

Methicillin 내성 황색포도구균(MRSA)을 검출하기 위한 여러 가지 검사법의 임상적 유용성 평가

이혜수, 임 현

전북대학교 의과대학 진단검사의학교실, 의과학연구소

Evaluation of Various Methods for Detection of Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Hye Soo Lee, Hyun Lim

Department of Laboratory Medicine, Chonbuk National University Medical School, and Institute for Medical Sciences, Chonju, Korea

Background: Traditional antimicrobial susceptibility test methods for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) require 24 hours to perform. In addition, accuracies of these methods can be influenced by prevalence of strains that express heterogeneous resistance. The mechanism of methicillin resistance in *S. aureus* is based on the production of an additional low-affinity penicillin binding protein (PBP 2a), which is encoded by *mecA* gene. Therefore, PCR for *mecA* gene and immunological methods for PBP 2a could be used to determine resistance, but most clinical laboratories do not have resources to efficiently perform these technique on routine basis. Recently, slide latex agglutination test using latex particles sensitized with a monoclonal antibody against PBP 2a for the direct detection of PBP 2a was developed. In this study, we evaluated this new latex agglutination test, and compared to oxacillin disk diffusion test and PCR detection of *mecA* gene for detection of MRSA.

Methods: A total 151 clinical isolates of coagulase positive *S. aureus* were selected. All isolates were subjected to "blinded" testing with oxacillin disk diffusion, PBP 2a latex agglutination, and *mecA* PCR for detection of MRSA.

Results: Of 151 *S. aureus*, 116 (76.8%) strains were MRSA. The sensitivities and specificities of disk diffusion, latex agglutination and PCR were 94.0 and 91.4%, 97.4 and 100%, 98.3 and 100%, respectively.

Conclusions: PCR for detection of *mecA* gene and latex agglutination test for PBP 2a are more sensitive and specific methods for detection of MRSA than oxacillin disk diffusion test. Latex agglutination test is rapid, simple, and easier to perform than PCR. In conclusion, PBP 2a detection with latex agglutination test has the potential to be used for routine applications in the microbiology

서 론

창상감염, 폐렴, 패혈증 등 병원감염의 주요 원인균인 methicillin 내성 황색포도구균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)은 주로 *mecA* 유전자에 의하여 생성된 변형된 페니실린 결합 단백질(altered penicillin binding protein, PBP 2a, PBP 2')으로 인하여 penicillin, cephalosporin, carbapenem 등 모든 β -lactam제에 내성을 일

접수번호 : CM 5-02-05

교신저자 : 이혜수

(561-712) 전북 전주시 덕진구 금암동 634-18

전북대학교 의과대학 진단검사의학교실

Tel : 063) 250-1218 Fax : 063) 250-1200

E-mail : leehs@moak.chonbuk.ac.kr

이 논문은 1999년도 전북대학교 연구기반조성 연구비에 의하여 연구되었음

laboratory where *mecA* gene detection with PCR is not readily available.

(*Korean J Clin Microbiol* 2002;5:105-110)

Key words : MRSA, oxacillin, PBP 2a, *mecA*, disk diffusion, latex agglutination, PCR.

으키며, macrolide, clindamycin, tetracyclin, aminoglycoside 등 다른 계열의 항균제에도 내성을 보이는 다약제 내성균으로, 적절한 항균제 선택 및 원내감염의 관리를 위해서 정확하고 신속한 균 동정 및 항균제 감수성검사가 필수적이다[1, 2].

MRSA의 정확한 동정방법으로는 분자생물학적 검사 방법인 DNA probe나 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)을 이용하여 *mecA* 유전자를 직접 검출하는 방법과[3-5], immunoblotting이나 immunoradiometric assay(IRMA)를 이용하여 *mecA* 유전자의 산물인 PBP 2a를 검출하는 방법[6-8] 등이 있으나, 특수장비나 고가의 시약, 복잡한 검사수기 및 검사시간 등 제반 여건이 일반 검사실에서 통상적으로 이용하기에는 적합하지 않으며, 그 동안 전통적으로 사용해 왔던 항균제 감수성 검사법은 배양 시간만도 24시간이 소요되고 배지의 종류나 배양조건에 따라 내성 발현에 차이를 보이기 때문에 신속하고 정확한 결과를 기대하기는 어렵다.

최근 Nakatomi와 Sugiyama는 균 집락에서 추출한 PBP 2a와 이에 대한 단클론 항체를 감작시킨 라텍스입자를 반응시켜 응집반응을 관찰함으로써 MRSA를 검출할 수 있는 새로운 라텍스 응집법을 개발하였는데[9], 이는 특별한 장비가 필요치 않고 신속하고 간편하게 MRSA를 동정할 수 있어 일반 미생물 검사실에서 통상적으로 사용할 수 있는 검사법으로 평가되고 있다[10-15].

이에 저자들도 임상 검체에서 분리된 포도구균들을 대상으로 기존의 디스크 확산법에 의한 항생제 감수성 검사, 라텍스 응집법에 의한 PBP 2a의 검출, 그리고 중합효소연쇄반응에 의한 *mecA* 유전자의 검출을 시행하여 MRSA의 검출율을 비교, 평가하였다.

재료 및 방법

연구대상 : 시험관법에 의한 coagulase시험 양성인 황색 포도구균 151 균주를 대상으로 하였다. 실험 균주는 20%의 skim milk에 분주하여 -70℃에 냉동보관 하였으며, 실험 하루전에 5% 면양혈액 한천배지에 계대 배양하였다.

항균제 감수성검사 : Oxacillin 디스크(1 µg, Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) 확산법을 이용하였으며, NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 지침에 따라 시행하였다. 즉, 세균을 식염수에 풀어 탁도를 McFarland 0.5에 맞춘 후 Muller-Hinton 배지에 접종하고 oxacillin 디스크를 올려놓은 후, 35℃ 배양기에서 24시간 배양한 후 억제대의 크기가 13mm 이상이면 감수성, 10mm이하이면 내성으로 판정하였다.

PBP 2a 검출 : PBP 2a의 검출은 라텍스 응집법인

MRSA-Screen (Denka Seiken, Tokyo, Japan)을 이용하여 제조사의 지시에 따라 시행하였다. 즉, 5% 면양혈액한천배지에서 자란 집락 한 루프(3-4집락)를 4방울의 1차 추출액이 담겨있는 작은 원심 분리관(microcentrifuge tube)에 넣고 혼합시킨 다음, 끓는 물에 넣어 3분간 가온하고 실온에서 식혔다. 여기에 한 방울의 2차 추출액을 가하여 혼합한 후, 1,500 g에서 5분간 원심시켜 상층액 50µL를 응집 판의 양쪽 원 안에 떨어뜨린 다음 한쪽에는 단클론성 항체를 감작시킨 라텍스액을, 다른 쪽에는 음성 대조 라텍스액을 떨어뜨리고, 3분 동안 교반기 위에서 흔들면서 응집여부를 관찰하였다. 대조 균주로는 본원에서 분리된 *mecA* 양성 MRSA를 양성 대조로, 표준균주인 *S. aureus* ATCC 25923을 음성 대조로 이용하였다.

***mecA* 유전자 검출** : *mecA* 유전자 검출을 위한 PCR은 MRSA primerMix kit(제노텍, 대전, 한국)를 이용하여 제조사의 지시대로 시행하였다. 즉, 50µL의 세포용해 완충액이 들어 있는 작은 원심분리관에 5% 면양혈액 한천배지에서 자란 2-3개의 집락을 풀고, 끓는 물에 10분간 넣어 실온에서 식힌 다음, 13,000 rpm에서 10분간 원심시킨 후 상층액을 주형 DNA로 이용하였으며, 추출한 DNA용액 2 µL와 *mecA* primermix (*mecA1*, 5' - ATG AGA TTA GGC ATC GTT CC-3' 와 *mecA2*, 5' - TGG ATG ACA GTA CCT GAG CC-3') 2 µL, 5x PCR mastermix (Taq DNA polymerase, dNTP, reaction buffer) 4 µL, 8-MOP 12 µL 등 총 20 µL의 반응액을 만들어 PCR에 이용하였다. PCR은 GeneAmp PCR system 2400 thermocycler (Perkin Elmer, Roche, Singapore)를 이용하였으며, 94℃에서 5분간의 전변성(predenaturation)을 거쳐, 94℃ 1분 변성, 55℃ 1분 결합, 72℃ 1분 연장과정의 PCR을 30회 실시한 후 72℃에서 5분간의 후연장(postextension)을 시행하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 자외선 투영기 위에서 554 bp의 band를 확인하였으며, 본원에서 분리된 *mecA* 양성 균주를 양성 대조로, 표준균주인 *S. aureus* ATCC 25923을 음성 대조로 이용하였다.

결 과

황색포도구균의 methicillin내성과 관련하여, 디스크 확산법에 의한 oxacillin 감수성 검사, 라텍스 응집법인 MRSA screen에 의한 PBP 2a, 그리고 PCR에 의한 *mecA* 유전자 검출율에 대한 결과는 Table 1에 요약하였다. 즉, 총 151 균주 중 oxacillin 디스크 확산법에서 내성을 보인 균주는 112예(74.2%)이었고, PBP 2a가 양성인 균주는 113예(74.8%), *mecA* 유전자가 양성인 균주는 114예

Table 1. Results of testing 151 *S. aureus* with disk diffusion susceptibility for oxacillin, latex agglutination for PBP 2a, and PCR for *mecA* gene

	No. of positive	(%)	No. of negative	(%)
Oxacillin disk	112	74.2%	39	25.8%
PBP 2a LA	113	74.8%	38	25.2%
<i>mecA</i> PCR	114	75.5%	37	24.5%

Abbreviations: LA, latex agglutination test.

Table 2. Patterns of results of disk diffusion susceptibility for oxacillin, latex agglutination for PBP 2a and PCR for *mecA* gene, and their interpretation in 151 *S. aureus* clinical isolates

Patterns	Oxacillin disk	PBP 2a LA	<i>mecA</i> PCR	No. of isolates	Final Interpretation [†]
Concordance (n=137)*	Resistant	Positive	Positive	105	MRSA
	Susceptible	Negative	Negative	32	MSSA
Discrepancy (n=14)*	Susceptible	Positive	Positive	6	MRSA
	Resistant	Negative	Positive	2	MRSA
	Susceptible	Negative	Positive	1	MRSA
	Resistant	Positive	Negative	2	MRSA
	Resistant	Negative	Negative	3	MSSA

* Concordance rate of oxacillin disk diffusion, latex agglutination for PBP 2a and *mecA* gene PCR is 90.7%, and discrepancy rate of these three methods is 9.3%.

† 116/151 strains(76.8%) are MRSA, and 35/151(23.2%) are MSSA.

Abbreviations: MRSA methicillin resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin susceptible *S. aureus*

Table 3. Comparisons of sensitivity and specificity of the disk diffusion susceptibility for oxacillin, latex agglutination test for PBP 2a, and PCR for *mecA* gene in 151 *S. aureus* clinical isolates*

	MRSA(n=116)			MSSA(n=35)		
	TP	FN	Sensitivity	TN	FP	Specificity
Oxacillin disk	109	7	94.0%	32	3	91.4%
PBP 2a LA	113	3	97.4%	35	0	100%
<i>mecA</i> PCR	114	2	98.3%	35	0	100%

* In case of discrepancies among these three methods, MRSA and MSSA are interpreted as Table 2.

Abbreviation: TP, true positive; FN, false negative; TN, true negative; FP, false positive.

(75.5%)이었다.

세 방법 간의 일치율은 137예로 90.7%이었으며, *mecA* 유전자와 PBP 2a가 양성이고 oxacillin에 내성인 MRSA가 105예, *mecA* 유전자와 PBP 2a가 음성이고 oxacillin에 감수성인 methicillin 감수성 황색포도구균(methicillin susceptible *S. aureus*, MSSA)이 32예이었다(Table 2). 세 방법 간에 불일치를 보이는 경우는 14예(9.3%)로, 그 양상은 Table 2와 같이 구분되었으며 다음과 같이 판정하였다. 즉, *mecA* 유전자와 PBP 2a가 양성인데 oxacillin에 감수성인 6예와, *mecA* 유전자는 음성이나 PBP 2a가 양성이고, oxacillin에 내성을 보인 2예, *mecA* 유전자가 양성이고 oxacillin에 내성이며 PBP 2a에는 음성인 2예, 그리고 *mecA* 양성이나 oxacillin에 감수성이고 PBP 2a가 음성인

1예는 MRSA로 해석하였으며, *mecA* 유전자와 PBP 2a가 음성인데 oxacillin에 내성을 보인 3예는 methicillin 감수성 황색포도구균(methicillin susceptible *S. aureus*, MSSA)으로 해석하였다.

이상의 판정 결과를 종합해 볼 때 MRSA는 116예로 76.8%이었으며, 이를 기준으로 한 예민도와 특이도는 디스크 확산법, 라텍스 응집법, PCR 순으로 각각 94.0와 91.4%, 97.4%와 100%, 98.3%와 100%를 보여 PCR, 라텍스응집법, 디스크 확산법 순으로 우수하였다(Table 3).

고 찰

MRSA는 병원감염의 주요 원인균으로 균혈증이나 심

내막염 등의 중증감염을 흔히 일으킨다. MRSA는 1960년대에 처음 보고된 뒤 전 세계적으로 급격히 증가되고 있으며[1, 2], 특히 우리나라에서의 증가율은 매우 심각한 상태로 1997년도 우리나라 전역을 대상으로 조사한 보고에 의하면 황색포도구균의 70% 이상이 MRSA이다[16].

포도구균의 methicillin 내성기전은 β -lactamase의 과잉생성과 penicillin binding protein (PBP)의 다량생성, 그리고 *mecA* 유전자에 의한 PBP 2a의 생성 등의 3가지로 나눌 수 있으며, 각각의 내성 기전에 따라 내성을 나타내는 항균제가 다르므로 적절한 항균제의 선택을 위해서는 정확한 내성기전의 규명이 필요하다. 즉, *mecA* 유전자를 가지지 않는 경우에는 methicillin 이외의 β -lactam제나 다른 계열의 항균제에 대부분 감수성이지만, *mecA* 유전자에 의한 MRSA는 모든 β -lactam제 및 다른 계열의 항균제에도 내성을 보이는 다약제 내성인 경우가 대부분이어서 vancomycin과 같은 glycopeptide계의 투여가 불가피한 경우가 많아 vancomycin에 대한 내성 균주를 유발시키는 원인이 되고 있다[17-20].

MRSA는 methicillin에 대한 내성표현의 방법에 따라서 균주가 모두 내성을 보이는 homogeneous형과 일부의 세포가 내성을 보이는 heterogeneous형으로 구분되는데, heterogeneous형은 세포들이 나타내는 내성세포의 수와 내성수준에 따라 class 1, 2, 3로 분류되며[21], 배양조건이나 사용된 β -lactam제의 종류에 따라 내성 발현정도가 달라진다. 우리나라의 경우 이전의 보고에 의하면 대부분 homogeneous형이었으나[22], 최근에는 homogeneous형과 heterogeneous형이 약 반반으로 heterogeneous형이 증가되고 있는 추세로[15], MRSA의 정확한 동정이 더욱 더 절실한 형편이다.

현재 일반 검사실에서 시행하는 methicillin 내성 검사는 penicillinase에 안정한 penicillin, 즉 methicillin 등에 내성이 있는지를 보기 위한 phenotypic method로, methicillin보다 안정한 oxacillin을 사용한 디스크 확산법이나 미량희석법이 주로 이용되는데, 위에서 언급한 대로 heterogeneous형의 경우에는 내성 발현이 안 될 수도 있기 때문에 감수성으로 오인하기 쉽다. 따라서 내성발현을 촉진하기 위해서 배지의 종류나 배양온도, 배양시간, 접종 균수, NaCl의 농도 등 여러 가지 조건을 변화시키면서 시험하고 있으나, 예민도 및 특이도가 보고자마다 다양하고, 일정기간의 배양시간이 필요하기 때문에 신속한 결과를 기대하기가 어렵다[1, 2].

한편, 대부분의 MRSA는 methicillin 내성 발현유전자인 *mecA* 유전자에 의한 것으로, PCR에 의한 *mecA* 유전자의 검출은 MRSA의 가장 정확한 검사법으로 알려져 있으며[3-5, 23-27], MRSA의 여러 가지 다른 동정법들을 비교하는데 gold standard로 이용되고 있다[10-15]. 또한 Western immunoblotting이나 immunoradiometric assay(IRMA)과 같은 면역학적 방법에 의하여 *mecA* 유전자의 생성물인 PBP 2a를 검출하는 것도 MRSA를 동정할 수 있는 좋은

방법으로 알려져 있으나, 방법이 복잡하고 특수한 장비나 기술이 요구되기 때문에 연구 목적 외에는 이용되지 못하고 있었다.

최근, Nakatomi와 Sugiyama는 균 집락에서 알칼리를 이용하여 간단히 PBP 2a를 추출하고, 이를 단클론 항체로 감작시킨 라텍스입자와 반응시켜 슬라이드 상에서 응집반응을 관찰하여 MRSA를 동정할 수 있는 라텍스 응집법을 개발하였는데[9], 이는 특수한 장비가 따로 필요치 않으며, 육안적 관찰에 의해 응집여부를 쉽게 관찰할 수 있고, 검사 과정이 15분 정도로 신속하고 간편하게 시행할 수 있는 장점이 있어, 일반 미생물 검사실에서도 통상적으로 사용할 수 있는 검사법으로 평가되고 있다[10-15].

본 연구에서는 임상 검체에서 분리된 황색포도구균을 대상으로 디스크 확산법에 의한 oxacillin 내성율, 라텍스 응집법에 의한 PBP 2a의 검출율, 그리고 PCR에 의한 *mecA* 유전자 검출율을 비교한 바, 각각 74.2, 74.8, 75.5%로 각각의 검출율에 큰 차이는 보이지 않았다. 그러나 세 가지 방법을 종합하여 최종 판정된 MRSA는 116예로 76.8%이었으며, 이를 기준으로 할 때 디스크 확산법은 예민도와 특이도가 94.0%와 91.4%인 반면, 라텍스 응집법은 97.4%와 100%, PCR법은 98.3%와 100%로 디스크 확산법에 비하여 라텍스 응집법과 PCR의 민감도와 특이도가 높았다. 본 평가는 다른 보고자들의 성적과 유사한 결과이나, 다른 보고자들이 PCR을 gold standard로 하여 다른 검사들을 평가한 것과는 기준이 다른데, 이는 PCR도 오류가 있을 수 있기 때문에 본 연구에서와 같이 모든 상황을 종합하여 판단하고, 그 결과를 평가기준으로 하는 것이 타당하다고 생각된다.

본 연구에서 세 가지 방법에서 서로 상이한 결과를 보이는 경우는 14예로 9.3%에 달했는데, *mecA* 유전자와 PBP 2a는 양성인 반면 oxacillin에 감수성인 경우가 6예로 가장 많았으며, 이 경우 디스크 확산법의 위음성으로 판단하였다. 또한 *mecA* 유전자는 검출되나 PBP 2a가 음성이고, oxacillin에 감수성을 보이는 균주가 1예 있었는데, 이런 결과에 대해 Nakatomi 및 Sugiyama는 PCR법의 위양성으로 해석하였고[10], Saito 등은 실제적으로 약제내성을 유도하는 기능성 단백질인 PBP 2a를 검출하는 것이 *mecA* 유전자를 검출하는 것보다 MRSA를 확진하는데 더 유용하다고 하여 PBP 2a의 중요성을 강조하였다[8]. 그러나 Griethuysen 등은 MIC가 낮은 균주에서 적은 양의 PBP 2a가 생성되기 때문에 발생하는 현상이라 하였고[10], Leeuwen 등은 이런 균주를 methicillin을 함유하는 디스크가 들어있는 배지에서 하룻밤을 배양한 후 억제대 안이나 억제대 주위에서 내성이 유도된 집락을 이용하여 다시 반응시켰을 때 양성으로 전환되는 것을 관찰하고 *mecA* 유전자의 transcription이 억제된 때문이라 하였으며[11], Murakami 등은 시험 당시는 내성이 발현되지 않았더라도 *mecA* 유전자가 있을 경우에는 β -lactam제를 쓰는

동안 내성이 발생할 가능성이 있으므로 MRSA로 해석해야 한다고 하였다[4].

다른 불일치 예로는 *mecA* 유전자 양성이고 oxacillin에 내성인데 PBP 2a에는 음성인 경우가 2예 있었는데, 라텍스 응집법의 경우 균주에 따라서는 시험균의 양이 적거나, 반응시간이 짧을 경우에도 위음성을 초래할 수 있는 바, 시험균의 집락을 충분히 취하고, 응집여부가 의심되면 반응시간을 더 연장하는 것이 필요하나[10, 14], 시험균의 양이 너무 많을 경우에는 오히려 위양성을 초래할 수 있으므로 적정량의 집락을 이용하여야 한다고 하였다[12]. 아울러 라텍스 응집법의 추출과정에서 underheating에 의한 위양성과 overheating에 의한 위음성이 나오지 않도록 boiling시간을 엄수하여야 하며, 가능하면 boiling보다는 heating block을 이용하는 것이 더 바람직하다고 한다[13]. 또한 라텍스 응집법과 디스크 확산법에서는 MRSA로 해석되나, *mecA* 유전자가 검출되지 않은 2예는 PCR 위음성으로 생각할 수 있었으며, 원인으로는 시험균의 양이 너무 적거나 *mecA* 유전자의 변이에 의해 시발체의 증폭이 일어나지 않는 것으로 추측할 수 있다. 또한 *mecA* 유전자와 PBP 2a가 음성인데 oxacillin에만 내성을 보인 경우도 2예가 있었는데, 이런 경우 특히 *mecA* 유전자나 PBP 2a를 검출하여 확인하는 것이 필요하리라 생각된다.

한편, 검사방법에 따른 장단점으로, 디스크 확산법은 현재 대부분의 검사실에서 다른 항균제에 대한 감수성 검사와 병행하기 때문에 별도의 기구나 장비가 필요 없는 것이 장점이나, 24시간의 배양시간이 소요되므로 신속한 결과를 보낼 수는 없는 반면, 라텍스 응집법은 검사에 필요한 특수 장비가 없고, 육안적으로 판독할 수 있으며, 검사의 전 과정을 15분 내에 완료할 수 있는 장점이 있으나, 별도의 시약을 따로 구입해야 하는 단점이 있다. PCR은 예민도와 특이도가 가장 높은 검사법으로 특수한 장비 및 시약을 구입하여야 하고, 핵산의 추출과 증폭 및 전기영동 등 여러 단계의 검사과정에 수 시간이 소요되는 단점이 있으나, 이미 PCR이 가능한 검사실에서는 *mecA* 유전자를 검출하여 MRSA를 확인하는 것이 타당하리라고 생각된다.

결론적으로, MRSA의 신속하고 정확한 동정을 위해서는 현재 시행하고 있는 oxacillin 감수성 검사보다는 더 정확하고 간편하며, 신속한 라텍스 응집법을 이용하여 PBP 2a를 검출하는 것이 더 유용할 것으로 생각되며, 가능하면 PCR에 의한 *mecA* 유전자의 검출을 병행함으로써 보다 더 정확하게 MRSA를 동정하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

요 약

배 경 : 미생물 검사실에서 methicillin내성 황색포도구균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)의

동정은 주로 항균제 감수성 검사에 의하여 이루어지고 있으나 이는 내성발현이 어려운 heterogeneous형에서는 배양조건에 따라 위감수성을 보일 수 있고, 감수성검사를 위한 배양시간이 소요되기 때문에 정확하고 신속한 MRSA의 검출을 기대하기는 어렵다. MRSA의 정확한 검출방법은 MRSA의 유전자인 *mecA* 유전자나 그 생성물인 low-affinity penicillin binding protein (PBP 2a)을 검출하는 방법이나 특수한 장비가 필요하고 방법이 복잡하여 통상적인 검사로 이용하기는 어렵다. 그러나 최근 PBP 2a를 라텍스 응집법으로 신속하고 간편하게 검출할 수 있는 방법이 개발되었기에 현재 시행하고 있는 oxacillin 감수성검사와 새로 개발된 라텍스 응집법에 의한 PBP 2a의 검출, 그리고 PCR에 의한 *mecA* 유전자의 검출을 시행하고 그 유용성을 비교, 평가하였다.

방 법 : 임상 검체에서 분리된 일련의 황색포도구균 151 균주에 대하여 oxacillin 디스크를 이용한 항균제 감수성 검사, 라텍스 응집법에 의한 PBP 2a의 검출, 그리고 PCR에 의한 *mecA* 유전자의 검출을 시행하여 각각의 MRSA의 검출율을 구하였다. 최종 MRSA의 판정은 세 가지 방법을 종합하여 객관적으로 평가하여 판정하였으며, 이를 기준으로 각 검사법에 대한 예민도, 특이도를 산출하였다.

결 과 : 총 151 균주의 황색포도구균 중 oxacillin 디스크 확산법, PBP 2a 라텍스 응집법, *mecA* PCR에 의한 MRSA는 각각 74.2(112/151), 74.8(113/151), 75.5(114/151)%이었으나, 세 방법의 종합판정 결과, 76.8%(116예)가 MRSA이었다. 최종결과를 기준으로 한 각 검사방법의 예민도와 특이도는 디스크 확산법, 라텍스 응집법, PCR 순으로 각각 94.0%와 91.4%, 97.4%와 100%, 98.3%와 100%이었다.

결 론 : MRSA의 검출에 있어 oxacillin 디스크 확산법 보다는 PBP 2a 라텍스 응집법이나 *mecA* PCR이 예민도와 특이도가 우수하였다. 따라서 MRSA의 신속하고 정확한 동정을 위해서는 oxacillin 감수성 검사보다는 더 정확하고, PCR보다는 신속, 간편한 라텍스 응집법을 이용하여 PBP 2a를 검출하는 것이 더 유용할 것으로 생각되며, 가능하면 PCR에 의한 *mecA* 유전자의 검출을 병행함으로써 보다 더 정확하게 MRSA를 동정하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. 정윤섭 및 이경원. 그람양성세균과 그람음성구균의 항균제 내성. 서울, 서흥출판사 1998:51-91-2.
2. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:781-91.
3. Archr GL and Pennell E. Detection of methicillin resistance in staphylococci by using a DNA probe.

- Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:1720-4.
4. Murakami K, Minamide W, Weda K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus* by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;29:2240-4.
 5. Ubukata K, Nakagami S, Nitta A, Yamane A, Kawakami S, Sugiura M, et al. Rapid detection of the *mecA* gene in methicillin-resistant staphylococci by enzymatic detection of polymerase chain reaction products. *J Clin Microbiol* 1992;30:1728-33.
 6. O' Hara DM and Reynold PE. Antibody used to identify penicillin binding protein 2' in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*(MRSA). *FEBS Lett* 1987;212:237-41.
 7. Gerberding JL, Mick C, Liu HH, Chambers HF. Comparison of conventional susceptibility tests with direct detection of penicillin-binding protein 2' in borderline oxacillin resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:2574-9.
 8. Saito M, Sekiguchi K, Yajima R, Hina M, Doss RC, Kanno H. Immunological detection of penicillin-binding protein 2' of methicillin-resistant staphylococci by using monoclonal antibodies prepared from synthetic peptides. *J Clin. Microbiol* 1995;33:2498-500.
 9. Nakatomi Y and Sugiyama. A rapid latex agglutination assay for the detection of penicillin-binding protein 2' . *J Microbiol Immunol* 1998;42:739-43.
 10. van Griethuysen A, Pouw M, van Leeuwen N, Heck M, Willemse P, Buiting A, et al. Rapid slide latex agglutination test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1999;37:2789-92.
 11. van Leeuwen WB, van Pelt C, Luijendijk A, Verbrugh HA, Goessens WHF. Rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by the MRSA-Screen latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 1999;37:3029-30.
 12. Cavassini M, Wenger A, Jatton K, Blanc DS, Bille J. Evaluation of MRSA-Screen, a simple Anti-PBP 2a slide latex agglutination kit, for rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1999;37:1591-4.
 13. Marriott DJE, Karagiannis T, Harkness JL, Kearney P, Cavassini M, Wenger A, et al. Further evaluation of the MRSA-Screen kit for rapid detection of methicillin resistance. *J Clin Microbiol* 1999;37:3783-4.
 14. Louie L, Matsumura SO, Choi E, Louie M, Simor AE. Evaluation of three rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2000;38:2170-3.
 15. 박연준, 오은지, 윤정숙, 이승욱, 나영주, 박정준 등. Methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 신속한 검출을 위한 latex agglutination test의 평가. 대한임상병리학회지 1999;19:667-71.
 16. Chong Y, Lee K, Park Y, Jeon DS, Lee MH, Kim MY, et al. Korean Nationwide surveillance of antimicrobial resistance in 1997. *Yonsei Med J* 1998;39:569-77.
 17. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:135-6.
 18. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N Engl J Med* 1999;340:517-23.
 19. Trakulsomboon S, Danchaivijitr S, Rongrungruang Y, Dhiraputra C, Susaemgrat W, Ito T, et al. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Thailand. *J Clin Microbiol* 2001;39:591-5.
 20. Mim MN, Pai CH, Woo JH, Ryu JH, Hiramatsu K. Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. *J Clin Microbiol* 2000;38:3879-81.
 21. Tomasz A, Nachman S, Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:124-9.
 22. 도윤정, 조상래, 정윤섭, 이삼열. 임상검체에서 분리된 Methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 성장. 대한임상병리학회지 1991;11:425-34.
 23. 김정만, Kubo N, Sakurabayashi I. PCR법을 이용한 MRSA 신속 검사법에 관한 임상적 평가. 대한임상병리학회지 1993;13:387-93.
 24. 박애자, 장은아, 김혜련. 포도구균에서의 *mecA*, *femA* 및 *femB* 유전자 검출. 대한임상병리학회지 1997;17:459-65.
 25. 길윤경, 정진홍, 임찬빈, 신연식, 구선희. 중합효소연쇄반응을 이용한 메티실린 내성 황색포도구균의 동정에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1997;17:581-7.
 26. 안지영, 김원배, 이동화, 이경원, 최석호, 김일수 등. Methicillin 내성 포도구균의 *mecI*, *mecA* 및 *femA* 유전자에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1999;19:62-9.
 27. 이희주, 김영식, 김지수, 조용현, 이광길, 서진태 등. Methicillin 내성포도구균의 *mecA*, *femA* 및 항균제 내성에 관한 연구. 대한임상병리학회지 2001;21:45-8.