

< Original Article >

경북지역 개와 고양이에서 methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) 검출률 조사

변준호^{1,2} · 손준형¹ · 이영미¹ · 정효훈² · 오태호^{2*}

경북동물위생시험소 북부지소¹, 경북대학교 수의과대학²

Detection of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) isolated from dogs and cats in Kyungpook Area

Jun Ho Byun^{1,2}, Jun Hyung Sohn¹, Young Mi Lee¹, Hyo Hoon Jeong², Tae Ho Oh^{2*}

¹North Branch, Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Andong 36621, Korea

²College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

(Received 22 September 2017; revised 16 September 2018; accepted 25 October 2018)

Abstract

Identification of antibiotic resistant bacteria isolated from animals is necessary for seeking a proper treatment and for preventing the spread of the bacteria among animals. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) is of worldwide concern in veterinary medicine. This study was conducted to investigate the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*) isolated from dogs and cats. Out of the total number of 150 specimens, 35 isolates (23.3%) were identified as *S. pseudintermedius* when tested by MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectroscopy). Among them, 5 isolates (14.3%) were the case of MRSP. In the results of the antimicrobial susceptibility test, the isolates of *S. pseudintermedius* were susceptible to amikacin (100%), cephalothin (100%), vancomycin (100%), amoxicillin (85.7%), oxacillin (85.7%), enrofloxacin (82.8%), chloramphenicol (80%). On the other hand, they were resistant to penicillin (71.4%), tetracycline (48.6%), ampicillin (37.1%), kanamycin (31.5%), erythromycin (31.4%), respectively.

Key words : *Staphylococcus pseudintermedius*, MRSP, Antimicrobial susceptibility, MALDI-TOF

서 론

*Staphylococcus spp.*는 Gram 양성균의 비운동성 구균으로 현미경 상에서 특징적인 포도송이 모양을 보이며 크기는 보통 1 µm 내외이고 생화학적으로 catalase 양성, oxidase 음성을 나타낸다. 이 중 병원성을 보이는 *Staphylococcus spp.*는 *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. pseudintermedius* 등이 있다(Faller와 Schleifer, 1981). *S. pseudintermedius*는 개와 고양이의 피부와 점막에 상재하는 기회감염균으로, 2005년에 *S. intermedius*에서

재분류되었는데 수술 후 상처 감염, 눈과 피부, 요로, 호흡기관 등 다양한 조직에서 감염을 일으키는 중요한 세균 병원체이다. 특히 개의 농피증의 경우 80% 이상의 사례에서 *S. pseudintermedius*가 원인체로 알려져 있다(Pellerin 등, 1998; Devriese 등, 2005; van Duinkerken 등, 2011).

*S. pseudintermedius*에서 methicillin 내성 획득은 penicillin-binding protein2a (PBP2a)의 생산을 암호화하는 *mecA* 유전자에 의해 결정되는데 Methicillin-Resistant *S. pseudintermedius* (MRSP)의 변형된 PBP2a는 β-lactam 항생제에 대한 친화성이 낮기 때문에 항생제가 투여되어도 세포벽의 주 성분인 펩티도글리

*Corresponding author: Tae Ho Oh, Tel. +82-53-950-5959,
Fax. +82-53-950-7488, E-mail. thoh@knu.ac.kr

칸(peptidoglycan)을 합성하는 PBP2a 효소의 역할이 저해되지 않아 β -lactam 항생제에 대한 내성을 갖게 된다(Weese와 van Duijkeren, 2010). MRSP는 β -lactam 계열의 항생제 뿐 만 아니라 몇몇 다른 계열의 항생제에도 내성을 나타내고 있어 다제내성과도 많은 관련이 있다(Perreten 등, 2010; Ruscher 등, 2010; Dziva 등, 2015). 이로 인하여 MRSP 감염으로 수의 임상에서 치료 약제 선택이 어려울 수 있는데 국내에서 MRSP에 대한 연구는 규모가 크지 않은 개인병원에서 이루어지기에는 여의치 않아 폭넓은 연구가 이루어지지 못하고 있다(Wettstein 등, 2008; Yoo 등, 2010; Yoon 등, 2010; Kang 등, 2014).

세균동정을 위한 방법으로 기존의 직접 분리, 항원-항체 응집반응, 생화학 검사 뿐만 아니라 근래에는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), phage typing과 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), polymerase chain reaction (PCR) 등이 널리 사용되고 있는데 기존의 다른 동정법은 미생물의 종류에 따라 다르고, sample의 수가 늘어날수록 많은 시간이 소요되는 단점이 있어 신속하고 정확한 동정 기술이 요구되고 있다. 미생물을 빠르고 정확하게 측정할 수 있는 방법으로 질량분석법을 들 수 있는데 이러한 미생물 동정법으로 고분자 물질의 질량분석법인 MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectroscopy)가 있다. MALDI-TOF 질량분석법에 의한 미생물 동정은 Anhalt와 Fenselau에 의해 처음 시도되었고(Anhalt, Fenselau, 1975), 세균의 세포 단백질을 직접 분석하여 미생물을 구별하는 MALDI-TOF MS 질량분석법은 Holland, Krishnamurthy 등에 의해 구축되었다(Holland 등, 1996; Krishnamurthy, Ross, 1996). MALDI-TOF MS 질량분석법은 laser 조사를 이용한 질량분석법 중 하나로 항원-항체반응, DNA-DNA hybridization, 생체 적합성 시험에 의한 단백질 흡착 등 특이성을 분석하는 방법으로 활용되면서 세균 동정 등 생물정보 분야 전반에 걸쳐 다양하게 사용되고 있다(Kim 등, 2012). 이 방법은 matrix와 시료 화합물에 laser를 조사하면 matrix가 빠르게 증발하면서 방출되는 양전하 단백질이 진공 상태의 튜브를 통해 각각의 질량에 따라 각각의 flight time으로 detector에 도달한다. 이를 통해 측정된 분자량은 각각의 미생물 종에 따라 특이적으로 나타나기 때문에 분자 지문으로 해석될 수 있어서 미생물 동정에 유의미한 방법으로 이용 할 수 있다(Konnerth 등, 2014; Kuddirkiene 등, 2015; Sohn 등, 2016).

기존 논문들에서 개와 고양이에서 분리한 세균을 동정할 때 MALDI-TOF MS 질량분석법을 이용한 논문이 없었으므로 본 연구는 MALDI-TOF MS를 이용하여 경북지역 4개의 동물병원으로 내원한 개와 고양이 그리고 5개의 유기동물보호센터에 보호 중인 유기견에서 분리한 150개의 시료에서 *S. pseudintermedius*를 동정하였고, MRSP 검출률 확인과 약제 감수성을 조사하기 위해 디스크 확산법을 수행하였다.

재료 및 방법

시료

2016년 6월부터 2017년 2월까지 경상북도 지역의 4개 동물병원에 피부병변의 증상으로 내원한 개와 고양이를 비롯하여 5개의 유기동물보호센터에 보호 중인 유기견의 외이도 및 피부에서 각각 채취한 시료 150개(개 112두, 고양이 38두)에서 MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Germany)장비를 이용하여 *S. pseudintermedius*로 확인된 35주를 -80°C deep freezer에 보관하였다. 세균배양은 5% sheep blood agar (BBL, USA)에서 37°C , 18~24시간 배양하여 0.45% sodium chloride 용액 3 mL에 McFarland No 0.5로 탁도를 맞춘 후 시험 균액 280 μL 를 0.45% sodium chloride 용액 3 mL에 혼합하여 균의 탁도를 조절하였다. 탁도를 맞춘 시험 균액은 Vitek2 compact system (bioMérieux, France)을 활용한 생화학검사를 바탕으로 1차 동정한 후 실험에 사용하였다.

실험방법

MALDI-TOF MS를 이용한 *S. pseudintermedius* 동정: 세균의 동정을 위해 absolute acetonitrile (ACN) 500 μL , deionized water 475 μL 와 absolute trifluoroacetic acid (TFA) 25 μL 를 혼합한 유기용매(basic organic solvent)를 제조하고 유기용매 250 μL 로 matrix를 vortexing하여 녹인 후 spin down하여 matrix solution을 준비하였다. Direct transfer (DT)법으로 총 150개의 세균 샘플의 single colony를 target plate에 얇게 펴서 고르게 바른 후 준비된 matrix solution 1 μL 를 첨가하여 상온에서 건조하였다. 이렇게 준비된 target plate를 MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Germany) 장비를 사용하여 제조사에서 제공하는 flexControl을 실행하

고 target plate를 장비에 장착한 후 MALDI Biotyper RTC 소프트웨어를 실행하여 분석할 sample 위치와 수량을 지정한 다음 자동화된 순서에 따라 동정을 실시하였다. DT법으로 동정되지 않은 23개의 균주는 extended direct transfer (eDT)법으로 동정을 실시하였다. 실험결과는 결과의 값이 2.300~3.000인 경우 highly probable species identification, 2.000~2.299는 secure genus identification, probable species identification, 1.700~1.999는 probable genus identification이며 1.699 이하는 not reliable identification으로 소프트웨어 상에서 자동으로 판독한다.

항생제 감수성 시험과 MRSP 검출: 항생제 감수성 시험은 Clinical & Laboratory Standard Institute (CLSI)에서 권장하는 방법에 따라 디스크 확산법으로 실시하였다(CLSI, 2014). 분리한 균주는 Mueller-Hinton broth (Difco Laboratories, USA)에 접종하여 37°C에서 2~8 시간 증균한 후 이 균액을 멸균생리식염수로 희석하여 McFarland No 0.5의 탁도에 맞춘 다음 Mueller-Hinton agar (Difco Laboratories, USA)에 멸균된 면봉을 이용하여 도말하고 항생제 디스크를 평판 배지 위에 놓은 후 37°C, 24시간 배양하여 CLSI 가이드라인에 따라 억제대의 크기로 확인하였다. Oxacillin 디스크를 사용하여 내성양상을 보고 MRSP로 판정하였다.

이번 연구에서 사용한 항생제 감수성 디스크는 BBL (USA)과 Oxoid (UK)사의 제품으로 amikacin (BBL), amoxicillin (BBL), ampicillin (BBL), cephalothin (Oxoid), chloramphenicol (BBL), enrofloxacin (Oxoid), erythromycin (BBL), gentamicin (Oxoid), kanamycin (BBL), vancomycin (Oxoid), neomycin (BBL), oxacillin (BBL), penicillin (BBL), tetracycline (Oxoid) 총 14종의 항생제에 대하여 감수성 검사를 실시하였다.

결 과

2016년 6월부터 2017년 2월까지 경북지역 4개의 동물병원에 피부병변을 보여 내원한 개와 고양이의 피부병변에서 분리한 가검물과 5개의 유기동물보호센터에서 보호 중인 유기견의 외이도 및 피부에서 각각 분리한 가검물 150개(개 112두, 고양이 38두)로부터 *S. pseudintermedius* 35주(개 33주, 고양이 2주)를 분리하여 실험에 사용하였다. 개에서 분리한 33주는 외이도에서 28주, 코에서 1주, 피부에서 1주, 창상부

위에서 3주가 분리되었으며 고양이에서 분리한 2주는 외이도에서 1주, 창상부위에서 1주가 분리되었다. 분리된 위치로 분류해보면 외이도에서 총 29주, 코에서 1주, 피부에서 1주, wound infection에서 총 4주로 나타났다(Table 1).

S. pseudintermedius 35주에 대한 약제 감수성 양상은 amikacin (100%), cephalothin (100%), vancomycin (100%), amoxicillin (85.7%), oxacillin (85.7%), enrofloxacin (82.8%)의 약제에 비교적 높은 감수성을 보였고 ampicillin (62.8%), chloramphenicol (80%), tetracycline (51.4%), neomycin (68.5%), gentamicin (80%), kanamycin (68.5%), penicillin (28.6%), erythromycin (68.5%)의 감수성을 보이는 것으로 나타났다.

S. pseudintermedius 35주에 대한 약제 내성 양상은 amikacin (0%), amoxicillin (14.3%), ampicillin (37.2%), cephalothin (0%), chloramphenicol (20%), enrofloxacin (17.2%), erythromycin (31.5%), gentamicin (11.4%), kanamycin (31.5%), vancomycin (0%), neomycin (2.9%), oxacillin (14.3%), penicillin (71.4%), tetracycline (48.6%)의 내성을 나타내었다. 그리고 중간내성을 보인 항생제로는 gentamicin (8.6%), neomycin (28.6%) 이렇게 두종의 약제가 있었다(Table 2).

S. pseudintermedius 35주에 대하여 MRSP의 여부를 확인하기 위해 디스크 확산법으로 oxacillin에 대한 항생제 감수성 시험을 실시한 결과, oxacillin에 내성을 갖는 MRSP는 개의 외이도(4주), 피부(1주) 부위에서 총 5주(14.3%)가 분리되었다.

MRSP 5주에 대한 항생제 감수성 시험 결과 amikacin (100%), amoxicillin (0%), ampicillin (0%), cephalothin (100%), chloramphenicol (60%), enrofloxacin (20%), erythromycin (0%), gentamicin (40%), kanamycin (0%), vancomycin (100%), neomycin (0%), oxacillin (0%), penicillin (0%), tetracycline (0%)의 감수성을 보였고 약제 내성 양상은 amikacin (0%), amoxicillin (100%),

Table 1. Isolation rate of thirty five *S. pseudintermedius* isolates according to the skin regions in dogs and cats

Sites	No. of isolates (%)		
	Dogs	Cats	Total
Ear	28	1	29 (82.8)
Nose	1	-	1 (2.8)
Skin	1	-	1 (2.8)
Wound infection	3	1	4 (11.4)
Total	33	2	35 (100)

Table 2. Antimicrobial susceptibility test results of 35 *S. pseudintermedius* isolated from skin in dogs and cats in Kyungpook Area

Antimicrobial agents	Susceptible (%)	Intermediate (%)	Resistance (%)
Amikacin	35 (100)	0 (0)	0 (0)
Amoxicillin	30 (85.7)	0 (0)	5 (14.3)
Ampicillin	22 (62.8)	0 (0)	13 (37.2)
Cephalothin	35 (100)	0 (0)	0 (0)
Chloramphenicol	28 (80)	0 (0)	7 (20)
Enrofloxacin	29 (82.8)	0 (0)	6 (17.2)
Erythromycin	24 (68.5)	0 (0.0)	11 (31.5)
Gentamicin	28 (80)	3 (8.6)	4 (11.4)
Kanamycin	24 (68.5)	0 (0)	11 (31.5)
Vancomycin	35 (100)	0 (0)	0 (0)
Neomycin	24 (68.5)	10 (28.6)	1 (2.9)
Oxacillin	30 (85.7)	0 (0)	5 (14.3)
Penicillin	10 (28.6)	0 (0)	25 (71.4)
Tetracycline	18 (51.4)	0 (0)	17 (48.6)

ampicillin (100%), cephalothin (0%), chloramphenicol (40%), enrofloxacin (80%), erythromycin (100%), gentamicin (60%), kanamycin (100%), vancomycin (0%), neomycin (20%), oxacillin (100%), penicillin (100%), tetracycline (100%)의 내성을 나타내었다. Neomycin은 80%의 중간내성을 나타내었다(Table 3).

다제내성균주의 경우 사용한 총 14종의 항생제 중 어떠한 항생제에도 내성을 보이지 않고 모두 감수성을 보인 *S. pseudintermedius*는 8주(22.8%)로 나타났고 penicillin에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*가 4주(11.4%), chloramphenicol에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*가 1주(2.9%), tetracycline에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*가 1주(2.9%)로 나타났다. 그리고 ampicillin과 penicillin 두 약제에만 내성을 보인 *S. pseudintermedius*가 3주(8.6%), tetracycline과 penicillin 두 약제에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*가 6주(17.1%)였으며 kanamycin, erythromycin, penicillin 세 약제에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*가 1주(2.9%), ampicillin, tetracycline, penicillin에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*가 1주(2.9%), ampicillin, chloramphenicol, penicillin에만 내성을 보인 *S. pseudintermedius*가 1주(2.9%)로 나타났다. 4종의 항생제에만 내성을 나타낸 *S. pseudintermedius*는 없었으며 enrofloxacin, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin 5종의 항생제에 내성을 보인 *S. pseudintermedius* 1주(2.9%), chloramphenicol, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin 5종의 항생제에 내성을 보

Table 3. Antimicrobial susceptibility test results of five MRSP isolated from skin in dogs and cats in Kyungpook Area

Antimicrobial agents	Susceptible (%)	Intermediate (%)	Resistance (%)
Amikacin	5 (100)	0 (0)	0 (0)
Amoxicillin	0 (0)	0 (0)	5 (100)
Ampicillin	0 (0)	0 (0)	5 (100)
Cephalothin	5 (100)	0 (0)	0 (0)
Chloramphenicol	3 (60)	0 (0)	2 (40)
Enrofloxacin	1 (20)	0 (0)	4 (80)
Erythromycin	0 (0)	0 (0.0)	5 (100)
Gentamicin	2 (40)	0 (0)	3 (60)
Kanamycin	0 (0)	0 (0)	5 (100)
Vancomycin	5 (100)	0 (0)	0 (0)
Neomycin	0 (0)	4 (80)	1 (20)
Oxacillin	0 (0)	0 (0)	5 (100)
Penicillin	0 (0)	0 (0)	5 (100)
Tetracycline	0 (0)	0 (0)	5 (100)

인 *S. pseudintermedius*가 1주(2.9%)였다. Ampicillin, chloramphenicol, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin 총 6종의 항생제에 내성을 보인 *S. pseudintermedius*는 2주(5.7%)였으며 ampicillin, enrofloxacin, gentamicin, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin 총 7종의 항생제에 내성을 보인 *S. pseudintermedius*는 1주(2.9%)였다. Ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin 그리고 oxacillin에 내성을 보여 MRSP로 판명된 1주의 *S. pseudintermedius*는 총 8종의 항생제에 내성을 보였고 마찬가지로 oxacillin에 내성을 보여 MRSP로 판명된 2주의 *S. pseudintermedius*는 oxacillin을 포함하여 ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, gentamicin, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin 까지 총 9종의 항생제에 내성을 보였다. 여기에 ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, chloramphenicol, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin, oxacillin에 내성을 보여 총 9종의 항생제에 내성을 갖는 MRSP가 1주, ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, chloramphenicol, gentamicin, tetracycline, kanamycin, erythromycin, penicillin, oxacillin까지 총 10종의 항생제에 내성을 보인 MRSP 1주의 결과가 나왔다(Table 4).

Oxacillin에 내성을 갖는 MRSP 5주는 모두 8개 이상의 항생제에 내성을 보여 oxacillin에 감수성을 보이는 일반 *S. pseudintermedius*보다 다제내성 성향이 강했다. 총 5주의 MRSP 중 10제 내성균이 1주(20%)로 가장 많은 약제에 저항성을 보였고, 다음으로 9제 내성균이 3주(60%), 8제 내성균이 1주(20%) 순이었다

Table 4. Phenotypes of antimicrobial resistance in 35 strains of *S. pseudintermedius* isolated from skin in dogs and cats

Multiplicity of resistance	Resistance patterns	No. of isolates (%)
0		8 (22.8)
1	PC	4 (11.4)
	CM	1 (2.9)
	TE	1 (2.9)
2	AC, PC	3 (8.6)
	TE, PC	6 (17.1)
3	PC, KM, EM	1 (2.9)
	AC, TE, PC	1 (2.9)
	AC, CM, PC	1 (2.9)
5	ENR, TE, PC, KM, EM	1 (2.9)
	CM, TE, PC, KM, EM	1 (2.9)
6	AC, CM, TE, PC, KM, EM	2 (5.7)
7	AC, ENR, GM, TE, PC, KM, EM	1 (2.9)
8	AC, AMC, ENR, TE, PC, KM, EM, OC	1 (2.9)
9	AC, AMC, ENR, GM, TE, PC, KM, EM, OC	2 (5.7)
	AC, AMC, CM, ENR, TE, PC, KM, EM, OC	1 (2.9)
10	AC, AMC, CM, GM, NM, TE, PC, KM, EM, OC	1 (2.9)

*AC, ampicillin; AMC, amoxicillin; CM, chloramphenicol; ENR, enrofloxacin; GM, gentamycin; NM, neomycin; TE, tetracycline; PC, penicillin; KM, kanamycin; EM, erythromycin; OC, oxacillin.

(Table 5).

한편 Amikacin, cephalothin, vancomycin 세 종류의 항생제에 대하여 내성을 보인 *S. pseudintermedius*는 한주도 없었다.

고 찰

최근 들어 개와 고양이에서 MRSP 발생이 증가하고 있는데 이는 질병의 치료와 예방을 위한 항생제의 부적절한 사용, 외과수술과 장기간의 입원 등의 위험인자들과 관련이 깊다(van Duijkeren 등, 2011). 이번 연구에서는 150마리의 개, 고양이로부터 채취한 150점의 시료로부터 35주의 *S. pseudintermedius* 분리하여 23.3%의 분리율을 보였고 이 중 MRSP는 5주로 확인되어 14.3% (5/35)의 분리율을 나타내었다.

세균의 동정은 MALDI-TOF MS를 이용하여 Direct transfer (DT)법으로 총 150개의 시료를 동정하였고 DT법으로 동정되지 않은 23개의 균주는 extended direct transfer (eDT)법으로 다시 동정을 실시하였다. 이렇게 분리한 35주의 *S. pseudintermedius*를 Vitek2 com-

Table 5. Phenotypes of antimicrobial resistance in 5 MRSP isolates isolated from skin in dogs and cats

Multiplicity of resistance	Resistance patterns	No. of isolates (%)
8	AC, AMC, ENR, TE, PC, KM, EM, OC	1 (2.9)
9	AC, AMC, ENR, GM, TE, PC, KM, EM, OC	2 (5.7)
	AC, AMC, CM, ENR, TE, PC, KM, EM, OC	1 (2.9)
10	AC, AMC, CM, GM, NM, TE, PC, KM, EM, OC	1 (2.9)

*AC, ampicillin; AMC, amoxicillin; CM, chloramphenicol; ENR, enrofloxacin; GM, gentamycin; NM, neomycin; TE, tetracycline; PC, penicillin; KM, kanamycin; EM, erythromycin; OC, oxacillin.

pact system으로 동정해 본 결과 MALDI-TOF MS를 이용하여 동정한 결과와 같이 35주 모두 *S. pseudintermedius*라는 결과를 얻어 MALDI-TOF MS를 이용한 미생물 동정이 유의미한 방법으로 사용될 수 있다고 추측할 수 있었다.

총 35주의 *S. pseudintermedius*에서 항생제 감수성 디스크검사를 실시한 결과 amikacin (100%), cephalothin (100%), vancomycin (100%), amoxicillin (85.7%), oxacillin (85.7%), enrofloxacin (82.8%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 보였고 ampicillin (62.8%), chloramphenicol (80%), tetracycline (51.4%), neomycin (68.5%), gentamicin (80%), kanamycin (68.5%), penicillin (28.6%), erythromycin (68.5%)의 감수성을 보이는 것으로 나타났다.

Chloramphenicol은 독일에서 Kristina Kadlec과 Stefan Schwarz이 실시한 chloramphenicol (81.9%) 감수성과 비슷한 수치를 보였지만 핀란드(38.1%)보다 훨씬 높게 나타났으며(Grönthal 등, 2017) tetracycline은 65.1%의 감수성을 보인 독일보다 다소 낮게 나타났으나(Kristina Kadlec와 Stefan Schwarz, 2012) Onuma 등(2011)이 실시한 일본(57.1%)에서의 연구결과와 유사하게 나타났다. Amikacin의 경우 87%의 감수성을 보인 Gold 등(2014)의 결과보다 높은 수치를 보였고 핀란드에서 Grönthal 등이 실시한 실험과 동일하게 100%의 감수성을 보였고 Onuma 등(2011)의 97.1%와 유사한 수준으로 나타났다. Ampicillin의 경우에는 Rubin과 Chirino-Trejo (2011)이 캐나다에서 실시한 연구결과인 90.2%보다 낮은 감수성을 보였지만 일본에서의 38%에 비하여 상당히 높은 수준을 나타내었다(Onuma 등, 2011). Amoxicillin은 85.7%의 감수성을 나타냈는데 이는 Zur 등(2016)의 49.4%보다 매우 높

은 결과였고 Yoon 등(2010)의 결과인 90.5%와 비슷한 수치를 보였으며 enrofloxacin은 핀란드에서 Grönthal 등(2017)의 47%, 일본에서 Onuma 등(2011)의 51.3%보다 30% 이상의 높은 차이를 보였다. Vancomycin은 Onuma 등(2011)과 같은 100%의 감수성으로 약재내성이 아직 심각하지 않은 것을 확인하였고 Gentamicin의 경우는 80%의 감수성으로 일본의 데이터 상의 84.6%와 유사한 결과를 보였지만 Zur 등(2016)의 54.4%, Yoon 등(2010)의 33.5%보다는 매우 높은 감수성을 나타내었다. Neomycin은 노르웨이에서 실험한 Norström Madelaine 등(2009)의 90%보다 낮은 68.5%의 감수성을 보였고 kanamycin은 Onuma 등(2011)의 60%의 감수성과 크게 다르지 않은 68.5%로 나타났으며 68.5%의 감수성을 보인 erythromycin은 91%의 감수성을 보인 Norström Madelaine 등(2009)의 결과에 비하여 낮았으나, Onuma 등(2011), Zur 등(2016), Kang 등(2014), Yoon 등(2010)의 51.3%, 35.7%, 18.9%, 42%보다는 높은 수치를 확인할 수 있었다. Penicillin은 이번 실험에서 28.6%의 감수성을 보여 각각 60.1%, 30%로 나타난 Rubin과 Chirino-Trejo M (2011), Norström Madelaine 등(2009)의 결과에 비해서 다소 낮았으며, Yoon 등(2010)의 4.1%, Kang 등(2014)의 6%에 비하여 상대적으로 높은 감수성을 확인할 수 있었다.

MRSP는 개에서 100% (5/5), 고양이에서 0% (0/5)가 분리되었으며, 부위별로는 귀에서 4주(80%), 피부에서 1주(20%)로 확인되었는데 이는 MRSP의 출현이 개에서 흔하며, 귀와 피부는 MRSP의 가장 흔한 감염 부위라고 보고한 이전 연구자들의 보고와 매우 유사함을 알 수 있었다(Ruscher, 2009; van Duijkeren 등, 2011; Cho 등, 2016). 수의학에서 MRSP에 관한 연구는 주로 외이도염과 피부질환을 보이는 개를 대상으로 실시되어 왔는데 14.3%의 분리율을 보인 이번 연구 결과는 북미와 캐나다의 개에서 0%~4.5% (van Duijkeren 등, 2011), 독일의 개에서 7.4% (Nienhoff 등, 2011)보다 상대적으로 높게 나타났고, 중국의 개에서 12.7% (Wang 등, 2012), 일본의 개와 고양이에서 13.8% (Bardiau 등, 2013)의 결과와 유사한 수준으로 나타났으며 국내 개와 고양이에 대한 Cho 등(2016)의 20.9%, 중국의 47% (Feng 등, 2012), 일본의 개에서 30% (Sasaki 등, 2007), 국내 개에서 33.8%와 36% (Yoo 등, 2010; Kang 등, 2014)보다 낮게 나타났다. 이렇게 MRSP의 분리율이 상이한 것은 시료채취와 검사법의 차이, 지역적 특성 및 질병유무 등에 기

인하는 것으로 보고되어 있다(Wang 등, 2012). 본 실험과 가장 유사한 상황에서 실험한 Cho 등(2016)의 논문과 비교해보면, 동일한 시료채취지역인 대구경북 지역의 개와 고양이에서 분리한 *S. pseudintermedius*에서 고양이보다 개의 가검물에서 더 높은 확률로 MRSP가 분리되었다는 점은 같다. 그러나 Cho 등(2016)의 실험에서는 동물병원에서 병성감정 의뢰된 가검물로 실험하였지만, 본 실험에서는 동물병원뿐만 아니라 유기동물보호센터에서 보호 중인 유기견들도 다수 포함되어있어 피부질환을 갖지 않은 정상적인 동물의 외이도에서 분리된 가검물도 포함되어 분리율의 차이를 보이는 것으로 추정된다.

MRSP에 대하여 oxacillin을 제외한 13종의 항생제의 내성양상을 살펴보면 ampicillin, amoxicillin, tetracycline, kanamycin, penicillin, erythromycin, enrofloxacin, gentamicin의 경우에는 각각 60~100%의 높은 내성을 보였는데 이런 결과는 사용된 약제의 종류와 수는 다소 차이가 있으나 Yoon (2010)의 tetracycline (100%), erythromycin (84.6%), gentamicin (92.3%)과 유사한 결과를 보였다. 이번 실험 결과 100%의 내성을 보인 erythromycin과 kanamycin, tetracycline, 40.0%의 내성을 보인 chloramphenicol은 각각 97.6%, 97.6%, 70.7%, 22.0%의 내성을 보인 Haenni 등(2014)의 연구 결과에 비하여 다소 높은 수치를 보였다. Amikacin, cephalothin, vancomycin에 대해서는 분리주 대부분이 감수성을 보였고, ampicillin, amoxicillin, tetracycline, kanamycin, penicillin, erythromycin에 대해서는 100%의 내성을 나타내어 이전 연구자들의 결과와 상당히 유사함을 알 수 있었다(Haenni 등, 2014; Priyantha 등, 2016).

이번 연구에서 sequence type을 실시하지 않았는데 향후 추가적인 조사가 실시되어야 할 것으로 판단된다. 총 35주의 *S. pseudintermedius* 분리주에서 본 연구에서 사용한 14종의 약제(amikacin, amoxicillin, ampicillin, cephalothin, chloramphenicol, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, vancomycin, neomycin, oxacillin, penicillin, tetracycline)에 대하여 어떠한 항생제에도 내성을 보이지 않은 8주(22.8%)를 제외하고 나머지 27주(77.2%)는 적어도 한 가지 이상의 항생제에 내성을 보였는데 특히 MRSP는 8제 이상의 항생제에 내성을 보여 높은 다제내성 상황을 나타냈다. 이러한 MRSP의 분리율이 증가할수록 임상분야에서 치료용 항생제의 부재라는 심각한 문제를 야기하게 되어 질병 치료에 큰 어려움을 겪게 된다. 이에 따라

항생제 사용의 신중을 기해야함은 물론 질병의 효과적인 치료 및 예방법의 확립을 위하여 항생제 다제내성 *S. pseudintermedius*와 MRSP에 대한 모니터링 검사는 꾸준히 실시하여야 할 것으로 판단된다. 더 나아가서는 동물뿐만이 아니라 동물에게서 사람으로 항생제에 내성을 갖는 *S. pseudintermedius*가 전염되어 항생제에 대한 내성까지 전달 될 가능성도 있어(Lozano 등, 2016) 사람에서도 예방이 필요하므로 지속적인 연구를 통하여 다제내성 *S. pseudintermedius*와 MRSP의 확산을 줄여나가야 한다.

본 연구는 경북지역의 개와 고양이로 제한되어 다른 축종과 다른 지역의 동물들에 대한 데이터를 얻지 못했다. 향후 개와 고양이가 아닌 다양한 축종 그리고 다양한 지역의 동물에 대한 조사연구가 필요하다. 또한 *S. pseudintermedius*뿐만 아니라 다른 *Staphylococcus spp.*에서도 여러 항생제에 대한 내성이 나타날 수 있고, 특히 병원성을 갖는 *S. aureus*에서 oxacillin에 저항성을 갖는 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)도 문제가 되고 있기 때문에 많은 연구가 필요하다.

결론

경북지역 동물병원에 내원한 개와 고양이 그리고 유기동물보호센터에 보호 중인 개로부터 분리된 *S. pseudintermedius* 35주를 대상으로 14종의 항생제에 대한 감수성 실험 결과는 다음과 같이 amikacin (100%), cephalothin (100%), vancomycin (100%), amoxicillin (85.7%), oxacillin (85.7%), enrofloxacin (82.8%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 보였고 ampicillin (62.8%), chloramphenicol (80%), tetracycline (51.4%), neomycin (68.5%), gentamicin (80%), kanamycin (68.5%), penicillin (28.6%), erythromycin (68.5%)의 감수성을 보이는 것으로 나타났다. 이 35주 중 oxacillin에 저항성을 가진 MRSP (methicillin-resistant *S. pseudintermedius*)는 5주로 14.3%의 분리율을 보였다. 다른 논문들과 비교하였을 때 분리율이 상이한 것은 시료채취와 검사법의 차이, 지역적 특성 및 질병유무 등에 기인하는 차이가 있겠지만, 본 실험에 사용된 시료 중에는 동물병원에 내원한 동물들보다 유기동물보호센터에 보호 중인 동물의 수가 상대적으로 많았으며 12개월 미만의 어린 동물의 수도 여럿 있었기에 항생제에 노출될 기회가 상대적으로 적어 항생제 감수성이 높

게 난다고 추정할 수 있다. 지역적 특성이나 검사법의 차이 등 여러 요인에 따라 결과는 다르게 나올 수 있으나 MRSP의 높은 출현은 치료 약제의 선택에 어려움을 줄 수 있기 때문에 항생제 사용의 신중한 선택과 앞으로의 지속적인 연구가 필요하다고 판단된다.

REFERENCES

- Anhalt JP, Fenselau C. 1975. Identification of bacteria using mass spectrometry. *Anal. Chem.* 47: 219-225.
- Barbuddhe SB, Maier T, Schwarz G, Kostrzewa M, Hof H, Domann E, Chakraborty T, Hain T. 2008. Rapid identification and typing of listeria species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol* 74: 5402-5407.
- Bardiau M, Yamazaki K, Ote I, Misawa N, Mainil JG. 2013. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats. *Microbiol Immunol* 57: 496-501.
- Cho JK, Lee MR, Kim JM, Kim HD. 2016. Methicillin-resistant or susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. *Korean J Vet Serv* 39: 175-181.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth informational supplement. M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute. 34: 68-75.
- Devriese LA, Vancanneyt M, Baele M, Vaneechoutte M, De Graef E, Snauwaert C, Cleenwerck I, Dawyndt P, Swings J, Decostere A, Haesebrouck F. 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55: 1569-1573.
- Dziva F, Wint C, Auguste T, Heeraman C, Dacon C, Yu P, Koma LM. 2015. First identification of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains among coagulase-positive staphylococci isolated from dogs with otitis externa in Trinidad, West Indies. *Infect Ecol Epidemiol.* 5: 29170.
- Faller A, Schleifer KH. 1981. Modified oxidase and benzidine tests for separation of staphylococci from micrococci. *J Clin Microbiol* 13: 1031-1035.
- Feng Y, Tian W, Lin D, Luo Q, Zhou Y, Yang T, Deng Y, Liu YH, Liu JH. 2012. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in pets from South China. *Vet Microbiol* 160: 517-524.
- Gold RM, Cohen ND, Lawhon SD. 2014. Amikacin Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Dogs. *J Clin Microbiol.* 52: 3641-3646.
- Grönthal T, Eklund M, Thomson K, Piiparinen H, Sironen T, Rantala M. 2017. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and the molecular epidemiology of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* in small

- animals in Finland. *J Antimicrob Chemother.* 72: 1021-1030.
- Haenni M, de Moraes NA, Châtre P, Médaille C. 2014. Characterisation of clinical canine meticillin-resistant and meticillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* in France. *J Global Antimicrobial Resistance* 2: 119-123.
- Holland RD, Wilkes JG, Ralli F, Sutherland JB, Persons CC, Voorhees KJ, Lay Jr. JO. 1996. Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* 10: 1227-1232
- Kang MH, Chae MJ, Yoon JW, Kim SG, Lee SY, Yoo JH, Park HM. 2014. Antibiotic resistance and molecular characterization of ophthalmic *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *J Vet Sci* 15: 409-415.
- Khot PD, Couturier MR, Wilson A, Croft A, Fisher MA. 2012. Optimization of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis for bacterial identification. *J Clin Microbiol* 50: 3845-3852.
- Kim HW, Han JS, Seol KH, Han SH, Park BY, Oh MH. 2012. MALDI-TOF MS system for the identification of Microorganisms in Milk and Dairy Product. *Korean J Dairy Sci Technol* 30: 131-137.
- Konnerth S, Rademacher G, Suerbaum S, Ziesing S, Sedlacek L, Vonberg RP. 2014. Identification of pathogens from blood culture bottles in spiked and clinical samples using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass-spectrometry analysis. *BMC Res Notes* 27: 405.
- Krishnamurthy T, Ross PL, Rajamani U. 1996. Detection of pathogenic and non-pathogenic bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* 10: 883-888
- Kristina Kadlec, Stefan Schwarz. 2012. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet Dermatol.* 23: 276-282.
- Kudirkiene Egle, Welker Martin, Knudsen Nanna R, Bojesen Anders M. 2015. Rapid and accurate identification of *Streptococcus equi* subspecies by MALDI-TOF MS. *Syst Appl Microbiol* 38: 315-322.
- Lozano C, Rezusta A, Ferrer I, Pérez-Laguna V, Zarazaga M, Ruiz-Ripa L, Revillo MJ, Torres C. 2016. *Staphylococcus pseudintermedius* Human Infection Cases in Spain: Dog-to-Human Transmission.
- Nienhoff U, Kadlec K, Chaberny IF, Verspohl J, Gerlach GF, Kreienbrock L, Schwarz S, Simon D, Nolte I. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital. *Vet Microbiol* 150: 191-197.
- Normand EH, Gibson NR, Reid SW, Carmichael S, Taylor DJ. 2000. Antimicrobial-resistance trends in bacterial isolates from companion-animal community practice in the UK. *Prev Vet Med* 46: 267-278.
- Norström M, Sunde M, Tharaldsen H, Mørk T, Bergsjø B, Kruse H. 2009. Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* in the Norwegian Dog Population. *Microb Drug Resist.* 15: 55-59.
- Onuma K, Tanabe T, Sato H. 2011. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from healthy dogs and dogs affected with pyoderma in Japan. *Vet Dermatol.* 23: 17-22.
- Pellerin JL, Bourdeau P, Sebbag H, Person JM. 1998. Epidemiosurveillance of antimicrobial compound resistance of *Staphylococcus intermedium* clinical isolates from canine pyodermas. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 21: 115-133.
- Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, Grönlund Andersson U, Finn M, Greko C, Moodley A, Kania SA, Frank LA, Bemis DA, Franco A, Iurescia M, Battisti A, Duim B, Wagenaar JA, van Duijkeren E, Weese JS, Fitzgerald JR, Rossano A, Guardabassi L. 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 65: 1145-1154.
- Priyantha R, Gaunt MC, Rubin JE. 2016. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *Can Vet J* 57: 65-69.
- Rubin JE, Chirino-Trejo M. 2011. Prevalence, Sites of Colonization, and Antimicrobial Resistance Among *Staphylococcus Pseudintermedius* Isolated from Healthy Dogs in Saskatoon, Canada. *J Vet Diagn Invest* 23: 351-354.
- Ruscher C, Lübke-Becker A, Semmler T, Wleklinski CG, Paasch A, Soba A, Stamm I, Kopp P, Wieler LH, Walther B. 2010. Widespread rapid emergence of a distinct methicillin- and multidrug-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) genetic lineage in Europe. *Vet Microbiol* 144: 340-346.
- Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, Takahashi N, Kamata S, Hiramatsu K. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J Clin Microbiol* 45: 1118-1125.
- Shimizu A, Wakita Y, Nagase S, Okabe M, Koji T, Hayashi T, Nagase N, Sasaki A, Kawano J, Yamashita K, Takagi M. 2001. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus intermedium* isolated from healthy and diseased dogs. *J Vet Med Sci* 63: 357-360.
- Sohn JH, Kim YH, Shin SH, Lee EM, Kim ST, Cho MH, Yun MJ. 2014. Characteristics and antimicrobial resistance patterns of *Pasteurella multocida* isolated from swine in Gyeongbuk province. *Korean J Vet Serv* 37: 165-171.
- Szabados F, Woloszyn J, Richter C, Kaase M, Gatermann S. 2010. Identification of molecularly defined *Staphylococcus aureus* strains using matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry and the Biotyper 2.0 database. *J Med Microbiol* 59: 787-790.
- Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. The Genus *Staphylococcus*. In: Hagan and Bruner's

- Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals. 8 eds. Comstock Publishing Associates, Ithaca and London: 171-196.
- van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyörälä S, Ruzauskas M, Sanders P, Threlfall EJ, Torren-Edo J, Törneke K; Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM). 2011. Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother.* 66: 2705-2714.
- Wang Y, Yang J, Logue CM, Liu K, Cao X, Zhang W, Shen J, Wu C. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma in North China. *J Appl Microbiol* 112: 623-630.
- Weese JS, van Duijkeren E. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol.* 140: 418-429.
- Wettstein K, Descloux S, Rossano A, Perreten V. 2008. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: three cases of urinary tract infections in cats. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 150: 339-343.
- Yoo JH, Yoon JW, Lee SY, Park HM. 2010. High prevalence of Fluoroquinolone- and Methicillin- resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine pyoderma and otitis externa in veterinary teaching hospital. *J Microbiol Biotechnol* 20: 798-802.
- Yoon JW, Lee KJ, Lee SY, Chae MJ, Park JK, Yoo JH, Park HM. 2010. Antibiotic resistance profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine patients in Korea. *J Microbiol Biotechnol* 20: 1764-1768.
- Zur G, Gurevich B, Elad D. 2016. Prior antimicrobial use as a risk factor for resistance in selected *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from the skin and ears of dogs. *Vet Dermatol.* 27: 468-e125.