

2014년 국내에서 분리된 반코마이신 중등도 내성 황색포도알균의 특성

Characteristics of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) isolates in Korea, 2014

Abstract

Characteristics of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) isolates in Korea, 2014

질병관리본부 감염병센터 약제내성과
강기수, 김일환, 박 찬*

Division of Antiviral Resistance, Center for infectious Diseases, KNIH, KCDC
Gisu Kang, Ilhwan Kim, Chan Park

* 교신저자(Correspondence): chanpark@nih.go.kr/
043-719-8240

Background

Vancomycin is one of the representative antibiotics for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. Vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) and vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA) have been a growing concern in many countries. In the present study, we investigated the prevalence and characteristics of VISA in Korea in 2014.

Methods

S. aureus isolates were collected from 95 hospitals participating in a nationwide survey program of VRSA/VISA in 2014. After screening the brain-heart infusion agar with 4 mg/L vancomycin or automated testing systems, VISA isolates were confirmed by vancomycin MIC values of agar, broth dilution or E-test according to CLSI guidelines (M100-S24, 2014). Molecular characterization was performed using toxin genes detection, *SCCmec*, *agr*, and MLST typing.

Results

Eleven out of 25 screened isolates were identified as VISA isolates with vancomycin MIC of 3 mg/L or more. The isolates were characterized as follows: enterotoxin genes of *sec*, *seg*, and *sei* with *SCCmec* II and *agr* II (9 isolates); *seg*, *sei* with *SCCmec* III and *agr* I (1 isolates); and *seg*, *sei* with *SCCmec* IV and *agr* I (1 isolates). In addition, toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) gene was detected in eight isolates.

Conclusion

In 2014, 11 VISA isolates were isolated in Korea, but VRSA was not detected. Most of VISA isolates showed ST5-MRSA-*SCCmec* II type patterns.

들어가는 말

황색포도알균(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)은 화농성 염증, 폐렴, 식중독, 패혈증 등 다양한 감염경로와 감염증을 일으키는 병원체이다[1]. 황색포도알균 감염 치료에 사용되었던 페니실린(Penicillin)에 대한 내성균이 출현하여 이를 치료하기 위한 메티실린(Methicillin)이 1960년에

도입되었으나, 그 다음해인 1961년에 메티실린 내성 황색포도알균(Methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)이 확인되었다[2]. 국내 임상에서 분리된 황색포도알균 중 MRSA균은 1990년대 초부터 60-70%를 차지하고 있으며[3], 국내 요양 병원에서는 80% 이상을 차지하고 있다[1].

MRSA 감염증 치료에 사용하는 반코마이신(Vancomycin)에 내성을 나타내는 반코마이신 중등도 내성 황색포도알균

(Vancomycin-intermediate *S. aureus*, VISA)은 1996년 일본에서 처음 보고되었고[2], 이후 미국, 독일, 인도를 비롯하여 전 세계적으로 분리 보고가 증가하고 있다[4,5]. 2002년 미국 미시간(Michigan)에서 반코마이신 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)가 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 초과하는 반코마이신 내성 황색포도알균 (Vancomycin-resistant *S. aureus*, VRSA)이 최초로 분리되었으며, 2013년까지 전 세계적으로 34건이 보고(인도 16례, 미국 13례, 이란 3례, 파키스탄 1례, 포르투갈 1례)되었다[6,7,8].

국내에서는 현재까지 VRSA가 보고된 적은 없으나, 1998년 첫 VISA 증례가 보고된 이래 지속적(0.4%)으로 분리되고 있으며, 외국의 경우 프랑스 0.07%, 미국 0.3%, 태국 0.8%, 일본 0.24%의 수준으로 VISA가 분리되고 있다[1,2,3,9]. 이 글에서는 2014년 VRSA 실험실 표본감시 결과를 소개하고 분리된 VISA의 분자유전학적 특성을 정리하였다.

목말

2014년 7월 1일 이후부터 질병관리본부에서는 연중감시로 개편되어 전국 95개 종합병원을 대상으로 VRSA 실험실 표본감시가 시행되었고, 감시기간 중 표본감시 참여기관에서 자동화장비 또는 반코마이신 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 가 함유된 brain heart infusion agar(BHIA-V4) 선별배지를 사용하여 반코마이신 내성 선별검사를 시행하였다. 선별검사에서 양성인 균주들은 해당기관에서 반코마이신 MIC를 확인하거나 질병관리본부에 최종 확인검사를 의뢰하였다. 질병관리본부에서는 반코마이신

내성 선별검사 양성 11개 분리주와 감시기간 외에도 VISA로 의심되어 확인동정시험이 의뢰된 분리주 14주를 포함하여 총 25주에 대해서 항균제 감수성 시험을 실시하였다.

반코마이신에 대한 MIC는 한천배지 희석법(Agar dilution method), 액체배지 미량희석법(Broth microdilution method) 및 E-test 시험법으로 확인하였다. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 지침에 따라 한천배지 희석법과 액체배지 미량희석법으로 반코마이신 MIC $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 는 감수성, 4-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 는 중등도 내성, $\geq 16 \mu\text{g}/\text{mL}$ 는 내성으로 판정하였고, E-test 시험법으로 MIC $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 이면 감수성, $\geq 3-8 \mu\text{g}/\text{mL}$ 이면 중등도 내성, $\geq 12 \mu\text{g}/\text{mL}$ 는 내성으로 판정하였다. 3가지 시험법 중 1가지 이상에서 중등도 내성으로 확인되면 VISA로 판정하였으며, 그 외 17종의 항균제에 대한 감수성은 E-test 시험법과 디스크 확산법(Disc diffusion test)으로 확인하였다.

VISA 분리주의 분자생물학적 특성을 확인하기 위해 SCCmec 형, agr 형, 장독소 9종(sea-see, seg-sej), TSST-1 유전자를 각각 Multiplex PCR을 실시하여 확인하였다[9]. 또한 분리된 VISA간의 분자역학적 유연관계를 분석하기 위하여 7개의 House keeping gene (arcc, aroE, glpF, gmk, pta, tpi, yqiI)을 이용하여 MultiLocus Sequence Type(MLST)을 분류하였다.

2014년 VRSA 실험실 표본감시에서 분리된 VISA 7주, VRSA 및 VISA 확인동정시험에서 분리된 VISA 4주, 총 11개 VISA 분리주의 반코마이신에 대한 MIC 확인 결과, 한천배지 희석법과 액체배지 미량희석법에서 4주가 MIC 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, E-test 시험법에서는 7주가 MIC 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 3주는 MIC 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1주는 MIC 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 나타내어, 반코마이신 중등도 내성으로 확인되었다(Table 1).

Table 1. Antimicrobial susceptibility results of 11 VISA isolates in Korea, 2014

Methods for antimicrobial susceptibility testing	MICs ($\mu\text{g}/\text{mL}$) of vancomycin					Interpretation
	1	2	3	4	6	
Agar dilution method	-	7	-	4	-	S (7) / I (4)
Broth microdilution method	-	7	-	4	-	S (7) / I (4)
E-test	-	-	7	3	1	I (11)

Abbreviations: S, Susceptible; I, Intermediate

17가지 항균제에 대한 감수성 시험결과, 같은 glycopeptide 계열의 다른 항균제 teicoplanin에 대해서는 4주가 중등도 내성으로 확인되었다. β-lactam 계열의 항균제 중 cefazolin, penicillin, oxacillin에서는 9주, ampicillin, imipenem에서는 8주가 내성으로 확인되었다. Non-β-lactam 계열의 항균제 중 erythromycin에서는 10주, clindamycin, ofloxacin, tetracycline에서는 9주, gentamicin에서는 8주, tigecycline에서는 6주, rifampicin에서는 2주가 내성으로, daptomycin, linezolid, quinupristin/dalfopristin, trimethoprim/sulfamethoxazole에서는 모두 감수성으로 확인되었다(Table 2).

분리된 VISA의 SCCmec 형의 유전자 분석 결과 SCCmec II형이 9주, SCCmec III형이 1주, SCCmec IV형이 1주로

확인되었고, agr 형은 agr II형이 9주, agr I형이 2주로 확인되었다. TSST-1 유전자는 SCCmec II형으로 확인된 8주에서 검출되었으며, 장독소 유전자는 9주는 sec, seg, sei 유전자를, 2주는 seg, sei 유전자를 갖는 것으로 확인되었다. MLST 분석 결과 10주는 ST5였으며 1주가 ST72였다(Table 3).

맺는말

반코마이신에 내성을 지닌 VRSA는 분리되지 않았지만, 반코마이신에 중등도 내성을 나타내는 VISA는 지속적으로 분리되고 있는 추세이다[1,9]. 2014년 분리된 VISA 11주를 대상으로 분자유전학적 특성을 조사한 결과 대부분의 VISA

Table 2. Antimicrobial susceptibility pattern of 11 VISA isolates in Korea, 2014

Antimicrobial class	Antimicrobial agents	Number of isolates		
		Susceptible	Intermediate	Resistant
β-lactams	Cefazolin	2	0	9
	Oxacillin	2	0	9
	Penicillin	2	0	9
	Ampicillin	3	0	8
	Imipenem	3	0	8
non-β-lactams	Erythromycin	1	0	10
	Clindamycin	2	0	9
	Ofloxacin	2	0	9
	Tetracycline	2	0	9
	Gentamicin	3	0	8
	Tigecycline	5	0	6
	Rifampicin	9	0	2
	Teicoplanin	7	4	0
	Daptomycin	11	0	0
	Linezolid	11	0	0
	Quinupristin/Dalfopristin	11	0	0
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	11	0	0	

Table 3. Molecular characteristics of 11 VISA isolates in Korea, 2014

SCC <i>mec</i>	<i>agr</i>	TSST-1	Staphylococcal enterotoxin	MLST (ST type)	Number of isolates
II	II	positive	<i>sec, seg, sei</i>	5	8
II	II	negative	<i>sec, seg, sei</i>	5	1
III	I	negative	<i>seg, sei</i>	5	1
IV	I	negative	<i>seg, sei</i>	72	1

분리주는 다제내성균이며, 유전학적으로 SCC*mec* II형과 *agr* II형을 나타내는 ST5가 대부분인 것으로 확인되었다. 즉, 현재까지 국내에서 분리되는 MRSA가 대부분 SCC*mec* II형을 가진 ST5 type(ST5-MRSA-SCC*mec* II)이라는 기존의 보고와 일치하였고, 이미 보고된 바 있는 ST72 type(ST72-MRSA-SCC*mec* IV)의 분리주도 확인할 수 있었다[9].

세계적으로 VRSA의 분리 보고는 많지 않지만, 2013년 유럽 지역에서는 처음으로 포르투갈에서 VRSA가 보고되는 사례가 있었다[8]. 이에 따라 국내에서도 VRSA와 VISA에 대한 지속적인 감시가 필요할 것으로 사료된다.

Staphylococcus aureus (VRSA) stains. Int J Antimicrob Agent 2013;42:370-371.

- Askari E, Tabatabai S, Arianpoor A, Nasab M. *VanA*-positive vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: systematic search and review of reported cases. Infectious Diseases in Clinical Practice 2013;21:91-93.
- Melo-Cristino J, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M. First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet. 2013;382:9888.
- Chung G, Cha J, Han S, Jang H, Lee K, Yoo J, Yoo J, Kim H, Eun S, Kim B, Park O, Lee Y. Nationwide surveillance study of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* strains in Korean hospitals from 2001 to 2006. J Microbiol Biotechnol 2010;20:637-642.

참고문헌

- National Institute of Health, Korea Center for Disease Control and Prevention. Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System (KARMS) Annual Report, 2013. p10.
- Song JH. Antimicrobial resistance in gram-positive cocci: Past 50 Years, present and future. Infect Chemother 2011;43:443-449.
- Kim MN. Multidrug-resistant organisms and healthcare-associated infections. Hanyang Medical Reviews 2011;31:141-152.
- Bierbaum G, Fuchs K, Lenz W, Szekat C, Sahl HG. Presence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Germany. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:691-696.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-Illinois, 1999. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000;48:1165-1167.
- Moravvej A, Estaji F, Akari E, Solhjou K, Naderi Nasab M, Saadat S. Update on the global number of vancomycin-resistant