Journal of Life Science 2008 Vol. 18. No. 3. 369~373 ©JLS / ISSN 1225-9918

더러브렛 말의 피부병변에서 분리한 *Staphylococcus intermedius*의 약제 감수성 양상

최성균 · 박청규 · 권오덕 · 조길재*

경북대학교 수의과대학

Received February 12, 2008 / Accepted March 18, 2008

Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Staphylococcus intermedius* Isolated from Skin Lesions of Thoroughbred Horse. Seong-kyoon Choi, Cheong-kyu Park, Oh-deog Kwon and Gil-jae Cho*. *College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea* - *Staphylococcus intermedius* (*S. intermedius*) has been rarely isolated from horse. In this study, we investigated the antimicrobial susceptibility patterns of *S. intermedius* isolated from skin lesions of Thoroughbred horse in Daegu Equestrian Association. The skin lesions were showed with dehairing and slight purulent inflammation. Bacteria were isolated from skin lesions and identified as *S. intermedius* by biochemical tests and MicroLog (BIOLOG, California, USA). Antimicrobial susceptibility test of *S. intemedius* isolates was performed with 33 antimicrobial agents (BBL, Maryland, USA) by using the agar disk diffusion method. It showed a high sensibility in the amikacin, amoxycillin/clavuramic acid, ampicillin, cefoxitin, cephalothin, chloramphenicol, ciprofloxacin, enrofloxacin, florfenicol, kanamycin, neomycin, nitrofurantoin, norfloxacin, ofloxacin, oxacillin, penicillin G, tetracycline and vancomycin. The horse was treated with penicillin, and cured completely after two weeks. The present results showed valuable information for treatment and prevention of skin disease in horse.

Key words : Antimicrobial agents, horse, skin lesion, *Staphylococcus intermedius*

서 론

Staphylococcus spp.는 사람과 동물 모두에서 감염을 일으키는 그람 양성 구균으로 전 세계적으로 분포하며 자연에서 흔히 검출되는 세균이다. *Staphylococcus* spp.에 의한 피부 감염증은 *Staphylococcus aureus, Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus, Staphylococcus intermedius*와 같은 coagulase-positive *Staphylococcus* spp.가 주된 원인체로 알려져 있다[4,5,10,14,16,19]. 하지만 말의 화농성 피부 병변에서는 *Staphylococcus aureus (S. aureus)*가 주로 분리되며, *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* 나 *S. intermedius*의 분리는 드문 것으로 알려져 있다[13,15,20].

*S. aureus*와 *S. intermedius*와 같은 coagulase-positive *Staphylococcus*는 enterotoxins (A, B, C, D), protein A, hemolysins, leukocidins, dermonecrotoxins 등을 생산하며, 이들의 복합적 작용에 의해 피부 감염 시 병리적 변화를 유발하게 된다[19]. 특히 protein A 및 enterotoxin C 등의 독소는 각각 superantigens으로 작용하며, 국소 감염 피부 부위에 면역 반응을 유발하게 되어 전형적인 화농성 피부염을 유발하게 된다[4,8-10,14].

Staphylococcus spp.에 의한 대표적인 말의 세균성 피부병은 모낭염(folliculitis), 절종증(furunculosis), 발굽의 모낭염(pastern folliculitis), 꼬리 농피증(tail pyoderma), 봉와직염(cellulitis), 피하 농양(subcutaneous abscess) 등이 있으며, 이들 질병 대부분은 주로 화농성 병변을 보이지만 삼출, 부종, 미란, 궤양 및 가려움증을 동반한 탈모를 나타내기도 한다[7,13-15,19,21].

본 연구에서는 세균성 피부병의 증상이 의심되는 더러브렛 암말(회색, 12세)의 탈모 및 화농성 피부 병변으로부터 시료를 채취하여 피부병의 원인체인 *S. intermedius*를 분리하고 동정하였다. 또한 *S. intermedius*에 의한 감염증 발생 시 치료 및 예방에 유용한 약제를 선택하고자 약제에 대한 감수성 양상과 감수성 검사를 통해 얻은 약제를 사용하여 치료한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시재료

대구시 승마협회에서 사육중인 더러브렛 암말(회색, 12세)의 등과 우측 복부 부위 등 4곳에서 탈모와 경미한 화농성 병변이 관찰되었다(Fig. 2). 마체 검사에서 식욕, 배뇨, 배변 등 건강상태는 전반적으로 양호하였다. 피부 병변으로부터의 시료채취는 먼저 병변부의 가장자리에서 무균적으로 모세관 출혈이 생길 때까지 blade의 등쪽 날과 멸균된 면봉을 이용하여 찰과 후 시료를 채취하였다. 또한 초기 화농성 병변의 가장자리에서 1 cc 주사기를 이용한 fine needle aspiration을 통해 시료를 채취하였다.

원인균 분리 및 동정 시험

말의 피부 병변으로부터 swab를 이용하여 채취한 시료는

*Corresponding author
Tel : +82-53-950-5978, Fax : +82-53-950-5955
E-mail : chogj@knu.ac.kr

먼저 direct smear하여 그람 염색을 한 후 현미경 시야 상에서 감염 형태에 대한 검사를 실시하였다.

곰팡이 분리를 위해 병변부에서 채취한 시료를 Sabouraud dextrose agar (SDA)와 Dermatophyte test medium (DTM, BBL, Maryland, USA) plate에 도말하여 25°C에서 7일간 배양하며 곰팡이의 발육상태를 확인하였다. 세균의 분리·동정은 시료를 Blood agar와 MacConkey agar (Difco, Michigan, USA) plate에 도말하여 37°C에서 24시간 배양 후 배양된 집락의 형태, 그람 염색 양상, 생화학적 검사를 통해 1차 분리 동정한 후 미생물 자동 동정 기기(BIOLOG, California, USA)를 이용하여 최종적으로 동정하였다.

항생제 감수성 시험

분리된 세균은 33종의 항균제를 대상으로 National Committee for Laboratory Standard (NCCLS)의 기준에 따라 디스크 확산법[1]으로 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 분리된 세균은 Muller-Hinton broth (MHB, BBL, Maryland, USA)에 접종하고 37°C에서 2~8시간 증균시킨 후 McFarland No. 0.5 (1.5×10^8/ml)의 농도로 조절한 다음 Muller-Hinton agar (MHA, BBL, Maryland, USA) plate에 도말하여 항균제 disk (BBL, Maryland, USA)를 놓은 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 disk 주위의 complete inhibition zone의 크기를 측정하여 항균제에 대한 감수성 유무를 결정하였다.

결 과

말의 피부 병변으로부터 swab를 이용하여 채취한 시료에 대해 direct smear한 결과 현미경 상에서는 그람 양성 구균이 우세하게 관찰되었으나 곰팡이의 포자나 균사체는 관찰할 수 없었다.

말의 피부병변으로부터 곰팡이와 세균을 배양하여 동정한 결과 곰팡이의 발육은 관찰할 수 없었으나 분리된 세균은 agar plate 상에서 배양된 집락의 형태, 그람 염색 양상, 생화학적 특성 검사(Table 1, 2)를 통해 1차 동정한 후 미생물 자동 동정 기기(BIOLOG, California, USA)를 이용하여 동정한 결과 *Staphylococcus intermedius*로 확인되었다(Fig. 1).

분리균을 대상으로 33종의 항생제에 대한 감수성 시험 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 주로 penicillin계 항생제에 높은 감수성을 나타내었으며, 기타 약제에 대해서도 비교적 높은 감수성을 나타내었다.

항생제 감수성 검사 결과에 따라 β-lactam계열 항생제인 penicillin 제제를 이용하여 5일간의 약물처치(포르테실린®콤프Ⅲ, Bayer, IM, 15~30 ml/1두/1일)와 병변부에 소독(베타딘®농후액, 한국파마, 2~3회/일)을 병행하여 치료한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 피부병변은 정상적으로 회복되었고 그 후 재발도 일어나지 않았다.

Table 1. Biochemical characteristics of *Staphylococcus intemedius* strain isolated from Thoroughbred horse skin lesions

Tests	Results
Catalase	+
Oxidase	+
OF (Oxidation/Fermentation) test	*Fermentation*
Coagulase test	+
DNase test	+
Haemolysis	+
Pigment production	−
Alkaline phosphatase	+
Urease (Urea broth, BBL/USA)	+
Aesculin hydrolysis	−
Novobiocin (5 ug disc)	*Susceptible*
Polymyxin B (300 unit disc)	*Susceptible*

Table 2. Fermentative properties of *Staphylococcus intemedius* isolated from Thoroughbred horse skin lesions

Fermentable substrates	Results	Fermentable substrates	Results
Dextrin	+	β-cyclodextrin	−
Mannan	+	Inulin	−
Fructose	+	Arabitol	−
Glucose	+	Melezitose	−
Lactose	+	Arbutin	−
Galactose	+	Fucose	−
Maltose	+	Inositol	−
Mannitol	+	Raffinose	−
Mannose	+	Xylitol	−
Psicose	+	Rhamnose	−
Ribose	+	Stachyose	−
Trehalose	+	Adenosine	+
Turanose	+	Inosine	+
α-cyclodextrin	−	Uridine	+

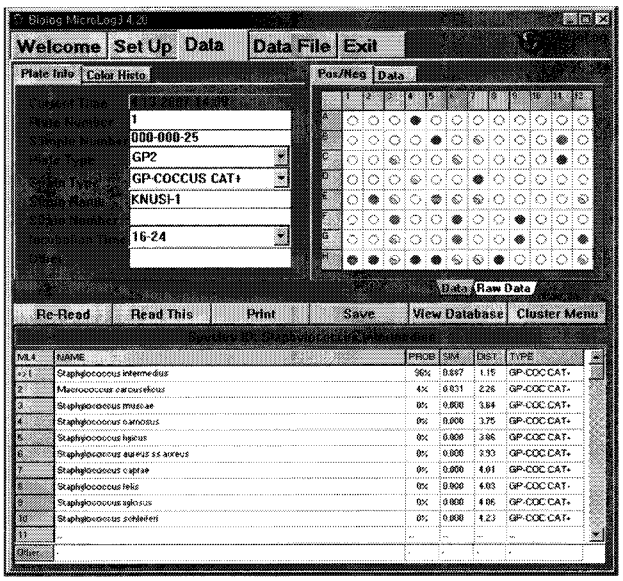

Fig. 1. Identification of *Staphylococcus intermedius* by using Biolog Ver. 4.20 program.

Table 3. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus intermedius* isolated from Thoroughbred horse skin lesions

Susceptibility	Antimicrobial agents
Susceptible	Amikacin, Amoxycillin/clavuramic acid, Ampicillin, Cefoxitin, Cephalothin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Enrofloxacin, Florfenicol, Kanamycin, Neomycin, Nitrofurantoin, Norfloxacin, Ofloxacin, Oxacillin, Penicillin G, Tetracycline, Vancomycin
Moderately susceptible	Apramycin, Lincospectin, Sulphamethoxazole, Tylosin
Intermediate	Ceftiofur, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Nalidixic acid, Sulfonamides, Tiamulin
Resistant	Colistin sulphate, Mecillinam, Spectinomycin, Streptomycin

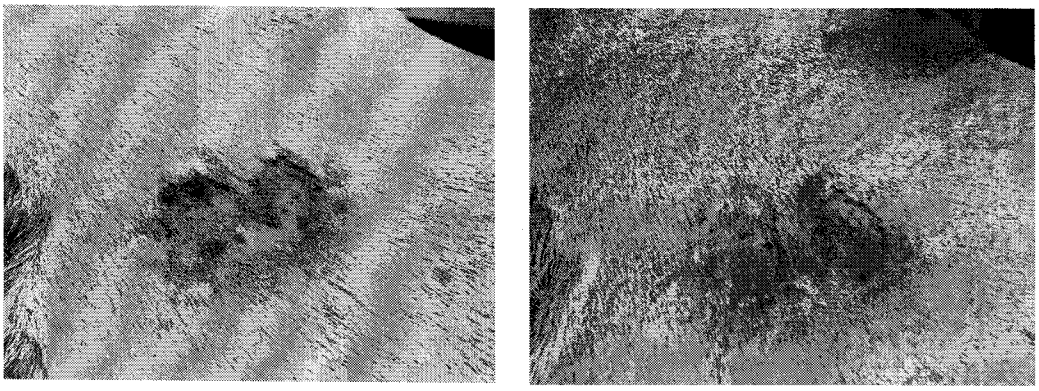

Fig. 2. Left: Clinical findings of alopecia, pustular and ulcer lesion on the shoulder were showed before therapy. Right: Clinical signs were improved after antibiotics therapy.

고 찰

말에서의 피부병 발생은 소화기나 호흡기 등 다른 질병에 비해 개체에 치명적이지는 않지만, 2차 감염으로 인한 전신성 감염증으로 전이될 가능성이 높다. 또한 *Staphylococcus* spp.에 의한 감염증은 사람에게도 감염될 수 있는 인수공통질병의 원인체이므로 사람과의 접촉이 잦은 승용말의 경우 다른 질병보다 치료 및 예방이 더욱더 중요하다[4,6,11].

*S. intermedius*는 말을 비롯하여 여러 동물에서 농피증, 창상 감염, 호흡기 및 비뇨생식기계 감염증 등 여러 감염증의 주요한 병인체로 작용하고 있다[3,17,22]. 이 균종은 처음에는 *S. aureus*로 통칭되었으나 1971년 Hájek 및 Maršálek [12]가 사람과 동물로부터 분리되고 있는 *S. aureus*를 이 균이 나타내는 몇가지 특징 있는 성상의 차이에 근거하여 6가지의 생물형(A~F형)으로 분류하였고, 이 분류법에 따라 개와 말로부터 분리되는 균주는 생물형 E, 그리고 비둘기로부터 분리되는 균주는 생물형 F로 분류되었다. 그 뒤 Hájek [11]에 의해 생물형 E와 F에 속하는 균주는 색소생성, acetoin 및 hyaluronidase 생성 음성, 그리고 β-galactosidase 생산 양성 등의 생화학적 성상이 전형적인 *S. aureus* (A~D형)와는 분명하게 구별됨에 따라 이들 두 생물형에 속하는 균주를 다시 *S. intermedius*라는 새로운 균종으로 명명하여 현재 *S. intermedius*로 분류하여 사용하고 있다[17].

*S. intermedius*에 의한 말의 피부병은 *S. aureus* 피부 감염증에 비해 드물게 발생한다고 알려져 있지만[9], 최근에는 *S. intermedius*에 의한 세균성 피부병의 발생 역시 *S. aureus*와 거의 비슷한 비율로 나타난다고 보고되고 있다[2,4,21]. 국내 말에서 피부사상균에 관한 연구는 보고된 바 있지만[3], *Staphylococcus* spp.에 의한 세균성 감염증에 대한 연구는 거의 없는 실정으로서 본 연구에서 얻은 기초자료를 바탕으로 지속적인 세균성 피부병의 원인체에 대한 모니터링이 필요할 것으로 판단된다. 또한 피부유래 세균에 대한 모니터링을 통해 말의 피부병 발생 시 가장 효과적인 치료 방법을 제시하여야 할 것이며, *Staphylococcus* spp.의 많은 균주들이 인수공통 전염병의 원인체로 작용할 수 있으므로, 분자 생물학적 방법을 통한 역학적 조사도 반드시 수행하여 사람으로의 감염을 막을 수 있는 방법도 모색하여야 할 것으로 사료된다.

말의 피부병변에서 분리한 *S. intermedius*에 대해 항생제 감수성 검사를 실시한 본 연구결과 대부분의 약제에 대해서 높은 감수성을 나타내었다. 이러한 결과는 다른 동물에 비해 말은 항생제에 대한 노출 빈도가 낮기 때문으로 판단된다. 그리고 개체 치료에 대한 비중이 높은 축종인 말에서의 항생제 처치는 적절한 검사를 통해 개체가 보유하고 있는 정상 세균총 및 상재성 기회감염 세균에 대해 약제 내성 획득을 최대한 억제하는 방향으로 적용해야 할 것이다.

본 연구 이전에는 마주가 자가적으로 국소 진균성 피부 감

염증으로 진단하여 에코나졸계의 항진균성 연고제(팡가졸®, 현대약품)를 사용하여 도포와 동시에 aminoglycosides계 항생제(Gentamycin®, 삼무메디안, IM, 0.05 ml/kg)를 주사하여 자가 치료를 실시하였지만 병변부의 상태가 호전되지 않아 본 실험실로 검사의뢰 되었다. 먼저 병력청취 후 실험실 검사 결과가 나오기까지 이전의 모든 자가 진료를 중지하였고 환부 주변은 삭모를 실시하였다. 또한 검사의뢰 말에 대한 정밀검사를 실시한 결과 마주가 설명한 등쪽 부위의 병변부 뿐만 아니라 복부 및 둔부에서도 화농성 병변부를 찾을 수 있었으며, 이를 통해 국소 진균성 피부 감염증뿐만 아니라 세균성 감염증에 대한 가능성 또한 추측할 수 있었다.

SDA와 DTM배지에서 곰팡이의 발육은 관찰할 수 없었으며, blood agar에서 용혈성 등 배양된 집락의 형태, 그람 염색 양상, 생화학적 특성 검사와 미생물 자동 동정 기기(BIOLOG, California, USA)를 이용하여 동정한 결과 *S. intermedius*로 확인되어 *S. intermedius*에 의한 세균성 피부 감염증으로 진단하였다. 그 후 *S. intermedius*에 대한 항생제 감수성 검사 결과에 따라 penicillin계 항생제(포르테실린®콤프Ⅲ, Bayer, 15~30 ml/1두/1일)를 5일 동안 처치하였고, 병변부에 소독(베타딘® 농후액, 한국파마, 2~3회/일)을 병행하여 치료한 결과 피부병변은 정상적으로 회복되었고 그 후 재발도 일어나지 않았다.

말에서 원발성 세균성 피부 감염증의 발생은 극히 드물며, 피부 표피의 손상, 면역기능 이상, 대사 이상 등에 의해 속발성으로 발생하는 경우가 일반적이다. 또한 세균성 감염증 발생 시 원발 및 속발성 감염증으로 판단하기는 임상적으로 뿐만 아니라 실험실 검사 상으로도 상당히 어려운 부분이 따르게 된다.

본 승용말의 경우 승마 시 안장 및 기타 마구에 의한 가벼운 창상에 따른 국소적 피부 손상으로 인해 2차적으로 *S. intermedius*의 colonization이 성립된 것으로 판단되며, 말의 피부에서 *S. intermedius*는 transient bacteria로 분류되고 있으므로, 본 연구에서 분리·동정된 *S. intermedius*는 세균성 피부 감염증에 있어 그 의미가 높은 것으로 판단된다.

일반적으로 세균성 피부 감염증의 경우 외용 연고제의 도포는 환부를 외부와 차폐시켜 국소적인 습윤도를 높은 상태에서 유지시키게 된다. 이와 같은 국소부위의 환경은 세균의 증식에 오히려 더 좋은 환경을 제공하기도 하여 감염증의 악화를 초래할 수 도 있으며, 전신성 감염증으로 인해 환마에 치명적인 결과를 초래할 수도 있다. 따라서 본 연구에서 분리·동정된 통성 혐기성 세균인 *S. intermedius*는 연고제에 의해 차폐되어 국소적으로 혐기적이고, 습윤한 환경에서 폭발적으로 증식함으로써 병증을 유발한 것으로 생각된다.

본 연구 대상말의 경우 잘못된 자가 진단과 부적절한 처방으로 인해 병증의 악화를 초래하게 되었다. 일반적으로 진균성 피부 감염증의 경우 전형적으로 탈모 병변을 나타내지만 세균성 피부 감염증은 탈모 병변이 뚜렷하게 나타나지 않는 특징이 있다. 하지만 세균성 피부 감염증이 진행되어 병변부의 미란 및 궤양이 발생하게 되면 진균성 피부 감염증과 유사한 형태의 탈모 병변을 동반하기도 한다. 또한 연고제의 사용은 병증의 상태를 더욱 악화시킬 가능성을 가지고 있으므로 외용 연고제를 사용한 치료 시에는 환마의 상태를 고려하여 적용하여야 할 것으로 판단된다.

따라서 탈모와 화농성 피부병변을 동반한 피부병의 발생 시 원인체의 분리·동정 및 항생제 감수성 검사를 위한 실험실 검사가 반드시 병행될 때 가장 효율적인 치료가 이루어질 수 있을 것으로 판단된다.

결 론

탈모와 화농성 병변이 관찰된 더러브렛 말의 피부로부터 *S. intermedius*를 분리·동정하였으며, 말에서 *S. intermedius*에 의한 세균성 피부 감염증 발생을 국내에서 처음으로 보고하는 바이다.

본 연구에서 분리된 *S. intermedius*에 대한 항생제 감수성 시험 결과 β-lactam계열 항생제인 penicillin계 항생제에 높은 감수성을 나타내었다. 항생제 감수성 검사 결과에 따라 β-lactam계열 항생제인 penicillin 제제를 이용하여 5일간의 약물처치(포르테실린®콤프Ⅲ, Bayer, IM, 15~30 ml/1두/1일)와 병변부에 소독(베타딘®농후액, 한국파마, 2~3회/일)을 병행하여 치료한 결과 피부 병변은 정상적으로 치유되었다.

References

1. Bauer, A. W., W. M. M. Kirby and J. C. Sherris. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* **45**, 493-496.
2. Biberstein, E. L., S. S. Jang and D. C. Hirsh. 1984. Species distribution of coagulase-positive staphylococci in animals. *J. Clin. Microbiol.* **19**, 610-615.
3. Choi, W. P., H. J. Lee, G. J. Cho and T. Y. Ha. 1996. Dermatophytes and skin mycoflora in horse. *Korean J. Vet. Res.* **36**, 389-394.
4. Cox, H. U., S. S. Newman, A. F. Roy and J. D. Hoskins. 1984. Species of *Staphylococcus* isolated from animal infections. *Cornell Vet.* **74**, 124-135.
5. Devriese, L. A. and P. Oeding. 1976. Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species. *Res. Vet. Sci.* **21**, 284-291.
6. Devriese, L. A., D. Nzuambe and C. Godard. 1985. Identification and characteristics of staphylococci isolated from lesions and normal skin of horses. *Vet. Microbiol.* **10**, 269-277.
7. Devriese, L. A., K. Vlaminck, J. Nuytten and P. De Keersmaecker. 1983. *Staphylococcus hyicus* in skin lesions of horses. *Equine Vet. J.* **15**, 263-265.
8. Elze, K., J. Schulz and O. Rob. 1994. Dermonekrose in

Verlauf des Ramus caudalis der Vena saphena lateralis beim Fohlen infolge einer *Staphylococcus aureus* Infektion. *Tierarztl. Prax.* **22**, 55-57.

9. Foster, A., K. Kwochka, G. Bertola and A. Hillier. 2005. Advances in veterinary dermatology. pp. 331-401. Vol. **5**. Blackwell publishing Oxford, UK.
10. Goyette, G. and R. Higgins. 1998. Resistance des isolates de *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* d'origine porcine et equine envers differents agents antimicrobiens. *Med. Vet. Quebec.* **18**, 199-204.
11. Hajek, V. 1976. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **26**, 401-403.
12. Hájek, V. and E. Maršálek. 1971. The differentiation of pathogenic staphylococci and a suggestion for their taxonomic classification. *Zbl. Bakt. Hyg. Abt. 1 Orig. A.* **217**, 176-182.
13. Hartmann, F. A., S. S. Trostle and A. A. Klohnen. 1971. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **211**, 590-592.
14. Lloyd, D. H. and K. C. Sellers. 1976. *Dermatophilus* infection in animals and man. pp. 198-243. Academic Press Inc., New York, USA.
15. Markel, M. D., J. D. Wheat and S. S. Jang. 1986. Cellulitis associated with coagulase-positive *staphylococci* in race-horses: nine cases (1975-1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **189**, 1600-1603.
16. Oeding, P., V. Hajek and E. Marsalek. 1974. A comparison of antigenic structure and phage pattern with biochemical properties of *Staphylococcus aureus* strains isolated from horses. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand. B.* **82**, 899-903.
17. Park, C. K., S. K. Kim, Y. J. Lee, S. G. Yeo and K. S. Kim. 2005. Phage typing of *Staphylococcus intermedius* isolated from canine clinical specimens. *J. Korean Society Microbiol.* **3**, 191-196.
18. Sanchez-Negbrete M., A. Couvert, A. Laplanche and C. Renner. 1986. Ulcera estafilococia en piel de equinos. *Vet. Argentina* **3**, 43-45.
19. Scott, D. W. 1988. Large animal dermatology. pp. 58-203. WB Saunders. Philadelphia, USA.
20. Shimizu, A., Y. Ozaki, J. Kawano, Y. Saitoh and S. Kimura. 1992. Distribution of *Staphylococcus* species on animal skin. *J. Vet. Med. Sci.* **54**, 355-357.
21. Shimozawa, K., Y. Ueno, S. Ushiya and R. Kusunose. 1997. Fungal and bacterial isolation from race horses with infectious dermatoses. *J. Equine Sci.* **8**, 89.
22. Yasuda, R., J. Kawano, H. Onda, M. Takagi, A. Shimizu and T. Anzai. 2000. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from healthy horses in Japan. *Am. J. Vet. Res.* **61**, 1451-1455.