 배양액을 4℃에서 원심분리한 후 찬 PIV buffer (10 mM Tris, 1 M NaCl, pH 7.6)로 4℃에서 원심 세척하고 균 농도가 2-3×10^9/mL가 되도록 재부유시켰다. InCert agarose (low melting temperature, FMC, USA)를 2%가 되도록 PIV buffer에 녹이고 동량의 균부유액과 재빨리 혼합한 후, plug mold에 100 μL씩 분주하여 즉시 얼음 속에서 30분간 굳혔다.

2) 세포용해 및 염색체성 DNA의 유리

Lysozyme (1 mg/mL)과 5 U/mL의 lysostaphin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)이 포함된 lysis buffer (10 mM Tris, 1 M NaCl, 100 mM EDTA, 0.5% Brij-58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sodium lauroyl sarcosine, pH 7.6) 4 mL 속에 plug를 넣고 37℃에서 진탕 배양하였다. 100 μL/mL의 proteinase K (Promega, Medison, Wis., USA)가 포함된 ESP 용액(500 mM EDTA, 10% sodium lauroyl sarcosine, pH 8.0) 4 mL로 교환한 후 50℃에서 24시간 진탕 배양하였으며 새 ESP 용액으로 교환하여 더 반응시켰다. Plug를 TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7.6)로 37℃에서 세척하고 4회 이상 교체해 주었다.

3) 제한효소 처리

Plug당 제한효소 buffer (SuRE^{TM}/Cut buffer A, Roche, Basel, Switzerland) 300 μL에 30 U *Sma*I (Roche)을 첨가하여 25℃, 24시간 처리 후 ES buffer (500 mM EDTA, 10% sodium lauroyl sarcosine, pH 8.0) 1 mL에 넣고 50℃에서 2시간 두었다.

4) PFGE 시행

PFGE를 위해 CHEF-DR III system (Bio-Rad Co., Hercules, CA, USA)을 이용하였다. 1% SeaKem agarose (FMC, USA)로 running 겔을 만들어 미리 90분간 전기영동 시킨 다음, 각 well에 plug를 주입하고 동시에 size marker로 lambda ladder (Promega)를 넣고 0.5배 농도의 TBE buffer (22.5 mM Tris-borate, 0.5 mM EDTA, pH 8.0)를 이용하여 initial pulse 1ch, final pulse 40ch, 5V/cm, 120°angle의 조건으로 14℃에서

전기 영동하였다. 전기영동이 끝난 후 ethidium bromide로 겔을 20분간 염색한 다음 자외선 조영 하에서 관찰 및 사진 촬영하였다.

5) 유전적 계통분석 및 dendrogram 도식화

*Sma*I 처리후 전기영동상에 나타난 염색체 유전자분획의 양상을 size marker를 기준으로 각 균주와 상호 비교하여 분류하였다. PFGE에서 얻어진 분획유형의 판정을 위하여 모든 분획을 대상으로 하여 검사균주에서 분획이 나타난 경우를 양성으로 1, 나타나지 않은 경우를 음성으로 0으로 처리하여 얻어진 data matrix를 군집분석에 이용하였다. 군집분석을 위한 소프트웨어는 Phylip package program 중 Neighbor-Joining/UPGMA method (unweighted pair group method of arithmetic average analysis, version 3.572c)를 이용하여 dendrogram을 도식화하였다. 각 균주간의 상사성를 보기위해 아래의 Dice 공식을 이용하였다.

$$\text{Similarity coefficient (\%)} = \frac{\text{두 균주간의 공통유전자 분획의 수} \times 2}{\text{두 균주간의 염색체 유전자 분획의 전체수}} \times 100$$

결 과

1. PFGE에 의한 MRSA 염색체 유전자 분획유형에 따른 역학적 형별분석

*Sma*I으로 처리된 MRSA 106 균주의 염색체성 유전자 분획

Table 1. No. of MRSA isolates by PFGE pattern

Chromosomal	Patterns by PFGE	No. of MRSA isolates (Total No. of each group)
AA	VII_B	1
AB	VII_A	2
AC	VII_A	3
AD	VII_A	6
AE	VI	1
AF		*S. aureus* ATCC 25923
AG	I	1 (I: 1)
AI	IV	1
AJ	IV	1
AK	IV	6 (IV: 11)
AL	III_B	2
AM	III_B	1
AN	III_B	1
AO	III_B	3
AP	III_B	1
AQ	VIII	2 (VIII: 2)
AR	III_B	1
AS	III_B	7
AT	VII_B	2 (VII: 14)
AU	IV	3
AV	V	7(V: 7)
AW	III_A	5
AX	III_A	5 (III: 26)
AY	VI	2
AZ	VI	3
BA	VI	2 (VI: 8)
BB	II	6
BC	II	24
BD	II	7 (II: 37)

Table 2. PFGE patterns and ward/department distribution of MRSA isolates

Ward/department		No. of specimen	No. of isolates with PFGE pattern:							
			I	II	III (A/B)	IV	V	VI	VII (A/B)	VIII
Ward:	Old 1	2		1		1				
	Old 3	5	1			1		1	2 (0/2)	
	South 1 (NS)	10		4	2 (0/2)	2			2 (2/0)	
	South 2 (OS)	7		5	1 (0/1)				1 (1/0)	
	South 3 (IM)	5		3	2 (0/2)					
	South 4	4		1	1 (1/0)	1			1 (1/0)	
	South 5	6			1 (1/0)	2		1	1 (1/0)	1
	East 7 (ENT+)	6			3 (2/1)		1	1	1 (1/0)	
	West 7	4			3 (2/1)		1			
	ER	4		1	1 (0/1)			1	1 (1/0)	
ICU:	PED	3		1	1 (1/0)			1		
	GS, CS	6		3	1 (1/0)				2 (2/0)	
	IM	4		2	1 (0/1)				1 (1/0)	
	NS	13		9	2 (0/2)	1	1			
	Nursery	6		2		1	1	1	1 (1/0)	
OPD:	IM-N	2					1	1		
	PED	3			1 (1/0)	1				1
	ENT	14		7	4 (1/3)		2		1 (0/1)	
	URO	2			1 (0/1)			1		

Abbreviations: OPD, outpatient department; IM, internal medicine; IM-N, department of nephrology; ENT+, ear nose and throat and opthalmology; NS, neurosurgery; OS, orthopedic surgery; GS, general surgery; CS, chest surgery; URO, urology.

Table 3. The numbers of MRSA isolates according to PFGE patterns and sites of isolation

Site of isolation	No. of strains	No. of isolates with PFGE pattern:							
		I	II	II (A/B)	IV	V	VI	VII (A/B)	VIII
Wound	43	1	14	8 (3/5)	3	4	8	5 (3/2)	
Ears	15		6	6 (3/3)		2		1 (0/1)	
Blood	4		2					2 (2/0)	
CSF	2		2						
Pleural fluid	3			2 (2/0)				1 (1/0)	
Eyes	6		1	1 (0/1)	2			1 (1/0)	1
Sputum	27		14	5 (0/5)	4	1		3 (3/0)	
Urine	6			3 (2/1)	1			1 (1/0)	1

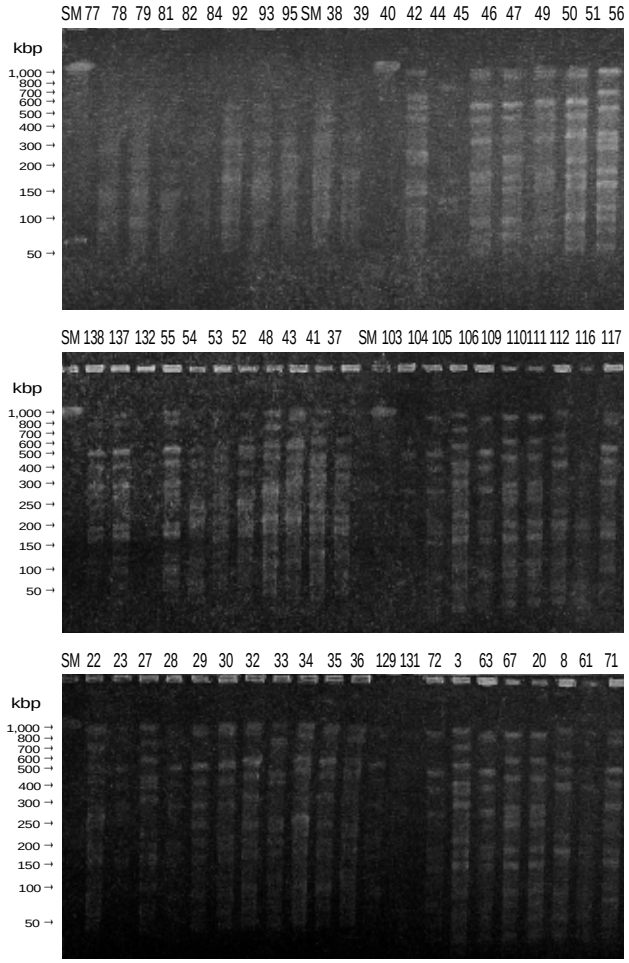

Fig. 1. PFGE findings of MRSA isolates, which chromosomal DNA was digested with SmaI restriction endonuclease. An average of 14 bands (11-18) per each strain was showed. The samples in each lanes are as follows: SM, size marker (ProMega-Markers lambda ladder), numbers above the lanes designated serial numbers of MRSA isolates in this study.

수는 균주당 평균 14개(11-18개)로 30 kb에서 1000 kb까지 분포하였으며 모두 28가지 유형(AA-BD형)으로 분류할 수 있었다(Table 1, Fig. 1, 2). 28가지의 유형 중 8가지 형은 한 주에서만

Fig. 2. Schematic representation of the 28 PFGE patterns of MRSA strains. Lane SM is molecular size marker. AF is *S. aureus* ATCC 25923.

관찰되었으나 19가지형은 2주 이상(2-24주)의 균주에서 관찰되었다. 이 중 BC형이 24주로 가장 많았고 AS형 및 AV형이 7주씩, 그리고 AD, AK 및 BB형은 각각 6주였다. 또 AW 및 AX형은 각각 5주씩이었다. Neighbor-Joining/UPGMA method를 이용하여 106균주간의 유전적 계통분석결과, 유사도에 근거하여 크게 8군(I-VIII)으로 분류할 수 있었고, III군 및 VII군은 다시 IIIA, IIIB 및 VIIIA, VIIB로 세분할 수 있었다(Fig. 3). 106균주 중 AQ형을 제외한 104균주가 65%정도 이상의 유사성을 보였으며 II군이 37균주(34.9%)로 가장 많았고, III군이 26주(24.5%), 그리고 VII군이 14주(13.2%)였다(Table 1). II군에 속하는 균주는 BB형, BC형과 BD형으로 각각 6주, 24주 및 7주의 동일한 유형을 가진 균주들이었다. III군중 IIIA에 속하는 균주는 10주로서 AW형 5주 및 AX형 5주이었다.

병동별 분포를 보면, 신경외과 중환자실에서 분리된 균주는 69% (9/13)가 II군이었고, 외과 중환자실에서 분리된 6주는 II군과 VII군이 각각 50% (3주), 33.3% (2주)였다. 신경외과 병동에서 분리된 균주는 40%에서, 정형외과 병동은 71%가 II군이었다. 이비인후과와 안과 병동에서는 III군이 50%를 차지하였고 이비인후과 외래의 경우 II군이 50%를 차지하여 각 병동별로 한개 또는 두개의 우세군이 관찰되었다(Table 2). 한편 검체별 분포양상은 창상에서 분리된 43주중 14주(33%)가 II군이었으며 요검체

Table 4. Comparision of antimicrobial resistance and PFGE patterns for MRSA isolates

Antibiogram		No. of isolates with PFGE pattern:							
Resistance pattern	Group	I	II	III (III_A/III_B)	IV	V	VI	VII (VII_A/VII_B)	VIII
OxaTcCip	1						1		
OxaTcEmSxt	2							2 (2/0)	
OxaTcEmCmSxt	3	1	1				2	2 (0/2)	
OxaTcEmCmCip	4		1	3 (3/0)		1	1	1 (0/1)	
OxaTcEmCm	5			2 (1/1)					2
OxaTcEmCip	6		27	8 (2/6)	4	2	1	5 (5/0)	
OxaTcEm	7		8	8 (2/6)	1	3	2	4 (4/0)	
OxaTcSxt	8				1				
OxaTc	9		1	4 (1/3)	4	1	1		
OxaTcEmCmSxtCip	10							1 (0/1)	

Abbreviations: Cip, ciprofloxacin; Cm, clindamycin; Em, erythromycin; Oxa, oxacillin; Sxt, trimethoprim/sulfamethoxazole; Tc, tetracycline.

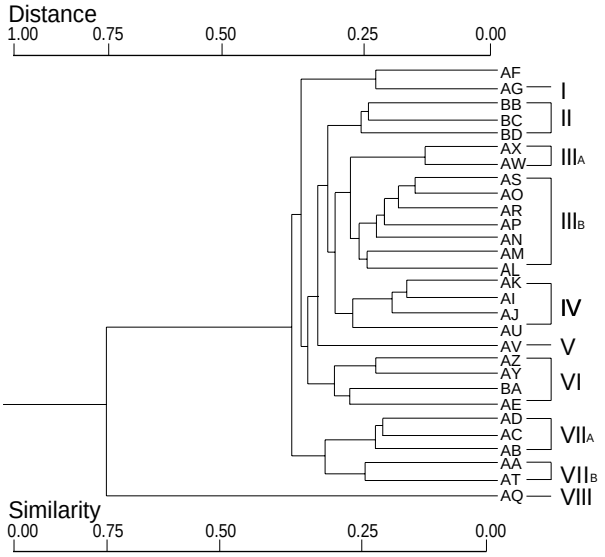

Fig. 3. Dendrogram between chromosomal digestion patterns of MRSA strains by PFGE grouped into I to VIII groups. AA to BD represent temporary headings for immediate classifications; AF is for *S. aureus* ATCC 25923.

의 50% (3/6)는 III군, 혈액(4주)은 II군(2주)와 VII군(2주)이 각각 50%를 차지하였고, 뇌척수액에서 분리된 2주는 모두 II군, 객담에서 분리된 27주중 14주(52%)는 II군에 속하였다. 이검체에서 분리된 15주는 II 및 III군이 각각 6주(40%)였다(Table 3).

2. 항균제 내성 유형분석

총 106균주는 10형으로 분류되었다(Table 4). 유형별 빈도는 제 6형이 47균주로서 44.5%를 차지하였는데, 이는 tetracycline, erythromycin 및 ciprofloxacin에 동시내성을 보이는 MRSA균주들이었다. 또 tetracycline과 erythromycin에 내성을 보이는 제 7형이 26주로서 24.5%를 차지하였다. 두 균주를 제외한 104균주(98.1%)에서 tetracycline에 내성을 보였으며, tetracycline에 감수성을 보이는 균주는 2균주에 불과하였다. 검사에 이용된 항균제 디스크 중 vancomycin 및 teicoplanin에 내성을 보이는 균주는 검출되지 않았다.

항균제 내성유형별 분류와 PFGE 유형을 비교한 결과 같은 항균제 내성유형을 보이는 균주라 하더라도 PFGE 유형이 서로 상이하게 나타났다. 항균제 내성유형 제6형은 57% (27/47)가 PFGE II군, 17% (8/47)가 III군, 11% (5/47)가 VII군이었다. 제 7형의 62% (16/26)가 PFGE II 및 III군으로 분류되었다(Table 4). 소아과 중환자실에서 분리된 균주의 경우 제 3, 6 및 9형으로 항균제내성유형을 보였고 외과 및 신경외과 중환자실 균주는 각각 6형이 80% 및 77%를 차지하였다. 검체별 항균제 내성유형의 비교분석에서 혈액은 제 2형과 6형, 뇌척수액은 모두가 6형, 객담의 경우 총 27균주 중 26균주가 6 및 7형에 해당하였으며 창상검체의 경우, 6, 7 및 3형 순으로 나타났다.

고 찰

원내 감염의 증가에 따라 여러 미생물들이 새로운 연구대상으로 나타나고 있으며, 그 중 치료법이나 약제가 제한되어 있는 일부 미생물들은 원내 감염의 차단이 중요한 문제로 떠오르고 있다. 특히 MRSA는 감염원이 병원내부인지 외부인지, 병원내부라면 감염원이 동일한지를 구분하여 감염원을 차단해야할 필요성이 있다. MRSA는 전 세계적으로 주된 원내 감염균의 하나이지만, 우리나라의 경우 MRSA의 빈도가 다른 선진국에 비해 훨씬 높아 MRSA에 대한 특별감시체계와 대책이 절실한 실정이다.

분자생물학적 기법을 이용한 MRSA 감염의 집단발생의 확인, 감염원의 확인, 감염경로의 확인 등에서 많은 연구가 있었고, 그 유용성에 대해서도 잘 알려져 있다[15-17]. MRSA 감염형태를 증명하는데 필수적인 사항이 균주간의 분별력이라고 할 수 있는데 MRSA는 균주상호간에 높은 유전적 연관성을 지니고 있기 때문에[5] 통상적인 방법으로는 균주간의 구별이 매우 힘들다. 따라서 항균제 내성양상, 박테리오파지 분석법, 협막형, 혈청형, 다방성 효소전기영동법 등의 표현형 검사와 플라스미드 분석법,

염색체 유전자제한분석법 등의 유전형 검사가 필요하다[18]. 최근 PFGE, 라이보형별법[19, 20]과, arbitrary primed PCR[21] 등의 여러 기법이 이용되고 있는데, 특히 모든 균주에 시행이 가능하며, 재현성, 분별력 해석이 용이성, 편이성 등이 뛰어난 PFGE 가 가장 분별력이 좋은 것으로 알려져 있다[13]. 또한 CDC (Centers for Disease Control and Prevention)에서도 가장 분별력이 높고, 모든 균주에 시행이 가능한 점, 시행과 해석의 용이성을 들어 지난 30년간 사용하던 박테리오파지 형별분류를 PFGE로 대치한다고 하였다[10]. PFGE의 결과분석을 위해서는 Tenover 등[22]의 기준이 이용되고 있으나 이러한 육안적 판별법은 판독자에 따라 오차가 있을 수 있고 객관성이 결여될 수 있다. 본 연구에서는 많은 수의 MRSA 균주의 PFGE 양상을 동시에 분석하기 위해 수치화된 자료를 이용한 통계기법중의 하나인 군집분석을 이용하여 보았다. 이 방법은 각 균주들의 동일성 여부를 판정하는 것이 보다 객관적이고 정확도 높은 역학분석법이라 할 수 있겠다. 이와 같은 군집분석을 위한 여러 가지 소프트웨어 및 프로그램들이 개발되어 있는데, NTSYS-PC, RAPDistance 및 Phylip 등의 프로그램이 상용되고 있다.

본원의 MRSA 유형의 역학적 분석을 위하여 PFGE을 실시한 결과, 병동, 중환자실 및 외래에서 또한 검체마다 특정한 PFGE 유형을 보이는 균주들이 발견된 것으로 보아 상당수의 동일 균주의 원내 전파가 있었음을 추정할 수 있었다. 특히 28가지 유형중 19가지 형이 두주이상의 균주에서 관찰된 소견은 이들 유형의 균중 의한 집단발생이 있었을 것으로 추정되므로, 이 균주들이 분리된 환자에 대한 역학적 연구와 해당 의료진에 대한 보균율 검사 및 일정 시기별 추적검사를 통하여 확인되어야 할 것으로 사료된다. 집단발생한 MRSA의 감염에서 PFGE법을 이용한 MRSA의 분자역학적 분석에 의하면 주로 2-3가지 유형이 전체 MRSA의 절대 다수를 차지하고 있다고 보고되었는데[19, 23], 이는 본 연구에서의 결과와 다소 일치된 소견을 보이므로 본원에서의 집단발생을 간접적으로 의미하는 결과로 추정된다.

원내감염의 역학적 형별분석을 위한 시도는 병원의 규모와 장비의 확보여부에 따라서 각기 병원의 사정에 적합한 역학적 분석법이 적용되어야 한다고 생각되는데 유 등[24]에 의하면 동시다발적 감염발생시 먼저 항균제내성유형을 조사한 다음 단시간내 완료할 수 있는 플라스미드형별을 실시한다면 미흡한 점을 감수하더라도 실용적인 면에서 가장 능률적일 것이라고 하였다. 보다 정확한 구별을 위해서는 PFGE를 나중에 실시하여 보완하여도 일차적인 검색 및 조치에는 큰 영향을 미치지 않을 것으로 보고하였으나 이러한 분자생물학적인 기법이 적용될 수 없는 시설이 미비한 병원의 경우에는 그 대안으로서 항균제 내성유형을 군집분석에 응용하자는 제안이 제기되고 있다[24, 25]. 디스크확산법의 결과로 나오는 항균제 내성유형 및 억제대 반경들을 자료화하여 군집분석을 실시하고 이 방법으로 얻은 성적들을 라이보형별법에 의한 성적과 비교해 본 결과 잘 일치하였다고 하였다[25]. 이 연구는 서 등[26]과 같이 항균제내성유형이 동일한 양상이더라도 PFGE에서 더 세분화되므로 항균제감수성검사 단독보다는 PFGE와 병행하는 것이 더 유용함을 확인할 수 있었다. PFGE의 단점중 하나인 장시간의 검사소요시간을 보완하여 최근 신속한 PFGE법으로 1일 이내에 PFGE형별이 가능한 변법[27]이 소개되고 있는데 조금 더 보완이 된다면 장비를 갖춘 검사실에서는 항균제 내성유형검사와 병행하지 않더라도 신속하게 변별력이 정확한 PFGE를 실시하여 감염균의 신속한 역학적 분석을 할 수 있으며 향후 병원 감염관리에 큰 도움이 될 것으로 사료된다.

요 약

배경 : 메티실린 내성 포도구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)은 병원감염을 흔히 일으키는 중요한 원인균이다. 이에 저자들은 1998년 1월부터 6월까지 동산의료원에서 분리된 MRSA 균주를 대상으로 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)법과 항균제 내성양상으로 MRSA의 분자역학적 분석을 실시하였다.

방법 : 임상검체에서 분리된 MRSA 106균주를 대상으로 *Sma*I 효소로 제한시킨 후 CHEF-DR III (Bio-Rad Co.)를 이용한 PFGE를 실시하였다. 항균제 감수성검사를 실시하여 내성유형을 분석하였고 그 유형에 따른 MRSA 유전자 형별을 비교하였다.

결과 : 106균주에서 28가지 PFGE 유형을 보였고 이 중 16가지 유형이 2주 이상(2-24주)에서 관찰되었다. 군집분석 결과 28가지 유형 중 16가지 유형이 유사도가 65% 이상이었으며, 이를 근거로 I군에서 VIII군까지 8군으로 나눌 수 있었다. 역학적 분석에서 II군은 창상 및 객담에서 주로 분리되었고, 늑막액과 요검체에서 분리된 균은 III군이 많았다. II군은 병동과 중환자실에서 주로 분리되었는데 병동의 경우 신경외과 분리균주의 40%, 정형외과 71%, 내과 60%에서 그리고 집중치료실 중 신경외과는 69%, 외과 및 내과 50%로 발견되었다. 항균제내성유형 분석상에서는 10형으로 분류되었으며 제 6형이 가장 많았으나 PFGE에 의한 계통분류와 비교한 결과 II, III 및 VII군이 관계하였다.

결론 : 본원에서 실시된 MRSA의 PFGE 분석결과, 동일하거나 유사한 클론에 의한 MRSA의 균주들이 다수 관찰되었다. 따라서 PFGE를 이용한 분자 역학적 계통분석은 MRSA의 동일클론의 균주를 검출하고 감염원과 감염 경로추적 등을 추적하는데 유용할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. **김미나, 정재심, 김봉철, 송재훈, 배직현.** 원내감염과 원외감염에서 분리된 원인균의 항균제 감수성 비교. 감염 *1993; 25: 333-42.*
2. **이경원, 정윤섭, 권오헌, 박홍성, 김준명.** 임상검체에서 분리된 세균

의 항생제 감수성. 대한화학요법학회지 *1993; 11: 158-68.*

3. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. *Hospital epidemiology. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld As, eds. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. St. Louis: Mosby, 1994: 39-50.*
4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Molecular methods for microbial identification and characterization. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld As, eds. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 10th ed. St. Louis: Mosby, 1998: 188-207.*
5. Lacey RW and Grinsted J. *Genetic analysis of methicillin-resistant strains of Staphylococcus aureus: evidence for their evolution from a single clone. J Med Microbiol 1973; 6: 511-26.*
6. **김선주, 김의종, 조한익.** 플라스미드 분석에 의한 메티실린 내성 황색포도구균의 역학적 조사. 대한임상병리학회지 *1992; 12: 347-54.*
7. **김의종, 김선주, 조한익.** 메치실린내성 황색포도상구균의 염색체 *DNA* 제한효소양상 및 라이보타이핑에 관한 연구. 대한임상병리학회지 *1992; 11: 413-8.*
8. **김혜란, 김명유, 정우영, 이정화, 이정녀.** 라이보타이핑을 이용한 *Methicillin* 내성 *Staphylococcus aureus*의 역학적 조사. 대한임상병리학회지 *1997; 17: 448-58.*
9. Blumberg HM, Rimland D, Kiehlbauch JA, Terry PM, Wachsmuth IK. *Epiemiologic typing of Staphylocuccus aureus by DNA restriction fragment length polymorphisms of rRNA genes: elucidation of the clonal nature of a group of bacteriophage-nontypable, ciprofloxacin-resistant, methicillin-susceptible S. aureus isolates. J Clin Microbiol 1992; 30: 362-9.*
10. Bannerman TL, Hancock GA, Tenover FC, Miller JM. *Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 1995; 33: 551-5.*
11. Partis L and Wells RJ. *Identification of fish species using random amplified polymorphic DNA(RAPD). Mol Cell Probes 1996; 10: 435-41.*
12. Ishii T, Nakano T, Maeda H, Kamijima O. *Phylogenetic relationships in A-genome species of rice as revealed by RAPD analysis. Genes Genet Syst 1996; 71: 195-201.*
13. Arbeit RD. *Labortory procedure for the epidemiologic analysis of microoganisms. In: Muray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington, DC: American Society of Microbiology Press, 1995: 190-208.*
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrbial susceptibility testing. Eighth informational supplement. M100-S8. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1998.*
15. Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS, Standiford HC, John JF, Korvick JA, *et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a consensus review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with implications for prevention and management. Am J Med 1993; 94: 313-28.*
16. Haley RW, Cushion NB, Tenover FC, Bannerman TL, Dryer D, Ross J, *et al. Eradication of endemic methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections from a neonatal intensive care unit. J Infect Dis 1995; 171: 614-24.*
17. Kluytmans J, van Leeuwen W, Goessens W, Hollis R, Messer S, Herwaldt L, *et al. Food-initiated outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus analyzed by pheno-and genotyping. J Clin Microbiol 1995; 33: 1121-8.*
18. Fang FC, McClelland M, Guiney DG, Jackson MM, Hartstein AI, Morthland VH, *et al. Value of molecular epidemiologic analysis in a nosocomial methicillin-resistant Staphylococcus aureus outbreak. J Am Med Assoc 1993; 270: 1323-8.*
19. **김재석, 김의종, 기창석, 이남용.** 병원감염의 집단발생을 증명하기 위한 메치실린내성 황색포도구균의 분자생물학적 분류. 병원감염관리 *1996; 1: 63-72.*
20. 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.*
21. Saulnier P, Bourneix C, Prevost G, Andremont A. *Random amplified polymorphic DNA asay is less discriminant than pulsed-field gel electrophoreis for typing strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 1993; 31: 982-5.*
22. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DA, *et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33: 2233-9.*
23. **김의종, 송은영, 이환종, 오향순, 최강원.** 신생아중환자실에서 집단발생한 메치실린내성 황색포도구균 감염증의 분자역학적 조사. 대한임상병리학회지 *1998; 18: S522.*
24. **유진홍.** 병원감염관리에서 *Molecular epidemiologic typing*의 활용. 병원감염관리 *1997; 2: 61-71.*
25. Blanc DS, Petignat C, Moreillon P, Wenger A, Bille J, Francioli P. *Quantitative antibiogram as a typing method for the prospective epidemiological surveillance and control of MRSA: comparison with molecular typing. Infect Control Hosp Epidemiol 1996; 17: 654-9.*
26. **서을주 및 배직현.** 중환자실에서 분리된 *methicillin* 내성 포도상구균의 분자역학적 조사. 대한임상병리학회지 *1996: 16: 510-27.*
27. **김미나, 박준석, 정재심, 최정실, 피수영, 배직현.** 신속한 *Pulsed field gel electrophoresis*법에 의한 메치실린 내성 *Staphylococcus aureus*의 분자적 형별분석. 대한임상병리학회지 *1998; 18: S488.*