

우유에서 분리된 포도상구균속 세균의 항생제 감수성

김지훈¹ · 고문주¹ · 김가희¹ · 이승훈¹ · 최성숙^{2*}

¹삼육대학교 동물과학부, ²삼육대학교 약학대학

Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococci* sp. Isolated from Bovine Milk

JiHoon Kim¹, MunJoo Ko¹, KaHee Kim¹, SeungHoon Lee¹, and SungSook Choi^{2*}

¹Division of Animal Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Republic of Korea

²College of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Republic of Korea

(Received November 19, 2010/Accepted December 10, 2010)

The prevalence and antimicrobial susceptibilities of Staphylococcal isolates from bovine milk samples were assessed. From January 2009 to October 2009, a total 287 bovine milk samples were randomly collected from 15 stock raising farms located in northern area of Kyunggi province and cultured for the presence of *Staphylococci* spp. A total 79 staphylococcal isolates were recovered from the milk samples. The predominant isolates were *S. aureus* (43.03%) and *S. chromogenes* (24.05%). Antimicrobial resistance patterns of 79 Staphylococcal isolates against ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, oxacillin, teicoplanin, tetracyclin, and vancomycin were tested. Staphylococcal isolates revealed the highest resistance to ampicillin (56.96%) and oxacillin (39.23%). Of 31 oxacillin resistance strains, 8 strains carry *mecA* gene which is responsible for methicillin resistance.

Keywords: antimicrobial susceptibilities, bovine milk sample, *mecA*, Staphylococcal isolates

지난 30년간의 빠른 경제성장과 산업화 과정은 우리 식탁에 많은 변화를 주었다. 두드러진 식생활 변화 중 하나는 우유를 포함한 축산 식품 소비의 급증이라 할 수 있다. 그러나 무역 시장의 개방 등에 따라 국내 축산업계는 어려움이 있고 우유 소비의 둔화와 생산 과잉으로 인한 원유의 수급 불균형은 낙농가를 더욱 어렵게 만들고 있는 실정이다(1). 또한 국제 교역이 활발해지고 식품의 공급이 세계화 되면서 각 나라마다 자국의 산업 보호 차원에서 식품안전을 활용하게 되었다. 국제 식품규격위원회(CODEX)에서는 WTO 체제하에서 객관적이고 과학적인 식품안전관리의 방법으로 위해 분석(risk analysis)을 제시하였다(5). 특히 항생제 내성균 노출에 의한 인체건강영향평가를 위해 항생제 내성 위해 평가 지침(안)이 CODEX를 중심으로 마련되고 있다. 항생제 내성의 출현은 전 세계적인 관심사이며 농업 및 축산분야에서의 항생제 사용의 관리와 공중보건학적 파급 영향에 대한 관심은 지속적으로 증가하고 있다(28). 포도상구균은 포도상구균과에 속하는 그람 양성 구균의 총칭이며 이 균속에는 총 23균종 4아종이 있다. 이들 균종 식중독의 원인이 되는 균으로는 coagulase를 생성하는 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)으로(27) 특히 우리나라에서 세균성

식중독의 원인균 중 황색포도상구균은 병원성대장균(11.0%), 살모넬라(10.9%), 장염비브리오(9.4%)에 이어 4번째로 발생빈도가 높은(8.4%) 균으로 알려져 있다(12). 세균성 식중독의 원인균인 *S. aureus*와 그 외 CNS (coagulase negative staphylococci)인 *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, 및 *S. simulans* 등은 유방염 소에서 착유한 우유에서도 빈번히 분리되고 있는 균으로(3, 10, 22). 황색포도상구균 및 CNS의 존재는 먹이사슬에 따라 동물유래 식품을 소비하는 사람에게 이행될 가능성이 높다.

이러한 연결고리를 통해서도 병원성미생물의 전달뿐 아니라 특정미생물 유래 유전자의 전달도 우려되고 있다. 특히 축산업 영역에서 감염성 질병의 치료 및 성장촉진의 목적으로 사료에 사용하는 항생제는 세균으로 하여금 사용 항생제에 대한 내성을 유도하게 하고(6, 8) 이렇게 유도된 항생제 내성 유전자는 먹이사슬에 따라 사람에게 이행될 가능성이 제기되고 있어 공중보건학적으로 중요하게 대두되고 있다(19, 21, 23). 축산분야의 국내 항생제 사용량은 2002년에서 2006년 기준으로 1,368,011~1,457,808 kg 수준이며(14) 이로 인해 발생하는 축산물 유래 내성균은 먹이사슬에 따라 인체에 항생제 내성균을 전달할 수도 있으며 사람에게 상재하는 세균에게 내성 유전자를 전달할 수도 있다. 항생제의 오, 남용에 따른 항생제 내성균의 발달은 항생제 감수성균에 의한 감염증 치료와 비교할 때

* For correspondence. E-mail: sschoi@syu.ac.kr; Tel: +82-2-3399-1606; Fax: +82-2-3399-1617

치료기간, 사망률, 합병증등 엄청난 경제적 손실을 초래한다. MRSA 균혈증 환자의 경우 methicillin 감수성 균혈증 환자에 비해 입원기간이 1.8배 길며, 수술환자의 사망률도 감수성균의 경우 6.7%인데 내성균 감염자의 경우 20.7%로 매우 높은 것으로 조사되었다(7, 20).

우리나라에 유통되는 축산 식품에서 분리된 황색포도상구균에 대한 항생제 내성의 실태는 penicillin (69.4%), ampicillin (57.7%), oxacillin (2.3%)으로(11) 우리나라의 식품유래 포도상구균의 경우 페니실린계 항생제에 대한 내성 비율이 높은 (약 70%) 것으로 나타났다. 포도상구균 감염증의 경우 치료에 페니실린계 항생제가 사용되어 왔으나 페니실린의 빈번한 사용에 따라 내성이 생기고 그에 따라 methicillin이 치료 효과를 거두어 왔으나 지속적인 항생제의 사용으로 오늘날 methicillin에 내성인 황색포도상구균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 및 methicillin 내성 CNS (methicillin resistant coagulase negative staphylococci, MR-CNS) 증가가 문제가 되고 있다(2, 9). MRSA는 전 세계적으로 항생제 내성균의 대표적인 표상이 되고 있으며 이러한 균의 발견은 최근 축산 농가의 집단적 사육환경에서 점차 증가되고 있는 것으로 보고 되고 있다(3, 18, 30). 식품을 대상으로 한 MRSA 실태 조사연구는 매우 제한적이나 현재 우리나라 유통 식품의 MRSA 오염의 실태는 심각한 수준은 아닌 것으로 판단된다. 식약청의 2003-2008년 유통식품을 대상으로 한 모니터링에선 분리된 황색포도상구균의 2%가 최종 MRSA로 확인되었다(11). 본 연구에서는 경기북부지역 축산농가에서 수집한 원유시료 속에 존재하는 포도상구균속 세균을 분리하여 균종별 분포 비율을 확인하고 분리된 포도상구균속 세균의 항생제에 대한 내성 양상을 판단하고자 하였으며 methicillin 내성에 책임이 있는 *mecA* 유전자 존재를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

포도상구균속 세균의 분리 및 동정

2009년 1월부터 2009년 10월에 걸쳐 경기북부지역 젖소 사육 농가 15곳으로부터 287개의 원유 시료를 공급받아 본 실험에 사용하였으며 착유시 알코올 소독을 실시하여 2차 감염의 기회를 최소화 하였다. 수집한 원유는 잘 혼합 후 멸균한 면봉으로 *Staphylococcus medium* 110 (Difco, USA)에 원유시료를 도말 후 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양 후 형성된 집락중 포도상구균 특유의 모양을 나타내는 황색의 집락을 순수 배양 후 임상검사센터인 세강(Seoul, Korea)에 의뢰하여 Vitek 2 자동화시스템으로 균 동정을 실시하였다. 동일한 원유 시료에서는 1개의 집락만을 선택하여 같은 균주의 반복적인 선택을 피했다.

항생제 감수성 검사

분리된 포도상구균속 세균을 대상으로 ampicillin (Sigma Co., USA), ciprofloxacin (Korea United Pharm. Inc.), chloramphenicol (Sigma Co.), erythromycin (Sigma Co.), gentamicin

(Chong Keun Dang Pharm.), oxacillin (Sigma Co.), tetracyclin (Sigma Co.), teicoplanin (Hanall Pharm.), vancomycin (Sigma Co.)에 대한 감수성 검사를 실시하였으며 대조균으로는 *S. aureus* ATCC 29213을 사용하였다. 감수성 실험은 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, USA)의 고체배지 희석법으로 실시하였으며 배지는 Muller-Hinton 배지(4% NaCl 함유) (Difco, USA)를 사용하였다(4). 실험에 사용 할 균주를 37°C, 15시간 전배양한 후, 이 균을 10⁵ CFU/ml 되도록 희석한 후 5 µl씩 항생제 배지에 접종하여 배양하고 균주의 성장을 확인할 수 없는 가장 낮은 항생제 농도를 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)로 결정하였다.

포도상구균속 세균의 genomic DNA 분리 및 PCR 반응

원유시료에서 분리한 포도상구균속 균주로부터 genomic DNA를 GeneAll Cell SV kit (GeneAll Biotechnology, Korea)를 이용하여 분리하였으며 포도상구균속 세균의 세포벽의 분해를 용이하게 하기 위하여 lysostaphin [(Sigma Co.)을 50 µl (100 mg/ml)]을 첨가하였다. 분리한 DNA 시료를 이용해 methicillin 내성과 관련된 *mecA* 유전자의 존재를 확인하기 위하여 PCR을 실시하였다. *mecA* 검출을 위한 primer는 Sigma-Proligo (The Woodlands, USA) 사에서 제작하여 사용하였으며 primer는 forward primer (5'-ttt agg cgt taa aga tat aaa cat ca gg-3')와 reverse primer (5'-tgc ttt ggt ctt tct gca ttc c-3')를 사용하였다. PCR 반응은 AccuPower™ PCR PreMix 제품 (Bioneer, Korea)을 사용하여 DNA template 2 µl (200 ng), forward 및 reverse primer 각 10 pmole을 가지고 DNase free H₂O를 가하여 최종 부피를 20 µl로 하였다. PCR 반응은 94°C 5분간 denaturation 반응 후 94°C 30초, 58°C 30초, 72°C 30초 반응을 30회 반복 후 72°C에서 10분간 마무리 elongation 하였다. 반응 후 1.2% agarose gel에서 전기영동하여 각각 증폭된 DNA 조각을 확인하였다. 또한 증폭된 DNA 조각을 Genotech (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 sequencing을 실시하여 *mecA* 유전자임을 확인하고자 하였다.

결과 및 고찰

포도상구균속 세균의 분리 및 동정

경기북부지역 젖소 사육 농가 15곳으로부터 287개의 원유 시료를 수집하여 *Staphylococcus medium* 110 (Difco)에 배양 후 형성된 집락 중 포도상구균 특유의 모양을 나타내는 황색의 집락 83개를 선별 후 임상검사센터인 세강(서울)에 의뢰하여 균동정을 실시하였다. 그 결과 83개의 균주중 79개의 균주가 포도상구균속 세균으로 동정되었으며 나머지 4개는 장구균속 세균으로 확인되었다. 동일한 원유 시료에서는 1개의 집락만을 선택하여 같은 균주의 반복적인 선택을 피했다. 균동정 결과에 따르면 전체 79개의 분리균 중 *S. aureus*가 34균주(43.03%)로 가장 우세하게 분리되었으며, *S. chromogenes* 19균주(24.05%), *S. xylosus* 10균주(12.66%), 기타 중 수준의 동정이 어려운 CNS 5균주(6.33%), *S. saprophyticus* 3균주(3.80%), *S. simulans*

Table 1. Identification of Staphylococci spp. isolated from bovine milk

Strains	No. (%)
<i>S. aureus</i>	34 (43.03)
<i>S. chromogenes</i>	19 (24.05)
<i>S. xylosus</i>	10 (12.66)
Coagulase negative staphylococci (CNS)	5 (6.32)
<i>S. saprophyticus</i>	3 (3.80)
<i>S. simulans</i>	2 (2.53)
<i>S. warneri</i>	2 (2.53)
<i>S. equorum</i>	1 (1.27)
<i>S. haemolyticus</i>	1 (1.27)
<i>S. homonis</i>	1 (1.27)
<i>S. sciuri</i>	1 (1.27)
Total	79 (100%)

2균주(2.53%), *S. warneri* 2균주(2.53%) 그리고 *S. equorum*, *S. haemolyticus*, *S. homonis*, *S. sciuri* 각 1균주씩 분리되었다 (Table 1). 특히 최근 들어 소의 유방염등의 원인균으로 주목 받고 있는 *S. chromomogene*와 *S. xylosus*가 CNS 균주중 가장 다빈도로 분리된 것은 Schultz (24)와 Sampimon (25) 등의 결과와도 일치함을 알 수 있었다.

항생제 감수성 검사

우유 시료에서 분리된 포도상 구균속 세균을 대상으로 ampicillin을 포함한 9종의 대표 항생제를 대상으로 감수성 검사를 실시하였다. 항생제 감수성 검사는 CLSI의 가이드 라인을 따라 실시하였으며 결과 해석도 CLSI의 가이드 라인을 따라 판단하였다(Table 2)(4). Ampicillin의 경우 MIC₅₀은 1 µg/ml, MIC₉₀은 4 µg/ml이었으며 내성비율은 56.96%였다. Chloram-

Table 2. Antimicrobial agents and their breakpoint for the determination of resistance

Antibiotics	Interpretation (µg/ml)		
	Sensitive	Intermediate	Resistance
Ampicillin	≤0.25		≥0.5
Ciprofloxacin	≤1	2	≥4
Chloramphenicol	≤8	16	≥32
Erythromycin	≤0.5	1-4	≥8
Gentamicin	≤4	8	≥16
Oxacillin	<i>S. aureus</i>	≤2	≥4
	CNS	≤0.25	≥0.5
Teicoplanin	≤8	16	≥32
Tetracyclin	≤4	8	≥16
Vancomycin	<i>S. aureus</i>	≤2	4-8
	CNS	≤4	8-16

phenicol의 경우 MIC₅₀은 8 µg/ml, MIC₉₀은 16 µg/ml이었으며 내성비율은 10.13%였다. Ciprofloxacin의 경우 MIC₅₀은 0.06 µg/ml, MIC₉₀은 0.5 µg/ml이었으며 내성비율은 0%였다. Erythromycin의 경우 MIC₅₀은 0.25 µg/ml, MIC₉₀은 >64 µg/ml이었으며 내성비율은 11.39%였다. Gentamicin의 경우 MIC₅₀은 0.03 µg/ml, MIC₉₀은 64 µg/ml이었으며 내성비율은 15.19%였다. Oxacillin의 경우 MIC₅₀은 0.5 µg/ml, MIC₉₀은 16 µg/ml이었으며 내성비율은 39.24%였다. Teicoplanin의 경우 MIC₅₀은 0.03 µg/ml, MIC₉₀은 8 µg/ml이었으며 내성비율은 0%였다. Tetracyclin의 경우 MIC₅₀은 0.03 µg/ml, MIC₉₀은 >64 µg/ml이었으며 내성비율은 13.92%였다. Vancomycin의 경우 MIC₅₀은 0.03 µg/ml, MIC₉₀은 32 µg/ml이었으며 내성비율은 1.27%였다(Table 3). 전체적으로 대부분의 항생제에 대한 내성 비율이 높지 않고 특히 ciprofloxacin, teicoplanin 및

Table 3. MIC values distribution of the 79 Staphylococcal isolates from bovine milk

Abs	Number of isolates with MIC (µg/ml)													MIC range (µg/ml)			Interpretation (%)		
	≤0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>64	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S	I	R
Amp	1	9	10	14	3	13	9	19	1	-	-	-	-	≤0.03~8	1	4	34 (43.03)		45 (56.97)
Cam	-	0	-	1	-	3	1	33	31	2	5	3		≤0.06~64	8	16	69 (87.34)	2 (2.53)	8 (10.13)
Cip	8	31	4	13	17	4	2	-	-	-	-	-		≤0.03~2	0.06	0.5	77 (97.47)	2 (2.53)	
Em	3	6	12	35	11	1	2	-	-	-	1	1	7	≤0.03~>64	0.25	>64	67 (84.82)	3 (3.79)	9 (11.39)
Gm	47	7	3	-	-	1	4	1	3	4	-	2	7	≤0.03~>64	0.03	64	64 (81.01)	3 (3.81)	12 (15.19)
Oxa	1	-	6	20	24	13	-	-	7	6	-	-	2	≤0.03~64	0.5	06	48 (60.76)		31 (39.24)
Tei	28	9	20	15	6	-	-	-	1	-	-	-	-	≤0.03~8	0.12	0.5	79 (100)		
Tet	1	2	5	1	12	21	18	5	3	-	7	-	4	≤0.03~>64	1	32	66 (83.54)	2 (2.53)	11 (13.93)
Van	1	2	8	17	20	22	6	-	2	1	1	-	-	≤0.03~32	0.5	2	77 (97.46)	1 (1.27)	1 (1.27)

S, Sensitive; I, Intermediate; R, resistance

Amp, ampicillin; Cam, chloramphenicol; Cip, ciprofloxacin; Em, erythromycin; Gm, gentamicin; Oxa, oxacillin; Tei, teicoplanin; Tc, tetracyclin; Van, vancomycin.

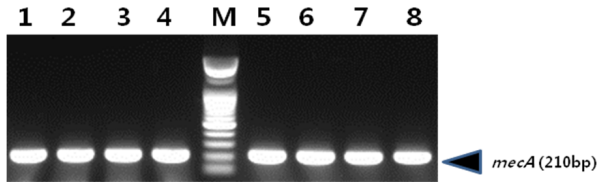


Fig. 1. Methicillin resistance gene (*mecA*) observed in oxacillin resistant Staphylococci. Lanes: M, 100 bp ladder; 1, S8; 2, S14; 3, S26; 4, S27; 5, S51; 6, S56; 7, S80; 8, S96.

vancomycin에 대한 내성율이 매우 낮은 것은 매우 긍정적으로 평가된다. 하지만 폐니실린계 항생제인 ampicillin에 대한 내성 비율은 50%가 넘고 특히 oxacillin에 대한 내성도는 39.24%로 상당히 높게 나타났다. Ampicillin 내성 빈도는 Gentilini (27.6%)(9), Sawant (17.24%)(26) 등의 결과와 비교하였을 때 상당히 높았으나 Bal (58%)등 (3)과 Moon (60%)(18)의 결과와 비교하였을 때는 비슷한 정도의 내성빈도임을 알 수 있었다. Oxacillin의 경우도 Gentilini (5%)(9), Sawant (10.17%)(26)과 비교할 때는 매우 높은 것을 알 수 있으나 Bal (21.95%)(3) 등의 결과와 비교했을 때는 약간 높은 것을 알 수 있었다. 포도상구균속 세균 중 관리하기 어려운 경우가 methicillin 내성균주이며 감수성 검사에는 methicillin 항생제의 불안정한 특징 때문에 실제로 감수성 검사는 oxacillin으로 대신하고 oxacillin에 내성이면 methicillin 내성으로 판정한다(4, 29). 따라서 본 실험에서도 methicillin 대신 oxacillin을 사용하여 실험하였으며 한천배지 희석법으로 실험한 결과 전체 분리 균주 중 39.24%의 균주가 내성균주임을 알 수 있었다. 특히 내성의 판단은 CLSI의 가이드 라인에 따라 *S. aureus*는 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$, CNS는 $\geq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 이상을 내성균으로 판단하였다. Penicillin계 항생제 중 oxacillin에 대한 내성비율이 기존의 연구 결과와 비교 시 높게 나타난 것은 본문 중 인용한 문헌 중의 연구 내용은 CNS를 중심으로 실시한 결과이며 본 연구에서는 황색포도상구균과 CNS를 함께 실험한 결과이기에 차이가 있을 수 있는 것으로 해석하였다. 또한 각 나라마다 축산분야에서 사용하는 주요 항생제종류 차이도 이와 같은 내성균주의 비율이 다르게 나타나게 하는 원인으로 사료된다.

Methicillin 내성유전자 *mecA*의 검색

본 실험에서 분리된 79종의 포도상구균속 세균에 대한 항생

Table 4. *mecA* positive strains and MIC of oxacillin against these strains

Strain No.	Species	<i>mecA</i>	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
S 8	<i>S. aureus</i>	+	8
S 14	CNS	+	16
S 26	<i>S. aureus</i>	+	8
S 27	<i>S. aureus</i>	+	16
S 51	<i>S. aureus</i>	+	8
S 56	<i>S. aureus</i>	+	8
S 80	<i>S. sciuri</i>	+	4
S 96	<i>S. aureus</i>	+	>64

제 내성 유형을 분석한 결과 ampicillin에 대한 내성비율(56.96%)은 기존 연구 결과와 유사하였으나(11) oxacillin에 대한 내성 비율(39.24%)이 높게 나타났다. 하지만 이러한 결과는 항생제 감수성 검사에 따른 표현형(phenotype) 분석의 결과이고 따라서 본 연구에서는 유전형(genotype)도 이와 일치하는지 알아보기 위하여 31개의 MR-staphylococci 균주를 대상으로 메치실린 내성에 관여하는 유전자 *mecA*의 보유 빈도를 확인하고자 PCR 반응을 실시하였다. 표준 PCR 기법을 이용하여 반응한 결과 oxacillin 내성 균주 31개 중 *mecA* 보유 균주가 8개임을 확인하였다(Fig. 1 and Table 4). Methicillin은 penicillin에 저항성이 생긴 균주에 대해 효율적인 치료 효과를 나타내는 항생제로 폐니실린내성균의 치료에 빈번하게 사용하여 왔으나 지속적인 methicillin의 사용은 오히려 methicillin에 내성인 MRSA 및 MRCNS의 증가를 유도하여 문제가 되고 있다(2). Methicillin 내성기전은 일반적으로 PBP2a를 코딩하는 methicillin 내성 유전자인 *mecA* 유전자의 존재와(13, 15) β -lactamase 생성의 결과로 내성이 생기는 경우로 구분된다(16). 본 연구에서는 내성균 중 *mecA*에 기인한 내성균의 분포를 확인하기 위하여 PCR 반응을 실시한 결과 전체 균주 중 8개의 균주에서 *mecA* 유전자가 존재하는 것을 확인하였다. Moon 등 (18)의 연구 결과에 따르면 methicillin 내성 균주의 경우 MIC결과인 표현형과 *mecA* 존재인 유전형이 반드시 일치하는 것은 아니라는 보고가 있다. 본 연구 결과에서도 31개의 내성 균주중 8개만이 *mecA*를 보유한 것은 이러한 연구 결과와 일치하였다. Methicillin 내성에 대한 표현형을 확인하는 방법에는 oxacillin의 MIC측정, cefoxitin 디스크법, oxacillin 디스크법 등이 있으나 이러한 방법간에 불일치하는 현상은 다른 연구결과에서도 이미 보고된 바 있으며 특히 *mecA* 유전자 존재 여부와 표현형 사이의 불일치는 MRSA 보다는 MRCNS에서 더 높은 것으로 알려져 있다(16). *mecA* 유전자를 보유하지 않으면서도 표현형에서 methicillin 내성을 나타내는 균주의 경우 내성 기전이 *mecA* 유전자 보유 이외 β -lactamase 생성 등과 같은 다른 내성 기전에 의한 것으로 사료된다(16, 17). *mecA* 보유 8개 균주중 6균주는 *S. aureus*였으며(Table 4) 나머지는 CNS였다. 하지만 염기서열을 분석한 결과 8중에서 확인된 *mecA*는 모두 *S. aureus* 유래 PBP2a와 염기서열이 일치하였다. 이는 Bal 등 (3)의 연구 결과와도 일치하는 것으로 비록 CNS이지만 staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*)로 표현되는 mobile genetic element 상에 *mecA*가 위치하고 있음을 확인하였다.

적요

본 연구에서는 우유 시료에서 포도상구균속 세균을 분리하고 각 균종을 동정하고 항생제 감수성을 검사하였다. 2009년 1월부터 2009년 10월까지 경기 북부지역 15개 축산 농가에서 287개의 우유 시료를 수집하여 총 79개의 포도상구균속 세균을 분리·동정하였다. 가장 우세한 비율로 분포하는 세균은 *S. aureus* (43.03%)였으며 coagulase negative staphylococci (CNS) 중에서는 *S. chromogenes* (24.05%)가 가장 우세하게

분포하였다. 9종의 항생제에(ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, oxacillin, teicoplanin, tetracyclin, vancomycin) 대한 감수성 검사를 실시한 결과 다수의 항생제에 대한 감수성 비율이 높았으나 ampicillin (56.96%)과 oxacillin (39.23%)에 대한 내성 균주의 비율이 높게 나타났다. 31종의 oxacillin 저항성균주 중 8개의 균주가 methicillin 내성에 관여하는 *mecA* 유전자를 보유하고 있었다.

참고문헌

- Anon, K. 1995. Results of the Uruguay round of the multilateral trade negotiations 1993: agreement on application of sanitary and phytosanitary measures. pp. 26-47. World Trade Organisation, Geneva.
- Anyliffe, G.A.J. 1997. The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Infect. Dis.*, 24 (Suppl. 1), 4-49.
- Bal, E.B., S. Bayar, and M.A. Bal. 2010. Antimicrobial susceptibilities of coagulase-negative staphylococci (CNS) and streptococci from bovine subclinical mastitis cases. *J. Microbiol.* 48, 267-274.
- CLSI. 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement, pp. 53-59. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Codex Alimentarius Commission. 1999. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment, pp. 1-45. CAC/GL30. Geneva.
- DANMAP. 2003. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animal, foods and humans in Denmark, pp. 1-85.
- Engemann, J.J., Y. Carmeli, S.E. Cosgrove, V.G. Fowler, M.Z. Bronstein, S.L. Trivette, J.P. Briggs, D.J. Sexton, and K.S. Kaye. 2003. The burden of *Staphylococcus aureus* infections on hospitals in the United States: an analysis of the 2000 and 2001 Nationwide Inpatient Sample Database. *Clin. Infect. Dis.* 36, 592-598.
- FAO/OIE/WHO. 2004. Joint FAO/OIE/WHO 2nd workshop on non-human antimicrobial usage and antimicrobial resistance; management options, executive summary, Oslo, Norway.
- Gentilini, E., G. Denamiel, A. Betancor, M. Reuelto, M.R. Fermepin, and R.A. De Torrest. 2002. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J. Dairy Sci.* 85, 1913-1917.
- Gillespie, B.E., S.I. Headrick, S. Boonyayatra, and S.P. Oliver. 2009. Prevalence and persistence of coagulase-negative Staphylococcus species in three dairy research herds. *Vet. Microbiol.* 134, 65-72.
- Hwang, I.G., H.S. Kwak, and S.H. Yoon. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as a foodborne biological hazard. *Safe Food.* 5, 26-35.
- Hwang, S.Y., B.Y. Moon, Y.H. Park, M.J. Lee, H.A. Bang, K.H. Rhim, J.S. Kim, N.H. Che, and W.C. Lee. 2010. Comparative study on the epidemiology of food-borne disease outbreaks in Korea and Japan. *J. Fd. Hyg. Safety.* 25, 129-132.
- Ito, T. and K. Hiramatsu. 1998. Acquisition of methicillin resistance and progression of multiantibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Yunsei Medical Journal.* 39, 526-533.
- Kim, H.J., Y.H. Park, and M.S. Koo. 2010. Antimicrobial resistance and risk assessment. *Safe Food.* 5, 14-19.
- Kuhl, S.A., P.A. Pattee, and N.J. Baldwin. 1978. Chromosomal map location of the methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 135, 460-465.
- Lee, Y.S., C.K. Kim, M.S. Kim, D.G. Yong, K.W. Lee, and Y.S. Chong. 2007. Detection of *mecA* in strains with oxacillin and cefoxitin disk tests for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus*. *Kor. J. Lab. Med.* 27, 276-280.
- Mathews, A.A., M. Thomas, B. Appalaraju, and J. Jayalakshmi. 2010. Evaluation and comparison of tests to detect methicillin resistant *S. aureus*. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 53, 79-82.
- Moon, J.S., A.R. Lee, H.M. Kang, E.S. Lee, Y.S. Joo, Y.H. Park, M.N. Kim, and H.C. Koo. 2007. Antibigram and coagulase diversity in staphylococcal enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *J. Dairy Sci.* 90, 1716-1724.
- NORM. 2003. NORM-VET: Usage of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in Norway, pp. 1-72.
- Noskin, G.A., R.J. Rubin, J.J. Schentag, J. Kluytmans, E.C. Hedblom, M. Smulders, E. Lapetina, and E. Gemmen. 2005. Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Arch. Intern. Med.* 165, 1756-1761.
- OIE. 2001. European Scientific Conference. The use of antibiotics in animal ensuring the protection of public health. pp. 8-142.
- Oliver, S.P., B.M. Jayarao, and R.A. Almeida. 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog. Dis.* 2, 15-29.
- Oliver, S.P., K.J. Boor, S.C. Murphy, and S.E. Murinda. 2009. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathog. Dis.* 26, 793-806.
- Rajala-Schultz, P.J., A.H. Torres, F.J. Degraives, W.A. Gebreyes, and P. Patchanee. 2009. Antimicrobial resistance and genotypic characterization of coagulase-negative staphylococci over the dry period. *Vet. Microbiol.* 134, 55-64.
- Sampimon, O.C., J.C. Vernooij, D.J. Mevius, and J. Sol. 2007. Sensitivity to various antibiotics of coagulase-negative staphylococci isolated from samples of milk from Dutch dairy cattle. *Tijdschr Diergeneeskd* 132, 200-204.
- Sawant A.A., B.E. Gillespie, and S.P. Oliver. 2009. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococcus species isolated from bovine milk. *Vet. Microbiol.* 134, 73-81.
- Srinivasan, V., A.A. Sawant, B.E. Gillespie, S.J. Headrick, L. Ceasaris, and S.P. Oliver. 2006. Prevalence of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with mastitis. *Foodborne Pathog. Dis.* 3, 274-283.
- Stacey, L.K., L.M. Stanley, N. Mariani, and B. Tom. 2003. The Resistance Phenomenon in Microbes and Infectious Disease Vectors: Implications for Human Health and Strategies for Containment -- Workshop Summary. Appendix D: Executive Summary: WHO Report. pp. 256-273.
- Woods, G.L. 1995. *In vitro* testing of antimicrobial agents. *Infect. Dis. Clin. North.* 9, 463-481.
- Yoon, J.C., J.C. Lee, S.K. Kim, T.S. Park, J.T. Kim, C.G. Lee, and C.Y. Lee. 2004. Prevalence of isolated microorganisms and antimicrobial susceptibility from half milk in dairy goats. *Korea J. Vet. Res.* 44, 151-157.