

국내 말에서 분리된 *Staphylococcus aureus*의 특성 및 약제 내성 양상

최성균 · 조길재*

경북대학교 수의과대학

Received December 5, 2007 / Accepted December 13, 2007

Characteristics and Antimicrobial Resistance Patterns of *Staphylococcus aureus* Isolated from Horse.
Seong-kyoon Choi and Gil-jae Cho*. College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University - This study carried out to investigate the antimicrobial resistance and biochemical characteristics of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) isolated from reproductive and respiratory tract in Thoroughbred horse. The specimens were collected from equine vaginal mucosa and upper respiratory tract from March to December 2006 using a culture swab in Korea. *S. aureus* suspected colonies on blood agar plates were selected and identified as standard biochemical tests and PCR (Applied Biosystems, USA). Antimicrobial resistance test of *S. aureus* isolates was performed with 30 antimicrobial agents (BBL, USA) by using the agar disk diffusion method. *S. aureus* isolates were isolated 58 (39.2%) strains of 148 samples: wound 64.7% (11/17), genital discharge 37.0% (37/100) and nasal discharge 32.2% (10/31). Almost isolates showed high resistance to spectinomycin, sulfonamides, erythromycin, tetracyclin, ciprofloxacin and penicillin. These results may provide the basic information to establish strategies for treatment and prevention of reproductive and respiratory disease in Thoroughbred horses in Korea.

Key words : Antimicrobial agents, Thoroughbred horse, *Staphylococcus aureus*

서 론

Staphylococcus spp.는 말을 포함한 대부분의 동물 중에서 세균성 감염증을 유발하는 세균으로 자연에 널리 분포하고 있으며, 다른 세균에 비해 건조와 소독제에 대한 저항성이 높은 것으로 알려져 있다. *Staphylococci*는 피부 및 점막에 분포하는 숙주의 정상 세균총으로 존재하지만 증식에 적절한 숙주의 환경이 제공될 시에는 기회 감염하여 가벼운 세균성 피부염 부터 치명적인 패혈증까지 다양한 질병을 유발할 수 있다. *Staphylococci* 중 일부 strain은 coagulase-enzyme을 분비하며 (coagulase-positive *Staphylococci*), 이 효소는 *Staphylococci*에 의한 감염증 발생 시 질병의 진행과정에 중요한 병원성 인자로 작용한다. Coagulase-enzyme을 분비하는 *Staphylococci* 중 말에서 질병을 유발하는 가장 중요한 strain은 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)로서 말에서 scrotal botryomycosis, dermatitis, cystitis, urethritis, metritis, pneumonia, endocarditis 등 수 많은 질병을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다[1,10].

동물 뿐만 아니라 사람에서도 *S. aureus*는 그람양성 구균 중 임상검체에서 가장 흔히 분리되는 세균으로 건강한 성인의 비강 내에서 약 40%가 발견되며 비강이나 피부 등에서 다른 사람에게 전파되고 흔히 수술부위 감염, 폐렴 등 병원 내 감염증을 잘 일으키는 균으로 알려져 있으며, 유아에 장

염을 일으키고 이차적으로 다발성 장 궤양과 천공을 유발하는 것으로 알려져 있다[7,9]. 또한 피부 연조직 감염증, 골관절염, 폐렴, 균혈증 등 다양하면서도 중증 감염증을 일으키는 병원체로서 오래전부터 중요성이 인식되어 왔다. 항균제가 개발되어 세균성 감염증의 치료에 전기가 마련된 이후에도 *S. aureus*는 여러 항균제에 대해서 내성을 획득함으로써 여전히 인류에게 중요한 병원체로 남아 있다[11]. Penicillin, methicillin 등 황색포도상구균 항균제는 항균력이 우수하여 지난 수십년간 본 감염증의 주요 치료약제로 사용되어 왔으나, 1940년대에 일부 *S. aureus*는 penicillin에 대하여 내성을 나타내기 시작하였고 1950년대에 들어와서는 tetracycline, chloramphenicol 및 erythromycin에 내성인 *S. aureus*가 나타났다. Penicillin 내성 포도상구균에 효과적으로 작용하는 항균제인 methicillin이 등장한지 일년후인 1961년에 내성을 나타내는 황색포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)이 보고되었다[13]. 그 이후 MRSA의 분리 비율은 계속 증가하여 1988년에는 vancomycin에 고도의 내성을 보이는 장구균이 나타났고, 1997년에는 MRSA에 의한 감염증의 치료제로 사용하여 온 vancomycin에 내성을 나타내는 *S. aureus*가 일본에서 보고되어 세계의 의료계를 놀라게 하였고, 그 이후 여러 나라에서도 계속 보고되었으며, 근래 분리되는 황색 포도상구균 중에는 penicillinase 생성, 페니실린 결합 단백질(penicillin-binding protein 2', PBP 2') 획득 등에 의하여 이들 항균제에 내성이 된 MRSA균주가 많은 것으로 보고되고 있다[3,8]. 우리나라에서도 *S. aureus*의 항균제

*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5978, Fax : +82-53-950-5955

E-mail : chogj@knu.ac.kr

내성은 특히 문제가 심각하여 *meticillin* 내성율은 50% 내외로 매우 높으며, 최근 조사 결과에 의하면 대부분의 대학병원과 종합병원에서 분리되는 *S. aureus*의 70~80%에 이르는 것으로 알려져 있다[14]. MRSA에 의한 감염증은 항균제를 많이 사용하는 병원 환경에서 발생하는 원내감염증이 대부분이며, 지역사회에서 발생하는 감염증을 일으키는 *S. aureus*는 대개 *meticillin*에 감수성이 있는 것으로 알려져 있다[14].

따라서 본 연구에서는 말 뿐만 아니라 사람에서도 다양한 병증을 유발할 수 있는 *S. aureus*의 국내 말 임상검체에서의 분리율과 기본적인 생화학적 성상을 조사함과 더불어 *S. aureus* 감염증 발생 시 치료 및 예방에 기초자료를 확보하기 위하여 *S. aureus*의 중요한 병원성 인자인 *coagulase-enzyme*의 생산능 및 약제 내성 양상을 조사하였다.

재료 및 방법

공시 재료

2006년 1월부터 2006년 12월까지 제주와 과천의 말 전문 동물병원과 승마장, 말 생산 목장으로부터 148두의 말을 대상으로 시료를 채취하였다. 각 개체별로 비강, 생식기, 외상 부로부터 멸균된 swab을 이용하여 swab을 실시하기 전 주위 오염물질 및 오염 균의 제거를 위해 소독액으로 깨끗이 닦아낸 후 최소 30초간 호흡기 및 생식기로 삽입하여 시료를 채취하였으며, 화농성 병변 및 외상부는 모세관 출혈 현상이 나타날 때까지 scrapping을 실시하여 시료를 채취하였다.

균 분리 및 동정

*S. aureus*의 분리를 위해서 7.5% NaCl이 첨가된 Tryptic soy broth (TSB)에서 37°C, 16시간동안 배양하고 배양액을 egg yolk emulsion과 sulfamethazine이 첨가된 Baird parker agar (MERCK, Germany)에 접종하여 37°C에서 16시간동안 배양하였다. 전형적인 집락을 선택하여 blood agar에 순수분리하고, 35°C에서 16시간 배양 후 β -hemolysis 현상이 일어나는 균을 TSA에 재도말 함과 아울러 *coagulase test*, DNase 시험으로 1차 동정을 하였고 미생물 자동 동정 기기 (BIOLOG, USA)를 이용하여 2차 동정을 실시하였으며, 최종적으로 PCR을 이용하여 동정하였다.

생화학 성상 시험은 용혈성 시험, mannitol 발효 시험, maltose 발효 시험, aesculin hydrolysis, alkaline phosphatase test, urease test, 색소 생성시험, DNase 생성시험, 당분해 (glucose sucrose 외 20 여종) 시험 등을 실시하여 국내 말에서 분리되는 *S. aureus*의 생화학적 특성을 분석하였다[15].

*S. aureus*의 동정을 위한 PCR

*S. aureus*로부터 DNA의 추출은 boiling lysis법을 이용하여 실시하였으며, 추출된 DNA는 -20°C 냉동고에 보관하며

실험에 사용하였다.

본 연구에 이용한 primer (F-AATCTTTGTCTGACAG ATATTCTTCAG, R-CGTAATGAGATTTTCAGTAGATAAT ACAACA)는 Schuenck 등[16]의 염기서열을 기초로 제작 (Applied Biosystems, USA)하여 사용하였다.

PCR을 위한 조성은 PCR reaction mixture (Thermo scientific, USA)는 12.5 μ l, template DNA 2 μ l, primer 2 μ l (10 pmole/ μ l), DW 8.5 μ l를 각 PCR tube에 넣어 total volume 이 25 μ l가 되도록 조정 후 GeneAmp PCR system 2720 (Applied Biosystems, USA)으로 증폭하였다. PCR은 먼저 95°C에서 5분간 가열하여 변성을 유도하고, 92°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 그리고 72°C에서 40초간 extension의 3단계를 총 30회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension 과정을 거쳤다. PCR 산물은 1.5% agarose gel (SeaKem[®] ME agarose, USA)상에서 전기 영동한 후 5 μ g/100 ml 농도의 Ethidium Bromide (Applied biosystems, USA)에 20분간 염색하여 Eagle Eye[™] II (Strata gene, USA)로 확인하였다.

혈장응고효소 생산능 시험

최종 분리·동정된 *S. aureus*를 Nutrient broth에 37°C에서 18~24시간 동안 배양한 후 균액을 멸균된 시험관에 0.5 ml를 넣고 여기에 멸균 생리식염수로 토끼의 신선 혈장을 1~5배 희석하여 각각 0.5 ml 넣어 잘 혼합한 후 35°C에서 배양시킨 후 시간별 응고 여부를 관찰하였다[12,15].

항생제 감수성 시험

분리된 58주의 *S. aureus*는 30종의 항균제를 대상으로 national committee for laboratory standard (NCCLS)의 기준에 따라 디스크 확산법[2]으로 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 분리된 세균은 Muller-Hinton broth (MHB)에 접종하고 37°C에서 2~8시간 증균시킨 후 McFarland No. 0.5 (1.5 \times 10⁸/ml)의 농도로 조절한 다음 Muller-Hinton agar (MHA) plate에 도말하여 항균제 disc (BBL, USA)를 접종한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 disc 주위의 complete inhibition zone의 크기를 측정하여 항균제에 대한 감수성 여부를 결정하였다.

본 연구에 사용한 항생제는 BBL사의 제품으로 Amikacin (AN), Amoxicillin/clavuramic acid (Amc), Ampicillin (AM), Aparamycin (APR), Ceftiofur (Cef), Cephalothin (CF), Cefoxitin (FOX), Chloramphenicol (C), Ciprofloxacin (CIP), Clindamycin (CC), Enrofloxacin (ENO), Erythromycin (E), Gentamycin (GM), Kanamycin (K), Mecillinam (MEL), Neomycin (N), Nitrofurantoin (F/M), Norfloxacin (NOR), Ofloxacin (OFX), Florfenicol (FFC), Oxacillin (OX), Penicillin (P), Streptomycin (S), Sulfonamides (S3), Spectinomycin

(SPT), Tetracyclin (Te), Tiamulin (Tia), Trimethoprim / Sulfamethoxazole (SXT), Tylosin (Tyl), and Vancomycin (Va) (BBL, USA) 등 30종의 항생제에 대해 항균제 감수성 시험을 실시하였다.

결 과

국내에서 사육중인 말에서 채취한 시료로부터 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)를 분리·동정한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 외상부 64.7%(11/17), 생식기 37.0%(37/100), 호흡기 32.2%(10/31)의 순으로 높은 분리율을 나타내었고 전체 분리율은 39.2%(58/148)을 보였다. 분리된 58주에 대한 생화학적인 성상은 Table 2와 3에서 보는 바와 같다. 생화학적인 검사에서 대부분의 특성은 기존에 밝혀진 *S. aureus*의 생화학적인 특성과 비슷하였지만 urease test에서는 다양한 반응양상을 나타내었다. 또한 34종의 substrate에 대한 분해 양상에 대한 검사 결과 fructose, maltose, α -hydroxy butyric acid, thymidine-5'-mono phosphate, uridine-5'-mono phosphate 등의 substrate에 대해서는 모든 균주가 이용능력을 가지고 있었지만 ribose, sorbitol, xylose, xylitol 등의 substrate에 대해서는 모든 균주가 기질 이용능력을 가지고 있지 않는 것으로

Table 1. Isolation of *S. aureus* from Thoroughbred horse

Sample sites	No. of samples	No. of <i>S. aureus</i> isolates (%)
Nasal discharge	31	10 (32.2)
Vaginal discharge	100	37 (37.0)
Wound lesion	17	11 (64.7)
Total	148	58 (100)

Table 3. Fermentative properties of 58 *S. aureus* isolates

Fermentable substrate	No. of positive strains (%)	Fermentable substrate	No. of positive strains (%)
Dextrin	58 (100)	Thymidine	57 (98.2)
N-acethyl-D glucosamine	54 (93.1)	Uridine	58 (100)
Fructose	58 (100)	Thymidine-5'-mono phosphate	58 (100)
Maltose	58 (100)	Uridine-5'-mono phosphate	58 (100)
Maltotriose	55 (94.8)	Mannitol	58 (100)
Mannose	58 (100)	Arabinose	22 (37.9)
Psicose	58 (100)	Cellobiose	30 (51.7)
Sucrose	56 (96.5)	Fucose	0 (0)
Trehalose	56 (96.5)	Galactose	0 (0)
Turanose	56 (96.5)	Gentibiose	9 (15.5)
α -hydroxy butyric acid	58 (100)	Inositol	6 (10.3)
α -keto valeric acid	43 (74.1)	Lactose	2 (3.4)
L-lactic acid	58 (100)	Rhamnose	1 (1.7)
Methyl pyruvate	50 (86.2)	Ribose	0 (0)
Adenosine	55 (94.8)	Sorbitol	0 (0)
2-deoxy adenosine	45 (77.5)	Xylose	0 (0)
Inosine	58 (100)	Xylitol	0 (0)

Table 2. Biochemical characteristics of 58 *S. aureus* isolates

Tests	No. of positive strains	% of positive strains
Catalase	58	100
Oxidase	0	0
OF (Oxidation/Fermentation) test	58	100
Coagulase test	57	98.3
DNase test	58	100
Haemolysis	58	100
Pigment production	58	100
Alkaline phosphatase	58	100
Urease	42	73
Aesculin hydrolysis	0	0

로 확인되었다. 그리고 PCR에 의한 *S. aureus*를 동정한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 108bp 크기의 band를 확인하였다.

혈장응고효소 생산능 시험의 결과는 Table 4와 Fig. 2에서 보는 바와 같다. *S. aureus*의 혈장응고효소 생산능 시험에서는 98.3%가 양성반응을 나타내었고 신선 혈장의 희석농도는 1:2에서 가장 높은 양성반응을 나타내었다.

국내 말에서 분리한 *S. aureus*에 대한 약제 내성 검사 결과는 Table 5에서 보는 바와 같다. 분리된 58주의 *S. aureus*는 30종의 항균제 중에서 spectinomycin, sulfonamides, erythromycin, tetracyclin, ciprofloxacin, neomycin, enofloxacin, penicillin 등의 약제에 높은 저항성을 나타내었다.

고 찰

세계 대전 이 후 말은 군사용이나 농업용으로서의 활용가

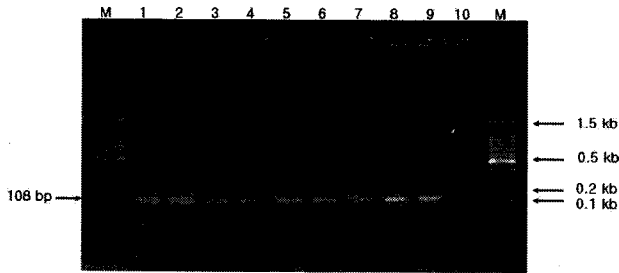


Fig 1. PCR amplification of 108bp fragment of *S. aureus* species-specific gene. Lane M: molecular size marker (100 bp ladder, Bioneer, Korea); Lane 1: positive control strain of *S. aureus* ATCC 433000; Lanes 2 to 9: clinical isolates; Lane 10: negative control strain of *S. intermedius*.

Table 4. Coagulase test of 58 *S. aureus* isolates

Plasma dilution	Reaction time			
	4 hr		24 hr	
	No. of positive strains	No. of negative strains	No. of positive strains	No. of negative strains
1 : 1	53	5	54	4
1 : 2	57	1	57	1
1 : 3	55	3	56	2
1 : 4	55	3	56	2
1 : 5	55	2	56	2

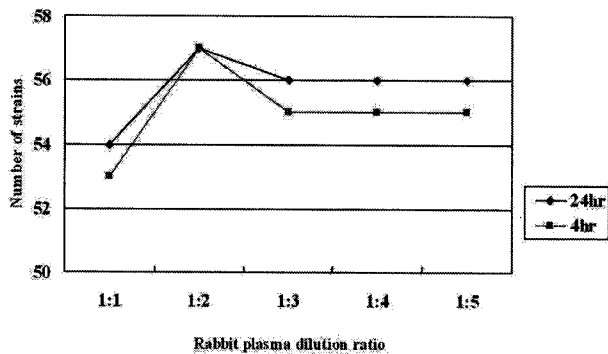


Fig 2. Coagulase test with different incubation times and rabbit plasma dilution ratio.

치가 떨어지면서 일반 가축에 비해 말에 관한 연구가 국내에서는 상당히 미진한 실정이다. 하지만 최근 들어 국내에서도 경마 및 승마의 활성화를 위해 정부나 지방자치단체 등에서 국내 말 생산 및 육성에도 많은 관심을 가지고 있으며, 말 산업 활성화 방안의 일환으로 부산경남경마장 개장과 더불어 제주도에 이어 내륙에서도 국내 우수 경주용 말을 육성할 목적으로 장수 육성 목장이 개장하기도 하였다.

현재 국내에서 사육되고 있는 말은 더러브렛 말과 같은 개량마 혹은 경종마가 약 12,000여두, 제주마를 포함한 pony

Table 5. Antimicrobial susceptibility of 58 *S. aureus* isolates to 30 antibiotics

Drugs	Resistance (%)	Intermediate (%)	Susceptible (%)
AN	1 (1.72)	19 (32.7)	38 (65.5)
Amc	0 (0)	0 (0)	58 (100)
AM	23 (39.6)	11 (18.9)	24 (41.3)
APR	6 (10.3)	3 (5.17)	49 (84.4)
Cef	0 (0)	8 (13.7)	50 (86.3)
CF	0 (0)	0 (0)	58 (100)
FOX	2 (3.44)	15 (25.8)	41 (70.6)
C	4 (6.89)	6 (10.3)	48 (82.7)
CIP	48 (82.7)	9 (15.5)	1 (3.44)
CC	41 (70.6)	6 (10.3)	11 (18.9)
E	53 (91.3)	4 (6.88)	1 (1.72)
ENO	46 (79.3)	6 (10.3)	6 (10.3)
GM	2 (3.44)	44 (75.8)	12 (20.6)
K	6 (10.3)	15 (25.8)	37 (63.7)
MEL	33 (56.8)	25 (43.1)	0 (0)
N	25 (43.1)	20 (34.4)	13 (22.4)
F/M	3 (5.17)	27 (46.5)	28 (48.2)
NOR	41 (70.6)	9 (15.5)	8 (13.7)
OFX	42 (72.4)	3 (5.17)	13 (22.4)
FFC	0 (0)	0 (0)	58 (100)
OX	0 (0)	0 (0)	58 (100)
P	48 (82.7)	3 (5.17)	7 (12.0)
S	56 (96.5)	2 (3.44)	0 (0)
S3	53 (91.3)	5 (8.62)	0 (0)
SPT	58 (100)	0 (0)	0 (0)
Te	58 (100)	0 (0)	0 (0)
Tia	8 (13.7)	40 (68.9)	10 (17.2)
SXT	12 (20.6)	11 (18.9)	35 (60.3)
Tyl	21 (36.2)	23 (39.6)	14 (24.1)
VA	0 (0)	0 (0)	58 (100)

계통이 약 13,000여두 등 총 25,000여두로 추정하고 있다. 그 중에서 번식을 목적으로 사육되고 있는 더러브렛 씨암말은 2,000여두, 씨수말은 80여두로서 이들 사이에서 태어나는 망아지는 연간 1,300여두 이상으로 계속해서 증가추세에 놓여 있는 실정이다[17,18]. 국내에서 생산되거나 외국으로부터 수입된 말들은 경주마 또는 승용마 등으로 주로 활용되고 있으며 일부는 식용으로도 활용되고 있다. 이와 같이 최근에는 국가적 차원에서 말 관련 산업 육성을 위해 새로운 정책이 수립되고 있으며, 레저 스포츠로서 점차적으로 승마 인구는 증가할 것으로 보인다.

현재 국내 말 산업에 종사하는 사람의 수는 경마, 승마, 생산 등의 각 부분을 포함하여 5,000여명 이상인 것으로 알려져 있다. 승마장의 수는 전국에 47곳의 등록된 승마장 이외에 130여 곳의 승마장이 있으며 국내 승마인구는 한국마사회(KRA)의 조사에 의하면 5만명 정도로서 일주일에 2회 이상 말을 타는 동호인의 수는 약 5,000명 정도에 이르는 것으로 알려지고 있다. 이러한 국내 사정에서 비추어 볼 때 국내

말과 사람에서 분리되는 *meticillin-resistant S. aureus* (MRSA)는 상호간 감염증을 유발할 수 있는 높은 잠재력을 가지고 있는 인수공통전염체로서 작용할 수 있는 역학적 관계를 가지고 있음을 추정할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 말에서 뿐만 아니라 사람에서도 다양한 병증을 유발할 수 있는 가장 대표적인 인수공통 세균성 원인체인 *S. aureus*의 감염율과 분리된 *S. aureus*의 약제 내성 및 특성에 관해 연구함으로써 말과 사람 상호간의 *S. aureus* 감염 예방과 감염증 발생 시 치료에 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

말에서의 *S. aureus*와 MRSA의 연구는 국내의 경우 전무한 실정이지만 국외의 경우 말 산업이 발달한 정도와 비례하여 높은 연구 성과를 나타내고 있다[14]. 국외의 연구에 의하면 말의 MRSA 감염증 역시 사람의 경우와 유사하게 동물 병원내 감염이 주를 이루고 있다. 주된 발생은 외상, 수술 후 감염증에 따른 화농성 질환 및 호흡기 점막에 부착하여 기회 감염하며 치명적인 폐렴 및 패혈증을 유발하는 양상으로 발생된다고 보고되고 있다[6,10].

Cuny 등[4]의 연구에 따르면 Austria의 경우 말 1,000마리 당 4.8마리가 MRSA를 보유하고 있다고 보고되고 있고, 북미에서는 MRSA 감염 의심 말에 대한 표적 검사 시 12%, 비표적 검사 시에는 4.7%의 보유율을 나타낸다고 보고되고 있다. MRSA screening programe을 실시하고 있는 캐나다대학 동물병원에서는 nasal swab을 통해 MRSA 검사를 실시한 결과 5.3%의 보유율을 나타낸다고 보고된 바 있다.

국외에 비해 연구가 활발히 진행되고 있지는 않지만 국내에서도 최근에 이르러 말 유래 세균에 대한 약제 내성 양상에 관한 연구가 점차 진행되고 있다. 조 등[4]은 국내 경주마의 호흡기질환 유래균에 관한 약제 내성 양상에 관해 보고하였고, 최 등[5]은 국내 씨암말의 생식기 유래균에 관한 약제 내성 양상을 보고 한 바 있다. 이들 연구에 따르면 *Staphylococci*는 기타 세균에 비해 비교적 높은 약제 내성 양상을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이는 *Staphylococci*가 가지는 고유의 약제 내성 획득 기전에 따른 것으로 판단된다.

본 연구에서 분리된 *S. aureus*로부터 MRSA와 *vancomycin-resistant S. aureus* (VRSA)는 검출되지 않았지만 기존에 통상적으로 사용되어 왔던 항생제에 대해서는 많은 균주가 내성을 획득한 것으로 확인되었다. 특히 *spectinomycin*, *sulfonamides*, *erythromycin*, *tetracyclin*, *ciprofloxacin*, *neomycin*, *enofloxacin*, *penicillin* 등의 항생제에는 높은 약제 내성을 나타내었다. *S. aureus*의 약제 내성 양상을 말 유래 세균에 모두 적용하기에는 무리가 있을 것으로 사료되지만 본 연구를 통해 밝혀진 높은 내성을 나타내는 항생제는 현재까지의 말 치료 및 예방에 있어 많이 노출되었거나 일반적으로 세균이 쉽게 내성을 획득하는 항생제라고 판단할 수 있는 기초자료로서 활용가치가 있을 것으로 판단된다.

*S. aureus*의 주요 병원성 인자인 *coagulase enzyme*의 생성능 시험에서는 대부분의 균주가 양성 결과를 나타냈지만 하나의 균주는 *coagulase* 시험에서 음성 반응을 나타내었다. 일반적으로 *S. aureus*는 *coagulase* 시험에서 양성반응을 나타내는 것으로 알려져 있지만 본 연구에서는 음성반응을 나타내는 균주를 찾을 수 있었다. 이는 *coagulase gene*으로부터 단백질의 발현이 되지 않거나 약한 발현 현상을 나타내었을 가능성이 있으며, 또한 *coagulase gene*이 부재하는 *S. aureus* 균종이었을 가능성도 있는 것으로 판단된다. 따라서 본 균주에 대해서 분자 생물학적인 방법을 통해 *coagulase gene*의 확인과 단백질 발현 양상의 정도를 추가적으로 확인할 필요가 있는 것으로 사료된다. 또한 *coagulase* 시험 시 혈장과 멸균 생리식염수를 1:2로 희석하여 사용할 때가 더 효과적인 반응 결과를 관찰할 수 있었으며, 모든 혈장의 희석 배수에서 24시간 동안 반응시키는 것이 결과를 판정함에 있어 더 정확성을 높일 수 있는 것으로 확인되었다. 이와 같은 결과는 신선 토끼 혈장을 이용한 *coagulase* 시험 시 혈장의 사용량을 줄일 수 있는 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

최근 들어 분자 생물학적인 방법과 진단 kit 등을 이용한 원인체 동정이 일반화 되면서 생화학적 성상 검사에 대한 중요성이 낮아지고 있는 실정이지만 세균의 최종 분리·동정을 위한 1차 동정에 있어서는 여전히 각 균종의 특이적 생화학적 성상검사에 의존하고 있으므로 국내 말에서 분리되는 *S. aureus*에 대한 생화학적 성상을 본 연구를 통해 조사한 결과 기본적인 생화학적 성상은 기타 동물 및 사람에서 분리되는 *S. aureus*의 생화학적 성상과 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 하지만 *urease test*에서 나타나는 결과는 분리된 균주의 73%만이 양성반응을 나타내었다. 이는 각 개체에서 분리된 *S. aureus*의 유전학적 특성에도 차이가 있음을 의미하는 것으로 판단된다.

국내에서는 소, 돼지, 닭 등의 산업동물로부터 분리되는 *S. aureus*에 대한 특성 및 약제 내성양상에 관한 연구는 각 개체별 고유의 병원성 발생에 따른 의미에서 뿐만 아니라 인수공통체로서의 중요성이 부각되면서 많은 연구가 진행되어 높은 연구 성과를 얻고 있다. 하지만 국내 말 유래 *S. aureus*에 관한 특성 연구는 본 연구를 기점으로 하여 초기단계에 있으므로 지속적인 모니터링을 통한 약제내성 양성의 변화 및 사람에게도 치명적인 병원성 세균으로 작용할 수 있는 MRSA와 VRSA에 대한 연구도 계속해서 진행해야 할 것으로 사료된다.

따라서 말에서 분리되는 *S. aureus*로부터 MRSA 및 VRSA의 검출을 위해 더 많은 두수로부터 시료를 채취하여 연구를 진행해야 할 것이며, 주요 병원성 인자인 *coagulase gene*의 PCR을 통한 검색 및 발현 정도를 분자생물학적인 방법을 통해 수행하여 *S. aureus*의 병원성에 관한 연구도 필요할 것으로 사료된다.

요 약

국내에서 사육중인 말에서 채취한 시료로부터 *Staphylococcus aureus*를 분리·동정한 결과 39.2%(58/148)의 분리율을 나타내었다.

*S. aureus*의 혈장응고효소 생산능 시험에서는 98.3%가 양성반응을 나타내었고 신선 혈장의 희석농도는 1:2에서 가장 높은 양성반응을 나타내었다.

본 연구에서 최종 동정된 *S. aureus*의 기본적인 생화학 성상은 일반적으로 알려져 있는 *S. aureus*의 특성과 유사한 결과를 얻을 수 있었으나, urease test의 경우 전체 균주의 73%만이 양성 결과를 나타내어 균주별로 다양한 반응 양상을 관찰할 수 있었다. 또한 34종의 substrate에 대한 분해 양상에 대한 검사 결과 fructose, maltose, α -hydroxy butyric acid, thymidine-5'-mono phosphate, uridine-5'-mono phosphate 등의 substrate에 대해서는 모든 균주가 이용능력을 가지고 있었지만 ribose, sorbitol, xylose, xylitol 등의 substrate에 대해서는 모든 균주가 기질 이용능력을 가지고 있지 않은 것으로 확인되었다. 그리고 PCR에 의한 *S. aureus*를 동정한 결과 108bp 크기의 band를 확인하였다.

국내 말에서 분리한 58주의 *S. aureus*에 대한 약제 내성 양상을 조사한 결과 spectinomycin, sulfonamides, erythromycin, tetracyclin, ciprofloxacin, neomycin, enofloxacin, penicillin 등의 약제에 높은 저항성을 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 2007년 경북대학교 학술연구비의 지원에 의해 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

References

- Anderson, M. E. and J. S. Weese. 2007. Evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from nasal swabs in horses. *Vet. Microbiol.* **16**, 185-189.
- Bauer, A. W., W. M. M. Kirby and J. C. Sherris. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* **45**, 493-496.
- Beck, W. D., B. Berger-Bachi and F. H. Katser. 1986. Additional DNA in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and molecular cloning of *mec*-specific DNA. *J. Bacteriol.* **165**, 373-378.
- Cho, G. J. and K. H. Cho. 2004. Antimicrobial drugs susceptibility of bacterial flora in horses with respiratory tract infections. *Korean J. Vet. Serv.* **27**, 153-157.
- Choi, S. K., S. G. Lee, J. H. Yang and G. J. Cho. 2007. Distribution and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria isolated from genital tract in Thoroughbred Mares. *J. Vet. Clin.* **24**, 19-25.
- Cuny, C., J. Kuemmerle, C. Stanek, B. C. Willey, B. Strommenger and W. Witte. 2006. Emergence of MRSA infections in horses in a veterinary hospital: strain characterisation and comparison with MRSA from humans. *Euro. Surveill.* **11**, 44-47.
- Francis, A. and Waldvogel. 1995. *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). pp. 1754-1755, In: Mandell Douglas and Bennetts Principles and Infections Disease. 4th eds., Churchill Livingstone.
- Geisei, R., F. J. Schmitz, L. Thomas, G. Berns, O. Zetsche and B. Urich. 1999. Emergence of heterogenous intermediate vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates in the Dusseldorf area. *J. Antimicrob. Chemother.* **43**, 846-848.
- Han, S. J., P. M. Jung, H. G. Kim, E. H. Hwang and I. W. Seong. 1989. Multiple intestinal ulcerations and perforations secondary to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* enteritis in infants. *J. Pediatr. Surg.* **34**, 381-386.
- Hartmann, F. A., S. S. Trostle and A. A. O. Klohn. 1997. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **221**, 590-592.
- Kaida, S., T. Miyata and Y. Yoshizawa. 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequence of coagulase gene from *Staphylococcus aureus* strain 213. *Nucleic Acids Res.* **17**, 8871.
- Kim, S. K., Y. S. Lee, T. J. Lee, T. Y. Lee and H. S. Kim. 1993. Identification and antimicrobial susceptibility aspects of pathogenic *Staphylococcus aureus*. *J. Korean Soc. Microbiol.*, **28**, 251-258.
- Lencastre, D. H., M. Chung and H. Westh. 2000. Archaic Strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular and microbiological properties of isolates from the 1960s in Denmark. *Microb. Drug Resist.* **6**, 1-10.
- Moon, J. Y., E. J. Lee and Y. B. Kim. 2004. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by Multiplex PCR. *J. Bacteriol. Virol.* **34**, 91-100.
- Quinn, P. J., M. E. Carter, B. Markey and G. R. Carter. 1994. Clinical veterinary microbiology. pp. 18-126. Mosby, St. Louis, USA.
- Schuenck, R. P., M. C. Lourenco, N. L. Iório, A. L. Ferreira, S. A. Nouér and K. R. Santos. 2006. Improved and rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage using selective broth and multiplex PCR. *Res. Microbiol.* **157**, 971-975.
- Yang, Y. J., G. J. Cho and T. C. Nam. 2004. A survey on characteristics of reproduction in Jeju Thoroughbred mares. *Korea J. Vet. Res.* **44**, 105-111.
- Yang, Y. J., G. J. Cho, S. T. Shin and T. C. Nam. 2003. Effects on pregnancy of reproductive environments by ultrasonography in Thoroughbred mares. *J. Vet. Clin.* **20**, 121-130.