

개와 고양이에서 분리된 그람음성균의 항생제 감수성 양상

김대근 · 신동호 · 김하영 · 변재원 · 이경현 · 이오수 · 정병열¹

국립수의과학검역원 질병진단센터

(게재승인: 2010년 12월 8일)

Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacteria from Dogs and Cats

Daekeun Kim, Dong-Ho Shin, Ha-Young Kim, Jae-Won Byun, Kyeong-Hyun Lee,
O-Soo Lee and Byeong Yeal Jung¹

Animal Disease Diagnostic Center, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea

Abstract : The purpose of this study was to determine the distribution of gram-negative bacteria isolated from companion animals with sepsis, and to investigate the antimicrobial susceptibility patterns of the isolates. Bacterial pathogens were isolated from specimens of dogs and cats submitted to National Veterinary Research and Quarantine Service between 2008 and 2009. A total of 44 gram-negative pathogens were isolated from necropsied organs. The most common isolates were *E. coli* (n = 33), *K. pneumoniae* (n = 4) and *B. bronchiseptica* (n = 4). Most of gram-negative isolates were susceptible to ceftiofur (68.2%), colistin (84.1%), florfenicol (84.1%) and spectinomycin (61.4%). Most of those were resistant to ampicillin (77.3%), erythromycin (86.4%), flumequine (65.9%), lincomycin (97.7%), oxytetracycline (61.4%), penicillin (100%), streptomycin (63.6%), spiramycin (97.7%), sulfamethoxazole (90.9%), tylosin (97.7%) and tiamulin (100%). In conclusion, colistin and florfenicol could be useful against sepsis due to gram-negative bacteria.

Key words : antimicrobial susceptibility, cat, dog, gram-negative bacteria.

서 론

패혈증은 중환자의 이환율 및 치사율과 매우 밀접한 관련이 있다. 이것은 외과적 장비나 신체의 감염부위에서 이차적으로 병원균이 혈류 속으로 유입되어서 발생한다. 그 중 특히 그람 음성균에 의한 패혈증은 소동물 및 사람에게 치명적이며, 치사율이 20-50%에 달한다(6). 패혈증을 보이는 사람과 반려동물에서 흔히 분리되는 그람 음성균으로는 *Escherichia (E.) coli*, *Klebsiella (K.) pneumoniae*, *Pseudomonas (P.) aeruginosa* 등이 있다(13). 이러한 세균감염의 예방과 치료를 목적으로 여러 항생제가 사용되고 있다.

현재 많은 종류의 항생제가 사람과 동물에서 같이 사용되고 있다. 항생제 내성은 plasmid나 transposon 또는 insertion-sequence mechanism을 통해 전달될 수 있다(8). 동물에 사용되는 항생제가 사람에서의 항생제 내성균 출현과 어떤 관련성이 있는지 명확하게 밝혀지지는 않았지만, 동물유래 내성균과의 접촉이나 축산식품을 통해 사람에게 전달될 가능성이 보고되고 있다(21). 더욱이 반려동물의 경우 사람과 함께 생활

하는 특수성 때문에 더욱 중요한 문제가 될 수 있다.

국내·외적으로 식용가축유래 세균에 대한 연구는 활발하게 진행되고 있으나 반려동물에서 분리된 세균에 대한 연구는 드문 실정이다. 또한 국내에서 동물병원에 내원한 반려동물의 피부나 눈, 비루, 소변 같은 시료에서 분리된 세균에 대한 항생제 감수성 연구가 보고된 적이 있으나, 폐사한 동물에서 분리된 그람음성 세균에 대한 연구는 보고된 적이 없다.

따라서 본 연구에서는 최근 패혈증으로 의심되어 국립수의과학검역원으로 의뢰된 반려동물에서 분리된 주요 그람음성균의 항생제 감수성 양상을 분석하고, 이에 따른 적절한 항생제 선택에 도움이 되고자 실시하였다.

재료 및 방법

2008년에서 2009년 사이에 국립수의과학검역원으로 의뢰된 반려동물의 가검물중 패혈증으로 폐사한 것으로 진단된 개(n = 159)와 고양이(n = 27)의 폐, 간, 신장, 뇌, 자궁, 복막, 흉수에서 그람음성균 분리를 실시하였다. 즉, 채취한 재료를 5% sheep blood agar plate (Asan pharmaceutical, Korea)와 MacConkey agar plate (Difco, USA)에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 호기 배양한 후 집락의 성장과 용혈성 여부를

¹Corresponding author.
E-mail : jungby@korea.kr

확인하고, 그람염색과 oxidase 및 catalase test 등을 실시하였다. 분리균의 동정을 위해 API kit (bioMérieux, France), Vitek II Compact (bioMérieux, France)를 사용하였다(1). 시료의 70% 이상은 서울, 인천, 경기 지역에서 의뢰되었다.

주요 분리 세균에 대한 항생제 감수성검사는 Kirby-Bauer disk diffusion 방법에 따라 실시하였다(4). 간단히 설명하면, 순수 분리된 세균을 멸균 PBS에 부유하고 McFarland 탁도계를 이용하여 0.5로 농도를 조절하여 Muller Hinton agar (Difco, USA)에 도말하였다. 항생제 디스크를 배치한 후 37°C에서 24시간 배양하여 억제환을 측정하였다. 항생제 감수성은 제조사 혹은 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준에 따라 판정하였다(23). 사용된 항생제 디스크는 23종으로 amoxicillin-clavulanic acid (30 µg), ampicillin (10 µg), colistin (10 µg), erythromycin (15 µg), gentamicin (10 µg), kanamycin (30 µg), neomycin (30 µg), penicillin (10 µg), streptomycin (10 µg) (이상 9종; BD, USA)과 apramycin (15 µg), ceftiofur (30 µg), cephalixin (30 µg), doxycycline (30 µg), enrofloxacin (5 µg), florfenicol (30 µg), flumequine (30 µg), lincomycin (15 µg), oxytetracycline (30 µg), spectinomycin (100 µg), spiramycin (100 µg), sulfamethoxazole (25 µg) (이상 12종; Oxoid, UK) 및 tiamulin (30 µg), tylosin (150 µg) (이상 2종; Rosco, Denmark)을 사용하였다.

결 과

2008년부터 2009년까지 국립수의과학검역원 질병진단센터에 의뢰되어 패혈증으로 진단된 개와 고양이의 시료수는 총 186개였으며, 그 중 44주의 그람음성균이 분리되었다. 즉, *E. coli* 33주, *Bordetella (B.) bronchiseptica* 4주, *K. pneumoniae* 4주였으며, *E. fergusonii*, *P. aeruginosa*, 그리고 *Pasteurella canis*가 각각 1주씩 분리되었다(Table 1).

항생제 감수성 양상은 균주별로 다소 차이를 보였다. *B. bronchiseptica*의 경우는 colistin, doxycycline, enrofloxacin, florfenicol, oxytetracycline에 대한 감수성이 100%로 높았으며, *E. coli*는 ceftiofur (87.9%), florfenicol (87.9%), colistin (84.8%), spectinomycin (75.8%)순으로 감수성이 높았다. *K. pneumoniae*는 apramycin (100%)과 colistin (75.0%)에 대한

감수성이 높았고, 나머지 세 균주(*E. fergusonii*, *P. aeruginosa*, *Pasteurella canis*)는 apramycin (100%)과 colistin (66.7%) 및 florfenicol (66.7%)에 대한 감수성이 비교적 높았다(Table 2).

분리된 모든 균주들이 항생제의 11개 subclass중 최소 4개 이상의 subclass에 내성을 보였다. 전반적으로 erythromycin (86.4%), ampicillin (77.3%), flumequine (65.9%), streptomycin (63.6%), oxytetracycline (61.4%)의 내성율이 높았다. 특히 lincomycin (97.7%), spiramycin (97.7%), tylosin (97.7%), sulfamethoxazole (90.9%)의 경우는 거의 모든 균주에서 내성을 보였으며, penicillin과 tiamulin은 분리된 44균주 모두에서 내성(100%)을 보였다.

고 찰

패혈증은 감염증과 함께 병발하는 전신성 염증반응으로 정의된다(7). 세균전이가 쇼크, 외상, 열손상 및 중환자 등에서 전신 감염증과 전신성 염증반응 증후군 및 다발성 장기기능부전에 중요한 인자로 인식되고 있다(3,20). Berg와 Garlington은 세균전이를 장관내 살아있는 세균이 점막상피와 고유판을 통해 장간막림프절과 다른 장기로의 이동으로 정의하였다(5). 이후 이 용어는 장점막장벽을 통과하는 세균뿐만 아니라 lipopolysaccharide 등의 내독소와 같은 독성산물도 포함하게 되었다(9,14). 그람음성 세균은 세포외막의 lipopolysaccharide로 구성된 내독소를 산생한다. 이 때문에, 패혈증의 치료에서 적절한 항생제의 선택은 매우 중요하다. 항생제의 사용은 항생제 감수성 검사에 따른 선택이 바람직하지만, 원인균 분리와 항생제 감수성 검사까지의 시간과 비용상 문제로 인해 실제 수의 임상에서 적용하기란 다소 무리가 있어, 감염초기에는 경험적 항생제 사용에 의존할 수 밖에 없다. Micek 등의 보고에 따르면, 사람의 경우 그람음성균에 의한 패혈증시 초기에 부적절한 항생제를 투여 받은 환자가 약 31.3%에 달한다고 하였다(15). 본 연구는 폐사의 원인이 패혈증으로 진단된 개와 고양이에서 분리된 그람음성 세균에 대한 분포와 항생제 감수성 양상에 대한 기초자료를 제공하여 적절한 항생제 선택에 도움을 주기 위해 수행되었다.

본 연구에서는 총 44주의 그람음성균이 분리되었다. 자료로 제시되지는 않았지만, 그람양성균이나 바이러스만 분리된 경우와 의뢰된 당시 부패로 인해 시료가 오염이 되어 균분리를 할 수 없는 경우는 본 연구에서 그람음성균이 분리되지 않은 것으로 처리하였다. 그람음성 세균 중 *E. coli*가 가장 많이 분리되었는데, 이는 다른 연구자들의 결과와 유사하였다(10,11,17,24). *E. coli* 다음으로 많이 분리된 것은 *K. pneumoniae*와 *B. bronchiseptica*였다. Wagner 등은 개에서 분리된 *E. coli*에 감수성이 높은 항생제로 amikacin (100%), gentamicin (91%), ciprofloxacin (82%)을 보고하였고, 국내에서는 cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone 같은 3세대 cephalosporin계 항생제와 amikacin이 80% 이상의 높은 감수성을 보였다(17,22,24). 본 연구에서는 florfenicol (87.9%)과 ceftiofur (87.9%), 그리고 colistin (84.8%)의 감수성이

Table 1. Number of gram-negative isolates from dogs and cats diagnosed with septicemia

Organism	Dogs	Cats
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4	0
<i>Escherichia coli</i>	23	10
<i>Escherichia fergusonii</i>	1	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1
<i>Pasteurella canis</i>	1	0
Total	33	11

Table 2. Antimicrobial susceptibility pattern (%) of gram-negative bacteria from dogs and cats

Antimicrobial class	Antimicrobial	<i>B. bronchiseptica</i> (n = 4)			<i>E. coli</i> (n = 33)			<i>K. pneumoniae</i> (n = 4)			Others* (n = 3)			Total		
		S**	I***	R****	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Aminoglycosides	Apramycin	0	0	100	54.5	27.3	18.2	100	0	0	100	0	0	56.8	20.5	22.7
	Gentamicin	50.0	0	50.0	63.6	6.1	30.3	25.0	0	75.0	33.3	0	66.7	56.8	4.5	38.6
	Kanamycin	25.0	75.0	0	60.6	15.2	24.2	25.0	0	75.0	33.3	0	66.7	52.3	18.2	29.5
	Neomycin	25.0	50.0	25.0	21.2	63.6	15.2	50.0	50.0	0	0	66.7	33.3	22.7	61.4	15.9
	Streptomycin	0	0	100	12.1	30.3	57.6	0	25.0	75.0	0	33.3	66.7	9.1	27.3	63.6
Amphenicol	Florfenicol	100	0	0	87.9	0.0	12.1	50.0	25.0	25.0	66.7	0	33.3	84.1	2.3	13.6
Cephalosporins	Cephalexin	0	0	100	36.4	45.5	18.2	25.0	0	75.0	33.3	0	66.7	31.8	34.1	34.1
	Ceftiofur	0	0	100	87.9	3.0	9.1	0	25.0	75.0	33.3	0	66.7	68.2	4.5	27.3
Lincosamide	Lincomycin	0	0	100	0	0	100	0	25.0	75.0	0	0	100	0	2.3	97.7
Macrolides	Erythromycin	25.0	75.0	0	0	6.1	93.9	0	0	100	0	0	100	2.3	11.4	86.4
	Spectinomycin	0	0	100	75.8	6.1	18.2	25.0	75.0	0	33.3	66.7	0	61.4	15.9	22.7
	Spiramycin	0	25.0	75.0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	2.3	97.7
	Tylosin	0	25.0	75.0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	2.3	97.7
Penicillines	Amoxicillin /Clavulanic acid	25.0	50.0	25	57.6	24.2	18.2	25.0	0	75.0	66.7	0	33.3	52.3	22.7	25.0
	Ampicillin	0	0	100	27.3	0	72.7	0	0	100	33.3	66.7	0.0	22.7	0	77.3
	Penicillin	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	33.3	66.7	0	0	100
Pleuromutilin	Tiamulin	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Polypeptide	Colistin	100	0	0	84.8	9.1	6.1	75.0	25.0	0	66.7	33.3	0	84.1	11.4	4.5
Quinolones	Enrofloxacin	100	0	0	60.6	18.2	21.2	0	0	100	33.3	33.3	33.3	56.8	15.9	27.3
	Flumequine	0	0	100	42.4	0.0	57.6	0	0	100	33.3	0.0	66.7	34.1	0.0	65.9
Sulfonamide	Sulfamethoxazole	0	0	100	9.1	3.0	87.9	0	0	100	0.0	0.0	100.0	6.8	2.3	90.9
Tetracyclines	Doxycycline	100	0	0	39.4	3.0	57.6	25	0	75	33.3	0.0	66.7	43.2	2.3	54.5
	Oxytetracyclin	100	0	0	36.4	0.0	63.6	0	0	100	33.3	0.0	66.7	38.6	0.0	61.4

Others* include *Escherichia fergusonii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Pasteurella canis*

** : Susceptible; *** : Intermediate; **** : Resistant

높았다. 다른 연구자들이 사용한 항생제의 종류가 본 연구에서 사용된 것과 일치하지 않아서 단순한 비교가 어렵지만, 본 연구에서 높은 감수성을 보인 ceftiofur가 앞선 국내 논문에서와 같이 감수성이 높은 3세대 cephalosporin계열이라는 점은 주목할 만 하다. 또한 외국의 경우 gentamicin이 *E. coli*에 대해 감수성(90.7%)이 높았지만, 본 연구에서는 감수성이 63.6%였고, 국내의 다른 보고도 42.3%로 감수성이 탁월하지는 않았다(16,17,24). Greiner 등에 따르면 enrofloxacin의 감수성이 82.2%였으나, 본 연구에서는 60.6%로 차이가 있음을 알 수 있었다(11).

본 연구에서 *K. pneumoniae*에 대해 높은 감수성을 보이는 항생제는 apramycin과 colistin이었는데 반해, 앞선 다른 연구에서는 amikacin과 3세대 cephalosporin계열의 항생제 및 amoxicillin-clavulanic acid, doxycycline, gentamicin, chloramphenicol, enrofloxacin이 높은 감수성을 보여서 차이가 있었다(11,24). 이와 같이 감수성 양상에 차이를 보이는 이유는 다른 두 논문에서 apramycin과 colistin 항생제에 대한 감수성

검사를 하지 않았기 때문에 차이가 있을 수 있고, 외국에 비해 국내의 항생제 남용도 그 원인으로 고려되어야 할 것이다. 또한 본 연구뿐만 아니라 다른 연구에서도 이들 세균의 분리균주 수가 적었기 때문으로 생각되며, 보다 많은 수의 균주를 이용한 후속 연구가 필요할 것이다.

항생제 내성균의 출현은 동물의 치료를 어렵게 하고, 사람에게 영향을 줄 수도 있다(21). 특히 반려동물은 사람과 매우 가까운 곳에서 생활하므로 반려동물의 항생제 내성이 공중보건학적으로 큰 의미를 가진다. 본 연구에서 *E. coli*는 gentamicin, streptomycin, doxycycline, oxytetracycline, flumequine에 대해 비교적 높은 내성을 보였고, 특히 lincomycin, erythromycin, spiramycin, tylosin, penicillin, tiamulin, sulfamethoxazole에 대해서는 80-100%의 내성율을 나타냈다. 국내 한 대학병원에서 보고한 사람에서 분리된 *E. coli*에 대한 항생제 내성율을 보면, ampicillin과 gentamicin의 내성율이 본 연구과 유사하였다(2). 외국의 경우 개에서 분리된 *E. coli*에 대한 이들의 항생제 내성율이 각각 42%와 5.7%인 것을 감안하면 큰

차이가 있었다(16). Johnson 등은 개와 사람의 *E. coli*가 유전적으로 비슷하여서 반려동물이 reservoir로서의 가능성을 제시하였고, Strommenger 등은 반려동물과 사람간의 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)의 교차감염이 가능하다고 보고하였다(12,19). 따라서 반려동물 및 이들과 함께 생활하는 사람을 대상으로 한 항생제 내성에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

결과적으로 본 연구에서 분리된 그람음성 세균은 다른 항생제에 비해 florfenicol과 colistin에 감수성이 매우 높았으므로, 중환자에서 그람음성균에 대한 항생제 감수성 검사 결과가 나오기 전의 초기 항생제 치료시나 예방적 항생제 처치시 이들 항생제가 유용할 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. 국립수의과학검역원. 동물질병 표준검사법. 국립수의과학검역원 예규 제65호. 2008: 89-179.
2. 장민기, 추정민, 이혜수, 김정수. 전북대학교병원에서 분리된 그람음성균의 항생제 내성률의 변동과 약물 사용과의 관계. 대한소아과학회지 2000; 43: 625-631.
3. Balzan S, de Almeida Quadros C, de Cleve R, Zilberstein B, Ceconello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. J Gastroenterol Hepatol 2007; 22: 464-471.
4. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1966; 45: 493-496.
5. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. Infect Immun 1979; 23: 403-411.
6. Dahlinger J, Marks SL, Hirsh DC. Prevalence and identity of translocating bacteria in healthy dogs. J Vet Intern Med 1997; 11: 319-322.
7. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. Intensive Care Med 2008; 34: 17-60.
8. File TM Jr. Overview of resistance in the 1990s. Chest 1999; 115: 3S-8S.
9. Gatt M, Reddy BS, MacFie J. Bacterial translocation in the critically ill - evidence and methods of prevention. Aliment Pharmacol Ther 2007; 25: 741-757.
10. Greiner M, Wolf G, Hartmann K. Bacteraemia in 66 cats and antimicrobial susceptibility of the isolates (1995-2004). J Feline Med Surg 2007; 9: 404-410.
11. Greiner M, Wolf G, Hartmann K. Bacteraemia and antimicrobial susceptibility in dogs. Vet Rec 2007; 160: 529-530.
12. Johnson JR, O'Bryan TT, Low DA, Ling G, Delavari P, Fasching C, Russo TA, Carlino U, Stell AL. Evidence of commonality between canine and human extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains that express papG allele III. Infect Immun 2000; 68: 3327-3336.
13. Kreger BE, Craven DE, Carling PC, McCabe WR. Gram-negative bacteremia. III. Reassessment of etiology, epidemiology and ecology in 612 patients. Am J Med 1980; 68: 332-343.
14. Lemaire LC, van Lanschot JJ, Stoutenbeek CP, van Deventer SJ, Wells CL, Gouma DJ. Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or epiphenomenon still unproven. Br J Surg 1997; 84: 1340-1350.
15. Micek ST, Welch EC, Khan J, Pervez M, Doherty JA, Reichley RM, Kollef MH. Empiric combination antibiotic therapy is associated with improved outcome against sepsis due to gram-negative bacteria: a retrospective analysis. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 1742-1748.
16. Oluoch AO, Kim CH, Weisiger RM, Koo HY, Siegel AM, Campbell KL, Burke TJ, McKiernan BC, Kakoma I. Nonenteric *Escherichia coli* isolates from dogs: 674 cases (1990-1998). J Am Vet Med Assoc 2001; 218: 381-384.
17. Park SW, Seo KW, Hwang CY, Youn HY, Han HY. Isolation of bacteria from clinical specimens in veterinary medical teaching hospital and trend of antimicrobial susceptibility. J Vet Clin 2004; 21: 7-14.
18. Pedersen K, Pedersen K, Jensen H, Finster K, Jensen VF, Heuer OE. Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 775-781.
19. Strommenger B, Kehrenberg C, Kettlitz C, Cuny C, Verspohl J, Witte W, Schwarz S. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from pet animals and their relationship to human isolates. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 461-465.
20. Tsujimoto H, Ono S, Mochizuki H. Role of translocation of pathogen-associated molecular patterns in sepsis. Dig Surg 2009; 26: 100-109.
21. van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. Int J Antimicrob Agents 2000; 14: 327-335.
22. Wagner KA, Hartmann FA, Trepanier LA. Bacterial culture results from liver, gallbladder, or bile in 248 dogs and cats evaluated for hepatobiliary disease: 1998-2003. J Vet Intern Med 2007; 21: 417-424.
23. Watts JL, Shryock TR, Apley M, Bade DJ, Brown SD, Gray JT, Heine H, Hunter RP, Mevius DJ, Papich MG, Siley P, Zurenko GE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests for bacteria isolated from animals. In: Clinical and Laboratory Standards Institute, 3th ed. Pennsylvania: Wayne. 2008.
24. Yoo H, Park SW, Hwang CY, Youn HY, Han HY. Aerobic antimicrobial susceptibility patterns of bacteria isolated from dogs. J Vet Clin 2002; 19: 303-311.