

부산지역 환자로부터 분리된 Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)의 응고효소형 및 항균제 내성에 관한 연구

류지한 · 이훈구

부경대학교 미생물학과

부산시 동아대학병원으로 내원한 83명의 환자 가검물로부터 methicillin 내성 *Staphylococcus aureus* (MRSA) 88 균주를 분리하고 응고효소의 유형별 분석과 다약제 내성의 상호 관계를 연구하였다. 농 (64.7%), 객담 (26.2%), 기타 혈액, 장액 및 뇨로부터 균주가 분리되었고 *mec A* 유전자에 특이적인 primer 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3'와 5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTC-3'를 사용하여 PCR을 한 결과 86균주에서 *mec A* 유전자가 확인되었다. 응고효소형은 제 III형이 50%, IV형이 12.5%, III형이 6.8%, I, VII, VIII형이 4.5%로 제 II형이 가장 많았으며 제 V형은 전혀 분리되지 않았다. 응고효소형의 병동별 분포는 일반외과에서 제 II형이, 이비인후과 외래에서는 제 IV형이 우점종으로 분리되었다. 항균제 감수성 시험결과, vancomycin과 teicoplanin에서 전균주가 감수성을 나타내었고 penicillin, cephalothin, erythromycin, gentamycin, imipenem, clindamycin, ciprofloxacin과 oxacillin 등 8가지의 항균제에 대하여 동시내성을 나타낸 균주가 71주(81%)였다. 항균제 내성과 응고효소형과의 상관관계는 없었다.

Key words □ coagulase typing, *mec A* gene, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Staphylococcal Scalded Skin Syndrom (SSSS), *Staphylococcus aureus*.

반합성 항균제인 methicillin은 주로 β -lactam제 내성인 *Staphylococcus aureus*의 억제제로서 만들어졌다. 그러나 methicillin이 임상에 쓰이기 시작한 2년 뒤인 1961년 영국에서 처음으로 methicillin 내성 *S. aureus* (MRSA)가 보고되었으며 (14) 유럽에서는 1960년대 후반부터 (23), 미국에서는 1970년대 후반부터 중요한 원내감염균으로 MRSA가 출현하였고 (22) 그 분리빈도도 점차 증가되었다 (17). 국내에서는 1970년대부터 MRSA가 분리되기 시작하였고 (5) 1980년대부터는 MRSA균이 중요한 원내감염균으로 자리를 잡게 되었다 (7).

MRSA의 원내감염원은 이균에 감염된 환자, 의료종사자, 건강보조자(의료종사자, 방문객), 오염된 의료기구 등이며, 전파경로는 의료종사자 및 환자의 손을 통한 직접접촉, 비말감염, 공기감염 등이 보고되고 있고, 이러한 감염의 빈도는 지역과 보고자에 따라 많은 차이를 보이고 있다 (1,7,8).

MRSA의 역학적 표식자 (epidemiological marker)로서는 응고효소형 분류법이 간편함과 신속성 때문에 많이 이용되고 있다. 응고효소형을 이용한 *S. aureus*의 분류는 Ramelkamp 등 (20)이 인간혈청의 항체역가(antibody titer)를 측정함으로써 3가지의 다른 유형이 존재함을 발견한 이후 1976년 潮田 弘 등 (9)에 의하여 응고효소 제 I에서 응고효소 제 VIII 까지 8종류가 개발되었다. 그 원리는 *S. aureus*의 세균벽에 bound coagulase라고 불리

우는, fibrinogen과 결합할 수 있는 단백질 수용체가 함유되어 있는데, 이 bound coagulase가 prothrombin의 반응없이도 fibrinogen과 세균체를 혼합시키면 응집괴를 형성하는 성질을 이용한 것이다. *S. aureus*의 병원성과 응고효소와의 상관관계가 아직 확실하게 규명된 바는 없지만 (10) *S. aureus*는 1종류의 응고효소형을 가지기 때문에 이 특징을 이용하여 응고효소형을 역학적 표식자로 활용하고 있다.

본 연구는 부산 동아대학병원에 내원한 외래 및 장기 입원환자들의 가검물로부터 MRSA 균주를 분리하여 역학적 표식자로서 응고효소형을 파악함으로써, 병동별, 질병별로 이들의 응고효소형별 분포 양상(coagulase type)을 조사하고, 항균제의 다약제 내성 유형과 상호유연관계 여부를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주

1998년 8월부터 1999년 2월까지 부산시 동아병원 임상병리과 미생물실에 검사 의뢰된 임상 가검물 중 *S. aureus* 168균주로부터 methicillin 내성 *S. aureus* (MRSA) 88균주를 분리하였다.

S. aureus 분리, 동정

가검물로부터 *S. aureus*에 대한 1차 동정은 *S. aureus* 일반 분리법을 따랐다. 5% 면양혈액 한천배지에서 생성된 황색바탕의 흰 집락을 선택, 순수 분리하여 Gram염색 양성, catalase 시험 양성, coagulase 시험 양성, mannitol salt agar 시험 양성, latex

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 051-620-6363, Fax: 051-611-6358
E-mail: hunku@mail.pknu.ac.kr

agglutination 시험 양성인 균주를 분리하였다. 여기서 얻어진 균주를 세균동정 자동화 기기인 Vitek IMS (Vitek System, Inc., Hazelwood, Mo)의 GPI (Gram Positive Identification) card에 접중하여 확인시험을 실시하였다.

MRSA 판정

NCCLS (National committee for clinical laboratory standards) (19)에 따라 디스크 확산법으로 MRSA균을 선별하였고 방법은 아래와 같았다.

MacFarland NO. 0.5의 탁도로 세균 부유액을 만든 후 면봉을 이용하여 Mueller-Hinton배지(BBL, USA)상에 고르게 도말한 후 1 µg oxacillin 디스크(BBL, Microbiology system, Cockeysville, Mo)를 놓고 35°C에서 18~24시간 배양하여 직경이 10 mm이하인 집락을 MRSA로 판정하였다.

DNA 추출

김 등(3)의 방법에 따라 buffer (50 mM glucose, 10 mM EDTA, 25 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 8.0) 100 µl에 2~3집락으로부터 채취한 균을 부유시킨 후 lysostaphin (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo) 10 µl (1 mg/ml증류수)를 넣고 37°C에서 5분, 그리고 95°C에서 5분간 반응시킨 후 10,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 취하였다.

중합효소 연쇄반응(Polymerase chain reaction : PCR)

김 등(3)과 Song 등(21)이 보고한 PBP2' 유전자의 1282-1303번까지 염기서열의 보체인 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTT-GGC-3'와 1793-1814번까지 염기서열의 보체인 5'-AGTTCTGC-AGTACCGGATTTGC-3' 2개의 primer (Bioneer Co.)를 사용하였다. PCR은 Gene Amp PCR reagent kit (Perkin-Elmer Cetus, Co., USA)를 사용하여 다음과 같이 시행하였다.

0.5 ml용 microtube에 증류수 41.5 µl, Taq buffer 5.0 µl, dNTP(ATP, GTP, CTP, TTP) 각각 0.5 µl, AmpliTaq polymerase 0.2 µl, primer 0.5 µl, sample 1 µl씩 총 50.2 µl가 되게 하여 Gene Amp PCR system 9600 (Perkin Elmer CO, USA)을 사용하여 94°C에서 1분간 pre-melting 시킨 후, 94°C 30초 denaturation, 50°C 30초 annealing, 72°C 1분간 extension을 1 cycle로 하여 40회 시행하고 최종으로 72°C에서 5분간 extension시켰다.

mec A 유전자 확인

증폭시킨 DNA산물 10 µl를 1kb DNA marker와 함께 1.5% agarose gel에서 전기영동(100V, 10 min)한 후 1% ethidium bromide (EtBr)로 염색하였다. 이것을 암소에서 UV를 조사한 조건하에서 mec A 구조유전인자 (structural gene)의 지표인 533 bp에서 DNA 생성물을 확인하였다. mec A 유전자를 가지지 않은 참조균주로 *S. aureus* ATCC 29213과 *E. coli* ATCC 25922를 사용하였다.

Coagulase 유형 분류

*S. aureus*의 응고효소유형(coagulase type) 분류에는 staphylococcal coagulase typing immune sera "SEIKEN" kit (Denka Seiken CO., Tokyo, Japan)를 사용하였다.

이 방법은 *S. aureus*가 생산하는 응고효소에 대한 각각의 항혈청을 이용하여 응고효소유형을 분류하는 것으로 9개의 시험관을 나란히 세운 다음 MRSA균주를 0.45% saline에 MacFarland NO. 0.5로 부유액을 만든 후 모든 시험관에 0.1 ml씩 넣고 제 1번 시험관에는 제 I항혈청 0.1 ml를, 제 2번 시험관에는 제 II항혈청 0.1 ml를 넣는 식으로, 제 8번 시험관까지 8가지 항혈청을 넣었다. 제 9번 시험관에는 20배로 희석한 정상 토끼혈장 0.1 ml를 넣고 이를 잘 혼합한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시키고 그 후 각 시험관에 10배 희석된 토끼혈장을 0.2 ml씩 첨가하여 다시 37°C에서 반응시켰다(10). 1시간 후부터 결과 판정을 하고 뚜렷한 관독이 어려운 경우는 2, 4, 24, 48시간까지 응고유무를 관찰하고 한 시험관을 제외한 나머지 시험관에서 응고를 일으킨 시점에서 관찰을 중지하고 응고가 일어나지 않은 시험관에 넣었던 항혈청 유형을 응고효소형으로 판정하였다.

항생제 감수성 검사

세균의 동정 및 항생제 감수성 자동화 기기인 Vitek IMS (Vitek Systems, Inc., Hazelwood, MO)에 면양혈액 한천배지에 자란 MRSA균주를 멸균된 0.45% saline 1.8 ml에 넣어 균액의 탁도를 MacFarland NO. 0.5로 조정한 다음 균액 200 µl를 취하여 멸균된 0.45% saline 1.8 ml에 잘 섞어서 GPS-AA card (Gram Positive Susceptibility Card)에 접중하여 검사하였다.

결 과

1998년 8월부터 1999년 2월까지 부산시 동아대학병원 임상병리과 미생물실에 검사 의뢰된 임상 가검물 중 83명의 환자로부터, 농 57, 객담 23, 혈액 3, 복강액 3, 뇨 2예 등 총 88예로부터 methicillin 내성 *S. aureus* (MRSA) 88균주가 분리되었다. 병동별 분리원은 소아과 3명, 흉부외과 5명, 정형외과 16명, 일반외과 15명, 내과 12명, 신경외과 5명, 중환자실 8명, 응급실 3명, 외래병동에서 12명, 기타 병동에서 9명이었고 성별은 남자 53명, 여자 30명이었으며, 연령별은 영아를 포함한 유년기 5명, 10대 3명, 20대 9명, 30대 16명, 40대 14명, 50대 17명, 60대 이상 노년층이 19명이었다.

동정된 MRSA 88주를 polymerase chain reaction (PCR)법으로 mec A 유전자의 유무를 검사한 결과 86균주(97.7%)가 533 bp에서 생성물을 형성하여 mec A 유전자가 확인되었으며 2균주는 mec A 유전자가 확인되지 않았다. 참조균주인 *S. aureus* ATCC 29213과 *E. coli* ATCC 25922는 533 bp에서 생성물을 형성하지 않았다 (Fig. 1).

응고효소형(Coagulase type)분류를 실시하여 나타난 형별 분포는 제 II형이 44예(50%)로 가장 많았으며, 제 IV형은 11예(12.5%), 제 III형이 6예(6.8%), 나머지 I, VI, VII, VIII형이 각각 4예(4.5%)였고 제 V형은 전혀 분리되지 않았다. 응고효소형별 분리원을 분석해보면 다음과 같았다 (Table. 1).

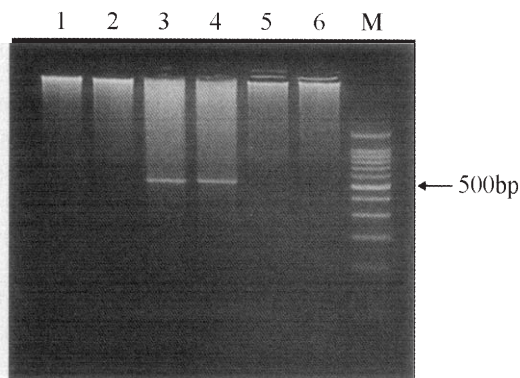


Fig. 1. Comparison of plasmid patterns between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-sensitive strains. M, Size marker; 1, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; 2, *Escherichia coli* ATCC 25922; 3, 4, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, strain No. 20 and No. 78, 5, 6, methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, strain No. 32 and No. 43.

Table 1. Distribution of MRSA according to the ward

Coagulase Ward	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	NT*	Total
P.D	1	1					1			3
C.S	1	3							1	5
O.S		9		1				3	3	16
G.S		11	2						2	15
N.S		1				2	1		1	5
I.M	1	4	4	2					1	12
ICU		6							2	8
E.R		1		1		1				3
OPD	1	3		6			2			12
Other		5		1		1		1	1	9
Total	4	44	6	11	0	4	4	4	11	88

PD, pediatrics; CS, cardiac surgery; OS, osteo surgery; GS, general surgery; NS, neuro surgery; IM, internal medicine; ICU, intensive care unit; ER, emergency room; OPD, outpatient department.

*Non typeable

제 I형은 환자의 농(2균주)과 객담(2균주)으로부터 분리되었고 병동별로는 소아과, 흉부외과, 내과, 외래환자에서 각각 1균주씩 분리되었다.

제 II형은 농(29균주), 객담(12균주), 혈액(1균주), 뇨(1균주), 체액(1균주)에서 분리되었고 병동별로는 소아과, 신경외과, 응급실에서 각각 1균주씩 분리되었고 흉부외과와 외래환자로부터 각각 3균주씩, 내과에서 4균주, 중환자실 6균주, 정형외과 9균주, 일반외과 11균주 및 기타 병동에서 5균주가 분리되었다.

제 III형은 농(1균주)과 객담(5균주)으로부터 분리되었고 병동별로는 일반외과에서 2균주, 내과에서 4균주가 분리되었다.

제 IV형은 농(9균주), 객담(1균주), 체액(1균주)에서 분리되었고 병동별로는 내과에서 2균주, 외래환자로부터 6균주, 정형외과, 응급실, 기타 병동에서 각각 1균주씩 분리되었다. 외래환자로부터 분리된 6균주는 모두가 이비인후과 외래환자에게서 분리된 것이었다.

제 VI형은 농과 객담에서 각각 2균주씩 분리되었고 병동별로는 신경외과에서 2균주, 응급실과 기타 병동에서 각각 1균주씩 분리되었다.

제 VII형과 제 VIII형은 농에서만 각각 4균주씩 분리되었으며 병동별로는 제 VII형은 외래환자에서 2균주, 소아과, 신경외과에서 각각 1균주씩 분리되었으며 제 VIII형은 정형외과 3균주, 기타 병동에서 1균주가 분리되었다.

응고효소형을 결정할 수 없는 균주는 11예(12.5%)로서 농(6균주), 혈액(2균주), 그의 객담, 체액, 뇨 등에서 각각 1균주씩 분리되었고 병동별로는 정형외과에서 3균주, 중환자실, 일반외과에서 각각 2균주씩, 내과, 일반외과, 신경외과, 기타병동에서 각각 1균주씩 분리되었다.

가검물별로는 농과 객담에서 여러형태의 응고효소유형이 분리되었지만 혈액과 뇨, 체액에서는 상대적으로 균분리도 적었고 응고효소유형도 단순하였다.

분리균주에 대한 항균제 검사결과는 다음과 같았다.

Vancomycin, teicoplanin에 대해서는 전균주가 감수성을 나타내었고 penicillin, oxacillin, erythromycin, imipenem, cephalothin에 대해서는 전 균주가 내성을 나타내었다. Clindamycin과 ciprofloxacin, gentamycin에서는 일부 균주가 감수성을 나타내었고 이를 응고효소형별로 분석하면 아래와 같았다.

Clindamycin은 제 I형에서 1균주, 제 II형에서 4균주, 제 III형에서 2균주, 제 IV형에서 1균주, 제 VII형에서 1균주, non typeable에서 2균주가 감수성을 나타내었다. Ciprofloxacin은 제 II형에서 2균주, 제 III형에서 1균주, 제 IV형에서 4균주, 제 VII형에서 1균주, non typeable에서 1균주가 감수성을 나타내었다. Gentamycin은 제 II형에서 2균주, non typeable에서 1균주가 감수성을 나타내었다.

고 찰

우리나라의 MRSA감염은 1979년 박 등(5)에 의해 보고된 이래 현재도 보고자에 따라 차이는 있으나 40~70%로 대형병원일수록 높은 분리율을 보이고 있다(1,7,8.). MRSA균은 MSSA (methicillin susceptible *S. aureus*)균에 비하여 특별히 독성이 강하지는 않으나 환자와 의료인의 손을 통하여 감염되는 것이 가장 중요한 전파방법이며 85%이상이 병원에서 원내 감염되고(22,24), 대부분의 항 포도상 구균 치료제 (anti-staphylococcal antimicrobial agents)에 대해서 내성을 나타내는 경우가 많기 때문에 면역부전 상태의 환자나 백혈구의 심한 감소를 보이는 환자에서는 높은 사망률을 나타내는 것으로 보고되고 있다(15).

본 연구에서 83명의 환자로부터 분리된 88균주중 주요 균주분리원은 농과 객담이었다. 成野榕子 등(12)의 조사로는 병동별로

편차는 있지만 내과병동에서 가장 많이 분리되고 있음을 보고하고 있고, Locksley 등(16)은 화상치료소(burn unit)가 전파원이 되어 phage typing과 plasmid 분석을 통하여 MRSA의 전파경로를 추적하였다.

MRSA는 통상적인 PBP (penicillin binding protein)와 다른 low-affinity penicillin binding protein (PBP2'나 PBP2a)(18)을 생성하며, PBP2'는 독특한 MRSA-PBP gene에 의해서 encode되는 PBP의 structural gene (mec A gene)으로 알려져 있다(18,23). 이 mec A gene은 methicillin 감수성 균주에서는 전혀 나타나지 않는 것으로 보고되고 있으며 methicillin 내성 균주에서만 발견되는 것으로 알려져 있다(3,30). 실험된 88균주로부터 86균주가 예상크기의 PCR 생성물질이 확인된 본 실험의 결과는 앞선 연구자들의 보고와 일치되었지만 2균주가 methicillin 내성이면서도 mec A gene 생성물이 발견되지 않았다. 이와 유사한 결과는 Murakami(18)에 의해서도 보고된 바가 있으며 이러한 원인은 *S. aureus*의 methicillin내성이 배양된 온도나 배지의 pH, 첨가된 NaCl의 농도등 배양조건에 따라서 영향을 받았을 수도 있고, 내성획득이 염색체 DNA가 아닌 plasmid로부터 기인되었을 수도 있기 때문이다(2,18).

본 연구결과에서는 8개의 응고효소형중 제 II형이 44균주(50%)로 가장 많이 분리되었고 분리된 역시 농, 객담, 혈액, 체액, 뇨등 매우 다양한 양상을 나타내었지만 응고효소 제 V형은 전혀 분리되지 않았다. 중환자실, 외과병동, 내과병동, 소아과병동, 각과 외래진료실에서 채취된 검체별로 분석한 결과 응고효소 제 II형은 대부분 수술이 많은 외과 병동에서 분리되었고, 제 IV형은 이비인후과 외래진료에서 주로 관찰되는 것으로 보아 응고효소 제 II형은 원내감염균으로서 외과병동이 감염원일 가능성이 매우 높았다. 이러한 결과를 미루어 볼 때 MRSA균이 외과 병동의 병실에 상존해 있거나, 의사, 간호사 등의 의료진들이나, 수술기구 등을 통하여 환자에게로 전파되었을 가능성이 높다.

전 등(6)이 대구지역에서 분리한 131균주의 MRSA에 대한 응고효소형 분류는 III형 49.6%, II형 13.7%, VII형 10.7%로 III형이 많이 나타났다. 그러나 박 등(4)이 분리한 67균주에서는 II형이 우점종으로서 본 실험결과와 일치되었다. 이와 같은 국내결과들을 분석해볼 때 국내에서도 지역에 따라 우점 응고효소형이 다소 차이가 있을 것으로 생각된다. 일본의 경우, 식중독에서는 II, III, VI, VII 형이 주로 분리되는 것으로 보고되고 있으며(10) 질병과의 연관성에 있어서는 화상양포부박리증 (Staphylococcal Scalded Skin Syndrom, SSSS)의 68.9 %가 I형, 농양환자의 61 %가 IV형, 농가진의 68.9 %가 V형으로 보고되고 있고, Toxic Shock Syndrom (TSS)의 경우 IV형, II형, VII형의 빈도로 분리되고 있다(10). 그러나 우점 응고효소형은 1980년대는 IV형이었지만 1990년대는 우점 응고효소형이 II형으로 응고효소형 천이현상이 보고되고있다(11,13).

竹末芳生 등(11)은 응고효소형과 항균제 감수성은 서로 밀접한 관계가 있다고 보고하였으며, 국내에서도 역시 이와 유사한 결과가 보고된 바가 있으나(6) 본 연구에서의 항균제 내성 유형은 penicillin, cephalothin, erythromycin, gentamicin, imipenem 등에 다약제 동시내성을 보였고 vancomycin과 teicoplanin에는 전 실험

균주가 감수성을 보여 응고효소형과 항균제 감수성 결과와는 전혀 상관관계가 없었던 점이 이들의 보고와 중요한 차이점이었다.

참고문헌

1. 강현, 이강영, 강영숙, 정운섭, 이형환. 1990. Methicillin 내성 포도구균의 ampicillin/sulbactam 및 penicillin G/sulbactam에 대한 감수성. 대한미생물학회지 25, 127-134.
2. 김선주, 김의종, 조한익. 1992. 플라스미드 분석에 의한 메티실린내성 황색포도구균의 역학조사. 대한임상병리학회지 12, 347-354.
3. 김정만, 久保信彦, 櫻林郁之介. 1993. PCR법을 이용한 MRSA 신속검사법에 관한 임상적 평가. 대한임상병리학회지 13, 387-393.
4. 박성기, 오양효. 1992. 황색포도구균 응고효소의 활성에 관한 연구. 최신의학 35, 43-50.
5. 박숙자, 정운섭, 이삼열. 1977. 임상검사물에서 분리된 균주의 항생제 감수성. 대한병리학 회지 11, 119-125.
6. 전창호, 서현석, 김상경. 1996. 황색포도구균의 coagulase형과 항생제 감수성 양상의 상관 관계. 대한임상병리학회지 16, 928-934.
7. 정운섭, 이미경, 이삼열. 1985. Methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 분리 빈도와 fusidic acid에 관한 감수성. 감염 17, 141-147.
8. 정운섭, 우경주, 김현옥, 이삼열. 1988. Methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*의 ampicillin/sulbactam에 대한 감수성. 대한미생물학회지 23, 391-396.
9. 潮田 弘, 寺山 武. 1979. ブドウ球菌コアグラ-ゼ型別法の實際. 臨床検査 23, 779-784.
10. 五十嵐英夫. 1993. MRSA의疫學マ-カ-としてのコアグラゼ型. 醫學のあゆみ 166, 274- 278.
11. 竹末芳生, 横山 隆, 兒玉 節, 蘇本三喜夫, 瀬分 均, 村上義昭. 1989. Correlation between coagulase typing and antibiotic susceptibility in MRSA. 日外會誌 90, 5-11.
12. 戊野裕子, 石郷潮美, 人山純可, 水口一衛, 渡 幸人. 1992. An assessment of nosocomial infections of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* based on coagulase typing and phage typing. 日本臨牀 50, 986-992.
13. 賀來滿夫. 1994. Microbiological aspects of hospital infection. Graduate school of Pub Health Inje University, Pusan Korea. The 2nd International Symposium on Nosocomial Infection Control 2, 27-34.
14. Jevons M.P. 1961. "Celbenin"-resistant *Staphylococci*. *Brit. Med. J.* 1, 124-125.
15. Lacey R.W. 1975. Antibiotic resistance plasmids of *Staphylococcus aureus* and their clinical importance. *Bacteriol. Rev.* 39, 1-32.
16. Loksley R.M., M.L. Cohen, T.C. Quinn, L.S. Tompkins, M.B. Coyle, J.M. Kiriara, and G.W. Counts. 1982. Multiply antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. introduction, transmission, and evolution of nosocomial infection. *Ann. Int. Med.* 97, 317-324.
17. Morgan M.G. and M.J. Harte-Barry. 1989. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. a ten year survey in Dublin Hospital. *J. Hosp. Infec.* 14, 357-362.
18. Murakami K., W. Minamide, K. Wada, E. Nakamura, H. Teraoka, and S. Watanabe. 1991. Identification of methicillin-resistant strains of *Staphylococci* by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 29, 2240-2244.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1994. Antimicrobial Susceptibility Testing. 3rd ed NCCLS, Vill-

- anova, Pa.
20. Rammelkamp C.H. Jr., M.M. Hezebicks, and J.H. Dingle. 1950. Specific coagulase of *Staphylococcus aureus*. *J. Exp. Med.* 91, 295-307.
 21. Song M.D., M. Wachi, M. Doi, F. Ishino, and M. Matsuhashi. 1987. Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. *FEBS Letters* 221, 167-171.
 22. Thompson R.L., I. Cabezu, and R.P. Wenzel. 1982. Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Int. Med.* 97, 309-317.
 23. Williams R.F. 1979. The problems, diagnosis and treatment of infection by *Staphylococcus aureus*. *Scot. Med. J.* 24, 53.
 24. Wenzel R.P. 1982. The emergence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Int. Med.* 97, 440-442.

(Received May 26, 2000/Accepted September 1, 2000)

ABSTRACT: Coagulase Typing and Antibiotic Resistance of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Patients in Pusan

Ji-Han Ryu and Hun-Ku Lee(Department of Microbiology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea)

Eighty-eight strains of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* were isolated from pus (64.7%), sputum (26.2%), blood, fluid, and urine of 83 patients at Dong-A Hospital in Pusan to investigate their coagulase typing, and multi-drug resistant patterns. The presence of *mec A* gene conferring methicillin resistance was tested by polymerase chain reaction (PCR) with two *mec A* gene specific primers using purified chromosomal DNA as templates. DNA fragments of expected size were detected from 86 strains, but not from two strains. In coagulase typing, the 86 isolates were assigned to 7 coagulase types, I, II, III, IV, VI, VII, VIII, but there was no isolate belong to type V. The most abundant coagulase type was type II(50 %), followed by type IV. Rest of the coagulase types were minor, ranging from 4.5 to 12.5 %. Most of the type II methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains were isolated from the general surgery ward, but major strains of type IV were isolated from the otorhinolaryngology of the hospital's outpatient clinic center. All of the 88 strains were sensitive to vancomycin and teicoplanin, but 71 (81%) strains showed multi-drug resistant to penicillin, cephalothin, erythromycin, gentamycin, imipenem, clindamycin, ciprofloxacin and oxacillin. No relationship was found between the antibiotic resistance patterns and the coagulase typing patterns.