

반려견 치아관리 인식조사 및 구강·치아표면의 세균동정 연구

동물방역팀

성호경 · 정윤경 · 채희선 · 이현호 · 김홍현 · 유미진 · 박형숙 · 최태석

Study on the Recognition of Dental Management of the Dogs and the Identification of Bacteria on the Surface of Oral Teeth

Animal Health Team

**Ho-kyung Sung, Yoon-kyung Jeong, Hee-sun Chae,
Hyun-ho Lee, Hong-hyun Kim, Mi-jin You,
Hyung-suk Park and Tae-suk Choi**

Abstract

In this study, to facilitate the management of dogs' dental hygiene and treat canine oral bacterial infections, we investigated dog owners' methods of caring for their dogs' teeth and the characteristics of the microbial communities inhabiting the canine dental surface.

The survey included 161 households whose dogs received physical examination at the "Seoul Transport Physical Examination Center". We found that dog owners' home oral care is insufficient to ensure their dogs' proper dental health. Bacteria were isolated from the dental surfaces of 119 dogs and identified using MALDI-TOF MS systems. Among the 119 samples, 216 strains and 27 bacterial genera were identified. The isolated bacterial genera in the order of abundance were *Pasteurella spp.*(23.6%), *Neisseria spp.*(19.9%), *Staphylococcus spp.*(15.3%), and *Streptococcus spp.*(11.6%). In addition, using the Columbia CNA agar culture method, bacteria were isolated from the dental surfaces of 45 dogs. Among the 45 samples, 50 strains and 7 bacterial genera were identified. The isolated bacterial genera in order of abundance were *Streptococcus spp.*(40%), *Staphylococcus spp.*(36%), *Enterococcus spp.*(10%), and *Rothia spp.*(8%). These results are consistent with those associated with wounds resulting from dog bites. From a total of 161 samples, 23 *Staphylococcus pseudintermedius*(SP) strains were identified. To determine whether these strains included multi-drug resistant(MDR) and

methicillin-resistant SP(MRSP), 23 SP strains were used in antimicrobial resistance tests (MIC, Vitek 2 compact system). Methicillin resistance was confirmed using the oxacillin antimicrobial test(MIC) and MRSP were tested the presence of *mecA* gene. Out of the 23 SP strains, MRSP was detected in 6 isolates(26.1%). It was also found that of these 6 isolates, all 6(100%) were *mecA*-positive. The *mecA* gene was not detected among the MSSP isolates. MRSP and Methicillin-susceptible SP isolates were highly resistant to benzylpenicillin, erythromycin, trimethoprim-sulfamexazole, chloramphenicol, and clindamycin (95.7~43.5%). Among the 23 strains, 14(60.9%) isolates were considered MDR(5 MRSP isolates(83.3%) and 9 as MSSP isolates(52.9%)). In this study, *mecA*-positive and MRSP indicated a strong resistance to antimicrobial agents. None of the SP isolates were resistant to amoxicillin/clauvulanic acid, amikacin, nitrofurantoin, or florfenicol. On the basis of our findings, the continuous surveillance and monitoring of canine oral bacteria is necessary to prevent infection following dog bites and the spread of multi-drug resistance bacteria in dogs and humans.

Key words : Canine, Dental care, Oral microbiome, *S. pseudintermedius*, Antimicrobial resistance

서론

국내 반려동물 보유 가구 비중은 국민소득 및 1인 가구 증가와 고령화 사회로의 진입 등 사회적 변화와 맞물려 지속적으로 급증해왔다. 농림축산식품부의 '2017 동물보호·복지에 대한 국민의식조사 결과'(1)를 보면 반려동물 양육가구는 2012년 17.9%에서 2017년 28.1%로 증가하였다. 특히 서울시의 경우 전국 등록동물 중 23.7%를 차지할 정도로 반려동물을 많이 키우고 있으며 전용 놀이터 조성, 도심지 공원 산책 및 각종 축제 행사 등 반려견 동반 놀이문화 활성화로 개와 일반 시민 간의 접촉빈도가 높아지고 있다. 그러나 반려견 수 증가에 비해 부족한 양육 관리 국민 의식(2)은 개 물림 사고를 비롯한 여러 사회적 문제를 야기하고 있다. 연간 개 물림 사고는 계속 증가하는 추세('14년 1,889건→'16년 2,111건)이며, 서울시의 경우 2016년에만 200명의 개 물림 환자가 발생하였다(3). 특히 2018년에는 잇따른 개 물림 사고(4)로 인해 반려동물에 대한 규제 강화 논란 및 견주의 관리 의식 부족에 대한 목소리가 컸다.

개에서 사람으로 옮겨지는 대부분의 세균성 감염은 교상을 통해 일어나고(5~7), 구강 세균이 핥기, 빨기 등 개와 사람 간의 친밀한 행동들 사이에서도 전파될 수 있다는 보고들(8~13)이 있었기에 반려견 구강 세균 군집에 대한 연구는 중요하다. 더욱이 홍기태의 조사 결과(2)에 따르면 인구가 밀집해 있고 소형견 위주의 반려견을 기르는 수도권 가구의 특성상, 반려견을 아파트 내에서 실내 사육하는 경우가 대다수이므로 반려견과 사람이 서로 간 세균을 전파시키기 좋은 환경이 조성되어 있다고 볼 수 있다. 따라서 개 구강 내 세균에 대한 시민들의 불안감 해소를 위해 구강세균총의 특성 및 분포 세균에 대한 예방 차원의 모니터링 연구가 필요하다.

질병 발생 과정에서 생물막(Biofilm)은 사람과 동물 모두에게 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 치아 생물막의 경우, 세균들이 공생관계를 유지하면서 과증식되면 치태 형성 더 나아가 치석과 치주 질환을 유발할 수 있다. 특히 개를 포함한 동물의 경우 사는 환경, 식이가 다양하고 구강 관리가 잘 안되기 때문에 더 광범위한 미생물 분포

를 형성하고 있다(11, 14~18). 해외 연구에서 치주 질환은 개의 80%가 겪고 있는 질환으로 알려져 있고 소동물 임상학적 측면에서 만성적인 치주 질환은 전신적 질환까지 일으킬 수 있다는 점이 강조되고 있다(11, 14~16, 19). 그리고 개와 사람의 구강 생물막 세균총은 서로 다르지만(8, 18), 개의 구강 세균들과 사람의 개 물림 상처에서 분리된 감염성 세균들이 교차 비교 결과 서로 유사하다는 여러 연구결과들이 있었기 때문에 개 구강 세균을 연구하는 것은 개와 사람 모두의 건강을 위해 중요하다(6~7, 9, 20, 21).

미생물을 동정하는 방법에는 고전적인 배양 기법, 생화학적·형태학적 분석 방법 등 여러 방법이 있을 수 있으나, 현재 차세대 염기서열 분석방법(Next generation sequencing)을 비롯한 세균의 유전자 분석이 가장 신뢰도 높은 방법으로 쓰이고 있다(8, 10~12, 18).

하지만 이러한 16S rRNA 또는 18S rRNA 염기서열 분석을 이용하는 방법은 유전자 추출, 염기서열 비교 분석 등 동정 절차가 까다롭고 대량의 시료를 처리하기에 시간과 비용이 많이 든다는 단점이 있다(23~24, 26). 최근에 다수의 시료를 단기간에 동정할 수 있고 경제적이며 분석 절차의 편의성 때문에 MALDI-TOF MS(Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry)가 임상시료 세균 동정 방법으로 각광받고 있다(22~26). 또한 MALDI-TOF MS 분석이 수의학적 병원균들을 동정하는데 정확하고 빠른 방법이라는 연구결과들이 있었고, 배지 위의 세균을 직접 채취해 장비에 도입 가능하다는 점에서 긴급 동정과 반복 작업이 필요한 세균 모니터링 기법으로 효용성이 높을 것으로 사료된다(24). 특히, 개에서 분리되는 세균 중 인수공통감염성과 다재내성이 문제시(28~34, 36~37) 되고 있는 *Staphylococcus pseudintermedius*의 경우 생화학적·형태학적 특성으로는 SIG(*Staphylococcus intermedius* group: *S.intermedius*, *S.pseudintermedius*, *S.delphini*)내에서 구분이 어렵지만 MALDI-TOF MS를 통해서도 *S.pseudintermedius* 동정의 민감도가 높다고 밝혀진 바 있다(27, 29, 35). SIG내 Oxacillin내성을 나타내

는 균종이 다르기 때문에(27~28) 개의 임상시료에서 MALDI-TOF MS를 활용한 세균 동정은 반려동물 항생제 내성균 모니터링방법에 효과적이라 생각된다(27, 29).

따라서 본 연구에서는 서울시 보건환경연구원의 '찾아가는 반려견 이동검진센터'와 연계하여 직접 치아 상태를 보고 구강 시료를 채취하여 위생관리에 대한 보호자들의 인식 조사를 받고 치아 표면의 미생물 분포를 차세대 미생물 동정기인 MALDI-TOF MS를 이용하여 분석하고, 구강세균 모니터링 가능성을 검토해 보고자 한다. 그리고 그간 국내에서 피부와 귀 병변에서만 국한되어 연구되었던 *S. pseudintermedius*를 구강 시료에서 분리한 후, 항생제 감수성 검사를 실시하여 기존의 연구논문과 항생제 패턴을 비교함으로써 개 구강세균에 대한 항생제 내성 모니터링 감시체계를 구축하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상 및 시료채취

2018년 7월부터 9월까지 서울시 반려견 놀이터 3개소에서 진행된 반려동물 이동검진센터(Transport physical examination center(TPE) : 월드컵공원 2회(TPE 1, 4), 보라매공원 2회(TPE 2, 5), 어린이대공원 2회(TPE 3, 6))에서 검진을 받은 개를 대상으로 구강 시료 채취 및 보호자들에게 반려견 치아관리 관련 설문조사를 받았다.

각 시료 채취 시기 및 개수와 품종 정보는 표 1~2와 같다. 연구 목적을 위한 구강 시료 제공에 동의한 견주들의 개를 대상으로 구강검진과 동시에 세균 수송배지(Copan, 108C, USE, Italy)를 이용하여 잇몸 위 치아 치석(치태) 부위를 스와프 채취한 후 냉장 상태로 실험실로 운반하여 실험에 이용하였다.

전체 시료 수는 총 164건이었으며 7월에 월드컵공원(TPE 1)에서 39마리, 보라매공원(TPE 2)에서 30마리, 어린이대공원(TPE 3)에서 20마리의 구강에서 시료를 채취하였고 9월에는 월드컵공원

Table 1. Sampling site and period

	ID	Sampling site	Date	No. of Sampling	No. of isolates	No. of SP ¹⁾ (% ²⁾)	Isolate No. of SP
1	TPE 1	Worldcup park	2018-07-05	39	64	1(2.6)	SP1
	TPE 2	Boramae park	2018-07-12	30	57	7(23.3)	SP2~8
	TPE 3	Children grand park	2018-07-19	20	33	1(5.0)	SP9
	TPE 4	Worldcup park	2018-09-06	30	30	0(0.0)	-
			Subtotal	119	184	9(7.6)	SP1~9
2	TPE 5	Boramae park	2018-09-13	30	23	8(26.7)	SP10~17
	TPE 6	Children grand park	2018-09-20	15	22	6(40.0)	SP18~23
			Subtotal	45	45	14(31.1)	SP10~23
			Total	164	229	23(10.0)	SP1~23

1: Blood agar(Aerobic, Anaerobic), MacConkey agar(Aerobic)

2: Coulmbia CNA agar with 5% sheep blood agar(Aerobic, Anaerobic)

1) Staphylococcus pseudintermedius, 2) No. of SP isolates/No. of sampling

(TPE 4)에서 30마리, 보라매공원(TPE 5)에서 30마리, 어린이대공원(TPE 6)에서 15마리의 구강에서 시료를 채취하였다. 또한 개 구강관리에 대한 설문조사를 검사 대상 164마리의 견주들에게 실시하였는데, 3명(TPE 4)이 조사에 응하지 않아 총 161명의 설문조사 결과를 얻었다. 설문조사의 문항은 표 3과 같다

2. 윤리

이동검진센터 검진 신청서 안에 반려견 치아관리 관련 설문조사 및 개인 정보 이용 동의서와 시료채취 동의서를 포함시켜 검진 시작 전 연구 목적을 위한 구강 시료 제공에 동의한 견주들의 개를 대상으로만 치아 표면을 스와프 하였다.

3. 분석방법

1) 구강관리 실태 조사

견주들이 평소 개 구강관리를 어떻게 해오고 있는지를 알아보기 위해 설문조사를 진행하였다. 미국동물병원협회(American Animal Hospital Association, AAHA)의 가이드라인(38)과 다른 연구들에서 개 구강질환과 치아 표면의 세균 증식을 예방하기 위한 위생 조치로 강조한 스케일링과 칫솔질 시행 횟수 및 빈도를 조사하였으며(14,

18, 38), 견주들 스스로 자신의 반려견의 치아 상태를 어떻게 인식하고 있는지도 같이 조사하여 비교해보았다.

2) 균주 분리

스와프 면봉을 직접 배지에 도말하여 균주 분리 과정을 진행하였다. 164개 스와프 시료 중 119개(TPE 1~4)는 개 치아 표면을 구성하고 있는 세균 분포를 확인하기 위하여 호기 조건에서 Blood agar((주)시노지이노베이션, Korea)와 MacConkey agar(OXOID, UK)에 직접 도말하여 37℃ 18~24시간 배양하였고, 혐기조건에서는 Blood agar에 37℃ 24~48시간 배양하였다. 혐기배양은 Anaerobic container(BD, USA)와 Anaerobic pack(BD, USA)을 사용하였다. 나머지 45개 시료(TPE 5~6)는 사람의 개 물림 상처에서 많이 발견되고 공중보건학적 중요성이 있는 사슬알균(*Streptococcus spp.*)과 포도알균(*Staphylococcus spp.*)의 검출률을 높이기 위해 타 논문(10, 12, 30, 37)에서 사용된 CCNA agar(Columbia CNA agar with 5% sheep blood, OXOID, UK)에 호기·혐기 조건 각각 37℃에서 18~24시간 배양하였다(표 1). 각각의 배지에서 자란 균은 집락들에서 2~3개를 선택하여 계대배양과정을

Table 2. Breed information of 164 dogs

TPE 1~4		TPE 5~6	
Breed	No. of dogs(%)	Breed	No. of dogs(%)
Poodle	23(19.5)	Poodle	15(33.3)
Maltese	21(17.8)	Pomeranian	8(17.8)
Mix	14(11.8)	Mix	7(15.6)
Pomeranian	9(7.6)	Maltese	3(6.7)
Golden Retriever	5(4.2)	Yorkshire Terrier	3(6.7)
Dachshund	5(4.2)	Labrador Retriever	2(4.4)
Labrador Retriever	5(4.2)	Pekingese	2(4.4)
Chihuahua	5(4.2)	Dachshund	1(2.2)
ShihTzu	4(3.4)	Bichon Frise	1(2.2)
Yorkshire Terrier	4(3.4)	Spitz	1(2.2)
Siberian husky	3(2.5)	Pembroke Welsh Corgi	1(2.2)
White Terrier	3(2.5)	Chihuahua	1(2.2)
Bichon Frise	2(1.7)	Total	45(100)
Spitz	2(1.7)		
Italian Greyhound	2(1.7)		
French bulldog	2(1.7)		
Miniature Pinscher	1(0.9)		
Bernese Mountain	1(0.9)		
Border Collie	1(0.9)		
Boston Terrier	1(0.9)		
Boxer	1(0.9)		
Shiba Inu	1(0.9)		
Silky Terrier	1(0.9)		
Old English Sheepdog	1(0.9)		
Cocker Spaniel	1(0.9)		
No information	1(0.9)		
Total	119(100)		

Table 3. Dental Hygiene Questionnaire of dog

A. Has been dental scaling performed on your dogs in the last year?				
1. Yes	2. No	3. Unknown		
B. How often did you brush your dog's teeth in the last week?				
1. Every day	2. Once every twodays	3. Sometimes	4. Never	
C. What do you think about the oral health condition of your dog?				
1. Very good	2. Good	3. Normal	4. Bad	5. Very bad

3~4번 거친 후, 순수 분리하였다. 분리된 균주는 Glycerol stock 또는 Bead 배지(Microbank, Pro-lab diagnostics, Canada)에 담아 -70°C에 보관하여 사용하였다.

3) 균주 동정

분리된 집락은 MALDI-TOF MS(Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry)를 이용하여 동정하였다. 동정 장비는 MALDI Biotyper System (Bruker, Germany)으로 분리된 집락을 target plate에 얇게 펴 바른 다음 Matrix HCCA (Bruker, #25534)에 Standard solvent(50% acetonitrile, 47.5% water, 2.5% trifluoroacetic acid) 250 µL를 넣어 제조한 Matrix solution을 그 위에 1 µL 떨어뜨린 후 상온에서 건조해 MALDI-TOF MS 장치에 도입하는 Direct transfer 방법을 사용하였다(24). 측정된 세균의 단백질 질량 스펙트럼은 MBT_autoX method로 분석하였으며, 측정 값은 MALDI Biotyper version 3.1의 library와 비교 분석되어 score value로 동정 수치가 표현되었다(보충그림 1). Score value에 따라 3가지(2.0 이상: Species까지 동정, 1.7 이상 2.0 미만: Genus 단계까지 동정, 1.7 미만: 동정 불가)로 나눠 결과를 분류하였고 개 한 마리에서 같은 종 또는 속의 세균이 중복돼 나온 경우는 하나의 균주만 분리된 것으로 처리하였다(22~26).

MALDI-TOF MS를 통해 *Staphylococcus pseudintermedius*로 분석된 균주들은 Vitek2 Compact system(Biomerieux, France)에서 GP card(Biomerieux, France)를 사용하여 균종을 교차 검증하였다.

4) 항생제 감수성 검사

동정이 확인된 균주 중 인체감염 위험성이 존재하고, 다제내성이 문제시되고 있는 *S. pseudintermedius*에 대해서 내성 유형을 파악하기 위해 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 항생제 감수성 시험은 Vitek2 compact system(Biomerieux, France)를 사용하였으며 수의학 전용으로 제조된

AST-GP81 card를 이용하여 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration: MIC)를 확인하였다(35, 39). MIC를 측정한 항생제 종류는 Benzylpenicillin, Amoxicillin/Clavulanic acid, Oxacillin, Cefalotin, Cefpodoxime, Amikacin, Gentamicin, Enrofloxacin, Marbofloxacin, Pradofloxacin, Erythromycin, Clindamycin, Doxycycline, Minocycline, Nitrofurantoin, Chloramphenicol, Florfenicol, Trimethoprim/Sulfamethoxazole 등 18종이다.

5) DNA 분리 및 methicillin 내성 유전자 검출

분리 배양된 *S. pseudintermedius*에서 SIG (*Staphylococcus intermermedius* group: *S. pseudintermedius*, *S. intermedius*, *S. delphini*)의 종 특이 프라이머인 SIG nuclease(*SInuc*) 유전자 확인 및 methicillin 내성 유전자 *mecA*를 검출하기 위하여 Genomic DNA를 추출하여 Multiplex-PCR 검사를 수행하였다(28~29, 34, 36, 40~44).

DNA 추출은 G-spin Genomic DNA Extraction for bacteria 키트(Intron Biotech, Korea)를 사용하여 제조사의 방법에 따라 추출하였다. *SInuc*와 *mecA* 유전자의 검출은 El Zubeire 등(36)의 방법에 따라 실시하였고, oligonucleotid primer는 BIONEER사(Korea)에 의뢰하여 제조하였다. Multiplex-PCR 반응은 AccuPower PCR premix (BIONEER, KOREA)에 각각의 10 pmol primer 1 µl와 template DNA 1 µl를 넣은 후 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 반응량이 20 µl가 되게 하여 C-1000 Touch Thermal Cycler(Bio-Rad, USA)를 이용하여 수행하였다. Multiplex-PCR 반응 조건 및 사용된 primer 서열은 표 4와 같다. PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동을 실시한 후 증폭 산물의 크기를 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 반려견 치아 위생관리 인식 조사

2018년 7월부터 9월까지 반려견 이동검진센터

에서 구강검진과 함께 치아 표면 스와프 시료를 총 164마리의 개에서 채취하였고 채취한 개의 견주 161명(164명 중 3명은 검사는 동의했으나, 설문조사를 미가입)이 설문조사에 응했다. 설문조사의 결과는 표 5와 같다.

설문조사 결과 과반수가 최근 1년간 스케일링을 받지 않거나(80.1%), 매일 칫솔질을 하지 않는 것(87.0%)으로 드러났다. 스케일링 설문 결과는 반려견 사육가구 300가구에 대한 흥기태(2)의 연

구결과보다 다소 높은 결과(70.7%)이며, 대다수의 응답자가 스케일링 시술을 주기적으로 받지 않는 것으로 드러났다(2, 14). 칫솔질 횟수 또한 미국동물협회의 「2013 개·고양이 치아관리 가이드라인(38)」에서 권고하는 수준인 매일 한 번 이상의 양치질을 지키지 못하는 응답자가 절반 이상(140명, 87.0%)이었으며 그중 전혀 양치질을 하지 않는다고 답한 사람이 33명(20.5%)이었다. 특히 최근 1년간 스케일링을 하지 않은 견주들 중

Table 4. Oligonucleotide sequences and PCR conditions used in the present study

Target gene	Primers	Sequence(5' → 3')	Expected amplicon size(bp)	Reference
<i>SInuc</i>	<i>SInuc1</i>	CAA TGG AGA TGG CCC TTT TA	125	Baron et al.(43)
	<i>SInuc2</i>	AGC GTA CAC GTT CAT CTT G		
<i>mecA</i>	<i>mecA1</i>	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C	532	Strommenger et al.(40)
	<i>mecA2</i>	AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C		

PCR program : one cycle at 95°C for 240 sec, 30 cycles at 95°C for 60 sec, 58°C for 60 sec, and 72°C for 60 sec; one cycle at 72°C for 420 sec

Table 5. Response table about Canine dental care of 161 dog owners

A. Dental scaling in the last year(n=161)									
1. Yes(32, 19.9%)					2. No(129, 80.1%)				
B. No. (%) of Brushing/week					B. No. (%) of Brushing/week				
Everyday	Three	< Three	Never	Total	Everyday	Three	< Three	Never	Total
6	6	15	5	32	15	31	55	28	129
(18.8)	(18.8)	(46.9)	(15.6)	(100.0)	(11.6)	(24.0)	(42.6)	(21.7)	(100.0)
C. Oral health conditon(n = 161)									
1~3. Very good, Good, Normal(131, 81.4%)									
A. Dental scaling in the last year			B. No.(%) of Brushing/week						
1. Yes		2. No	Everyday	Three	< Three	Never			
27		104	18	33	57	23			
(20.6)		(79.4)	(13.7)	(25.2)	(43.5)	(17.6)			
4~5. Bad, Very bad(30, 18.6%)									
A. Dental scaling in the last year			B. No.(%) of Brushing/week						
1. Yes		2. No	Everyday	Three	< Three	Never			
5		25	3	4	13	10			
(16.7)		(83.3)	(10)	(13.3)	(43.3)	(33.3)			

양치질을 전혀 안 하는 비율(21.7%)이 스케일링을 받은 견주들 중 양치질을 전혀 하지 않는 비율(15.6%)에 비해 높은 것으로 볼 때, 보호자들의 치아관리 관심도에 따라 평소 반려견의 구강관리 수준도 차이가 나는 것을 확인할 수 있었다.

반려견의 건강 상태는 보호자의 관찰에 의존할 수밖에 없어 치아 상태를 주기적으로 확인하고 판단하는 것이 중요하기 때문에(2) 보호자들 스스로 개의 구강상태에 대해 어떻게 생각하는지에 대해서도 설문조사를 실시하였다. 설문조사 결과, 총 161명 중 131명(81.4%)이 보통 이상의 상태라고 생각하고 있었고, 30명만(18.6%)이 구강상태가 좋지 않다고 판단하고 있었다. 구강상태가 보통 이상이라고 생각하는 응답자 집단과 나쁘다고 생각하는 응답자 집단 내 스케일링과 칫솔질에 대한 결과를 비교해 보았을 때, 구강상태가 나쁘다고 생각하는 집단에서 오히려 스케일링과 칫솔질을 하지 않는 비율이 더 높았다. 하지만 현장에서 이 동검진을 실시하여 구강검진을 실시하였을 때, 치주 질환을 갖고 있지 않는 개는 매우 드물었다.

이러한 결과를 종합해 볼 때, 견주들의 가정 내 반려견 구강 위생관리는 미흡한 수준이지만(14), 대부분의 견주들은 반려견의 구강상태가 좋다고 판단하고 있는 것으로 보인다. 스케일링을 실시하지 않는 이유에 대해 조사한 홍기태(2)의 결과에서도 스케일링 필요성을 못 느끼거나(34%) 잘 몰라서(31%) 시술을 하지 않는 경우가 과반수인 것으로 볼 때, 개 치아 위생관리에 대한 중요성을 견주들에게 강조해야 될 필요성이 있다고 사료된다(2, 14, 19, 38). 가장 일반적인 치주 질환의 치료 방법은 스케일링이지만 과정상의 어려움 때문에 칫솔질을 매일 해주는 것이 세균 증식 예방에 오

히려 효율적이라는 여러 연구들이 나온바 있다(14, 19, 38). 따라서 국내 반려견 대상 양치질과 구강 총 세균 수 간의 연관 관계를 밝히는 연구가 차후 수행된다면 보호자들에게 가정 내 반려견 구강관리 홍보와 건강에 도움이 될 것이라고 판단된다(9, 11, 19, 38, 45).

2. 개 치아 표면의 미생물 동정

TPE 1부터 TPE 4까지 총 119개 스와프 시료에서 Blood agar와 MacConkey agar를 사용하여 분리 배양하였을 때, 최종 290개의 균주를 분리하였고 MALDI-TOF MS로 분석한 결과 Biotyper score가 1.7 미만인 경우(not reliable identification)가 74 isolates(25.5%), 1.7 이상 2.0 미만인 경우(probable genus identification)가 32 isolates(11.0%), 2.0 이상인 경우(species identification)가 184 isolates으로 종(species) 기준 동정률 63.4%를 나타내었다(22~24). CCNA agar를 이용한 45개 스와프 시료 분리세균 총 88주의 결과는 1.7 미만인 경우(not reliable identification)가 38 isolates(43.2%), 1.7 이상 2.0 미만인 경우(probable genus identification)가 5 isolates(5.7%), 2.0 이상인 경우(species identification)가 45 isolates으로 종(species) 기준 동정률이 51.1%를 나타내었다(표 6). 종 기준 동정률이 낮은 이유는 사람과 개의 구강 세균총이 구강 내 pH, 단백질 효소, 영양분 등 환경의 차이로 구성이 서로 매우 달라 아직 분류가 안된 세균들이 많이 존재하며, 생물막 내 여러 세균들이 혼재되어 있어 순수 분리배양이 어렵기 때문이라고 생각된다(8, 11, 16, 18).

TPE 1~4까지 분리 균주의 MALDI-TOF MS

Table 6. MALDI-TOF MS scores of bacterial isolates from oral swabs

ID (No. of isolates)		TPE 1~4 (290)			TPE 5~6 (88)	
Identification	Species	Genus	Not reliable or No peaks	Species	Genus	Not reliable or No peaks
Score	≥2.0	≥1.7 & < 2.0	< 1.7	≥2.0	≥1.7 & < 2.0	< 1.7
No. of isolates(%)	184 (63.4)	32 (11.0)	74 (25.5)	45 (51.1)	5 (5.7)	38 (43.1)

Table 7. Species distribution of TPE 1~4 isolates

Score \geq 2.0 Organism	No. of isolates(%)	Score \geq 2.0 Organism	No. of isolates(%)
Aerobe organisms		Aerobe organisms	
<i>Pasteurella dagmatis</i>	25(13.6)	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	2(1.1)
<i>Pasteurella canis</i>	17(9.2)	<i>Bacillus cereus</i>	1(0.5)
<i>Pasteurella stomatis</i>	6(3.3)	<i>Bacillus simplex</i>	1(0.5)
<i>Pasteurella multocida</i>	3(1.6)	<i>Bergeyella zoohelcum</i>	2(1.1)
<i>Streptococcus minor</i>	13(7.1)	<i>E.coli</i>	2(1.1)
<i>Streptococcus canis</i>	3(1.6)	<i>Enterococcus faecium</i>	2(1.1)
<i>Streptococcus oralis</i>	3(1.6)	<i>Proteus mirabilis</i>	2(1.1)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1(0.5)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2(1.1)
<i>Streptococcus anginosus</i>	1(0.5)	<i>Aerococcus viridans</i>	1(0.5)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1(0.5)	<i>Aeromonas caviae</i>	1(0.5)
<i>Neisseria weaveri</i>	11(6.0)	<i>Aeromonas hydrophila</i>	1(0.5)
<i>Neisseria zoodegmatis</i>	11(6.0)	<i>Cardiobacterium sp</i>	1(0.5)
<i>Neisseria flavescens</i>	2(1.1)	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	1(0.5)
<i>Neisseria canis</i>	1(0.5)	<i>Kerstersia gyiorum</i>	1(0.5)
<i>Staphylococcus hominis</i>	9(4.9)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1(0.5)
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	9(4.9)	<i>Moraxella_sg_Moraxella canis</i>	1(0.5)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5(2.7)	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1(0.5)
<i>Staphylococcus capitis</i>	2(1.1)	<i>Rothia nasimurium</i>	1(0.5)
<i>Staphylococcus warneri</i>	2(1.1)	<i>Serratia liquefaciens</i>	1(0.5)
<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	7(3.8)		
<i>Micrococcus luteus</i>	6(3.3)	Anaerobic organisms	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5(2.7)	<i>Actinomyces canis</i>	4(2.2)
<i>Enterobacter cloacae</i>	2(1.1)	<i>Actinomyces weissii</i>	1(0.5)
<i>Enterobacter asburiae</i>	1(0.5)	<i>Fusobacterium canifelinum</i>	4(2.2)
<i>Acinetobacter pittii</i>	2(1.1)		
		Total	184(100)

결과는 표 7, 그림 1과 같다.

속(Genus) 단계까지는 전체 27개 속 216균주가 확인되었다(그림 1). 분리 균주 중 호기성세균은 총 25개 속 206균주로 *Pasteurella spp.*(51주, 23.6%) > *Neisseria spp.*(43주, 19.9%) > *Staphylococcus spp.*(33주, 15.3%) > *Streptococcus spp.*(25주, 11.6%) 등의 순서로 많이 분리되었으며 혐기성 세균은 *Actinomyces spp.*(6주, 2.8%) > *Fusobacterium spp.*(4주, 1.9%) 순으로 총 2개 속 10주의 균주가 일부 분리되었다. 종 단계로 봤을 때는 총 47개 균종 184개 균주가 동정 되었으며 *Pasteurella* 속은 *P.*

tococcus spp.(25주, 11.6%) 등의 순서로 많이 분리되었으며 혐기성 세균은 *Actinomyces spp.*(6주, 2.8%) > *Fusobacterium spp.*(4주, 1.9%) 순으로 총 2개 속 10주의 균주가 일부 분리되었다. 종 단계로 봤을 때는 총 47개 균종 184개 균주가 동정 되었으며 *Pasteurella* 속은 *P.*

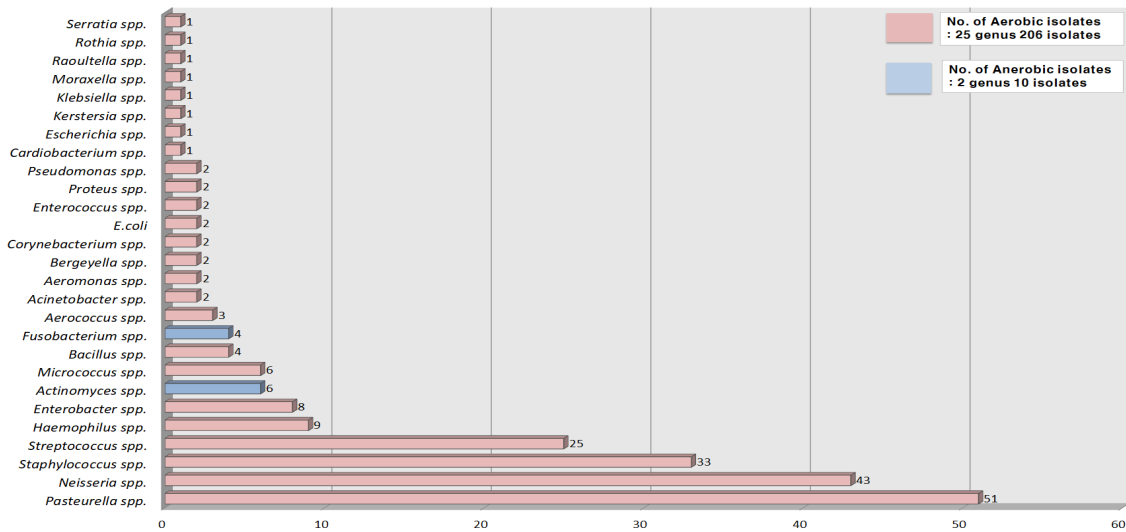


Fig. 1. Genus distribution of TPE 1~4 isolates.

dagmatis(25주), *P. canis*(17주)가 가장 많았고 *Neisseria* 속은 *N. weaveri*(11주), *N. zood-gematis*(11주), *Staphylococcus* 속은 *S. hominis*(9주), *S. pseudintermedius*(9주), *Streptococcus* 속은 *Streptococcus minor*(13주)가 동정되었으며, 혐기성세균은 *Actiomyces canis*(4주), *Fusobacterium canifelinum*(4주), *Actinomyces weissii*(1주)가 동정되었다(표 7).

BHI agar를 사용하여 개 치태 스와프를 호기 배양한 A.M.Patel 등(17)의 치태 내 세균 분포 연구 결과에서, *Staphylococcus spp.*(29.62%), *Bacillus spp.*(22.22%), *Escherichia coli*(14.81%), *Moraxella spp.*(11.11%), *Neisseria spp.*(11.11%), *Streptococcus spp.*(11.1%), *Pseudomonas spp.*(3.73%), *Corynebacterium spp.*(3.73%) 순으로 세균이 분리되었다고 보고된 바 있다. 이 연구 결과는 품종이나 지역, 식이, 사용된 배지, 동정 방법에 따라 정도의 차이가 있겠지만 전체적으로 본 연구와 치태에서 발견되는 세균이 서로 유사한 결과를 나타내었다. 개 치태 또는 침에서 세균을 배양해 16S rRNA sequencing 방법을 통해 균을 동정한 이전 연구 사례(11, 18)에서도, 검출된 호기성 균주의 속은 비슷하였다.

사람의 치태에서 분리되는 세균은 대부분 *Streptococcus spp.*(28%)인 것으로 밝혀져 있다(8).

하지만 본 연구 결과 *Streptococcus spp.*의 분리율이 11.1%인 것을 봤을 때, 선행 연구들과 마찬가지로 사람과 개의 구강 세균은 다르다는 것을 확인할 수 있었다(8). 이러한 세균 구성의 차이는 개의 침(pH 8.5~8.65)이 사람(pH 6.5~7.5)보다 염기성이고 사람과의 구강 위생관리 및 식이 차이로 미생물 생존 환경 조건이 다르기 때문인 것으로 사료된다(11).

이전 연구들을 통해 물린 사람의 상처에서 분리되는 세균들은 대부분 상처를 입힌 동물의 구강 세균총에서 유래했다는 것이 과학적으로 증명되었기 때문에 본 연구에서 분리된 개 구강 세균 종류들과 개 물림 상처에서 검출된 세균 종류들을 서로 비교해보았다(6~7). 개 물림 상처에서는 다양한 세균들이 발견되며 호기성과 혐기성세균이 혼재되어 검출되지만, 주로 혐기성 세균은 농양 상처에서 많이(77%) 발견되고 포도알균(53%)과 사슬알균(59%)은 비화농성 상처에서 더 많이 발견되고 있다. 그리고 *Pasteurella spp.*는 화농성이든 비화농성이든 흔하게 발견되고 있다고 보고된 바 있다(20).

Talan 등(20)의 개 물림 상처 내 세균 분리 연구 결과에서 *Pasteurella spp.*(50%) > *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*(각각 46%) > *Neisseria spp.*(32%) > *Corynebacterium spp.*

(12%) > *Moraxella spp.*, *Enterococcus spp.* (각각 10%) > *Bacillus spp.*(8%) 순서로 호기성 세균이, *Fusobacterium spp.*(32%) > *Porphyromonas spp.*, *Prevotella spp.*(각각 28%) > *Propionibacterium spp.* (20%) > *Bacteriodes spp.* (18%) > *Peptostreptococcus spp.*(16%) 순서로 혐기성 세균이 검출됐다. 또한 *Pasteurella* 속은 *P. canis*(27%) > *P. multocida*, *P. septica*(각각 13%), *Streptococcus* 속은 *S. mitis*(22%) > *S. mutans*, *S. pyogenes*(각각 12%), *Staphylococcus*속은 *S. aureus*(20%) > *S. epidermidis*(18%) > *S. wanneri*(6%), *Neisseria*속은 *N. weaveri*(14%) > *N. zoodegmatis* (10%), *N. animaloris*(6%) 순서로 분리되었다(6).

본 연구에서 다수 분리된 세균 중 *Pasteurella* 속과 *Neisseria* 속, *Staphylococcus* 속, *Streptococcus* 속 결과는 사람의 개 물림 감염 상처에서 가장 많이 분리되는 호기성세균 속 종류와 일치하였지만, (5~7, 9, 20) 각각의 속 내 균종의 차이는 존재하였다. 위와 같은 검출 종의 차이는 개가 사람을 물었을 때, 개 구강의 세균이 사람 피부 보호막을 뚫고 직접 감염을 일으킬 수 있지만 개 구강과 다른 숙주 적응성, 환경의 차이에 따른 세균의 정착·증식 능력이 세균마다 다르기 때문이라 생각된다(9, 11).

개 물림 상처를 통해 감염을 유발하는 세균들 중 가장 많은 *Pasteurella* 속은 개·고양이 물림 사고 모두에서 중요한 연부 조직 감염균으로, 다른 *Staphylococcus spp.* 또는 *Streptococcus spp.* 감염과 달리 짧은 잠복기를 갖고 있으며 교상 감염증상도 빨리 나타내는 것으로 알려져 있다. *P. multocida subsp. multocida*와 *subsp. septica*가 다른 종에 비해 더 심각한 전신질환을 일으키는 것으로 알려져 있으며 *P. multocida subsp. septica*는 중추신경계 감염을 유발하는 경향이 있다. *Pasteurella* 속은 다른 동물에서도 분리되는 세균이지만 *P. canis*는 사람의 파스튜넬라 감염증에서 개 물림 상처와만 연관돼 검출되었다(5~6).

두 번째로 많은 감염증을 일으키는 *Staphylococcus*

속과 *Streptococcus* 속은 화농성 병변보다 봉와직염이나 림프관염의 비화농성 상처에서 더 많이 발견되며 *S. pseudintermedius*의 경우 그동안 동정 기술의 한계로 *S. aureus*나 *S. intermedius*로 오인받은 경우가 많았으나 검사 기술능력이 향상됨에 따라 분리율이 늘어나고 인체감염 가능성과 다제내성을 가진 세균으로 중요성이 증가되고 있다(5~6, 28~34, 41~42).

Neisseria 속의 경우, *N. weaveri*는 사람에게 물림 사고를 통해 세균혈중(bacteremia)과 봉와직염을 일으킨 적이 있으며 *N. animaloris*와 *N. zoodegmatis* 감염은 대부분 국소감염을 일으키지만 환자의 상태에 따라 패혈증, 건초염, 건과열을 일으킨 경우도 보고된 바 있다(11, 46~47). 혐기성 세균은 교상 감염에서 농양을 형성하고 화농성 상처에서 분리되는 세균 중 75%를 차지할 정도로 병원성에 중요하지만(7) 이번 세균 분리 결과에서는 혐기성 세균이 일부만 동정되었다. 일반적으로 치태는 부위에 따라 잇몸 위 치태와 잇몸 아래 치태로 나뉘는데 잇몸 위 치태는 주로 그람양성 통성 호기성균들로 구성되고 잇몸 아래 치태는 혐기성 그람음성 세균이 차지하게 된다고 알려져 있다(15). 따라서 스와프 부위를 잇몸 위 치태로만 채취해서 호기성 세균이 분리배양 결과에 대다수를 차지하게 된 것으로 보인다.

지금까지 개 물림 사고 관련 세균 연구는 *Pasteurella* 속만 중요시 여겨져 왔다. 하지만 병원성 *Staphylococci*를 모니터링 하는데 구강이 최적의 부위라는 선행 연구결과들이 있었고(12), 따라서 두 번째로 많이 감염증을 일으키는 *Staphylococcus spp.*와 *Streptococcus spp.*의 개 구강 세균 모니터링 가능성과 분리된 *S. pseudintermedius*의 항생제 감수성을 확인하기 위해 Columbia CNA agar를 활용하여 TPE5~TPE6까지 총 45마리의 구강 시료 내 세균을 분리·동정하였다. Columbia CNA agar는 그람양성 세균을 분리해내는 좋은 배지이며 특히 사슬알균과 포도알균의 배양이 잘되는 것으로 알려져 있다(10, 12, 30, 37). 분리 균주의 MALDI-TOF MS 결과는 표 8과 그림 2와 같다.

속(genus) 단계까지 동정된 결과는 총 7개 속

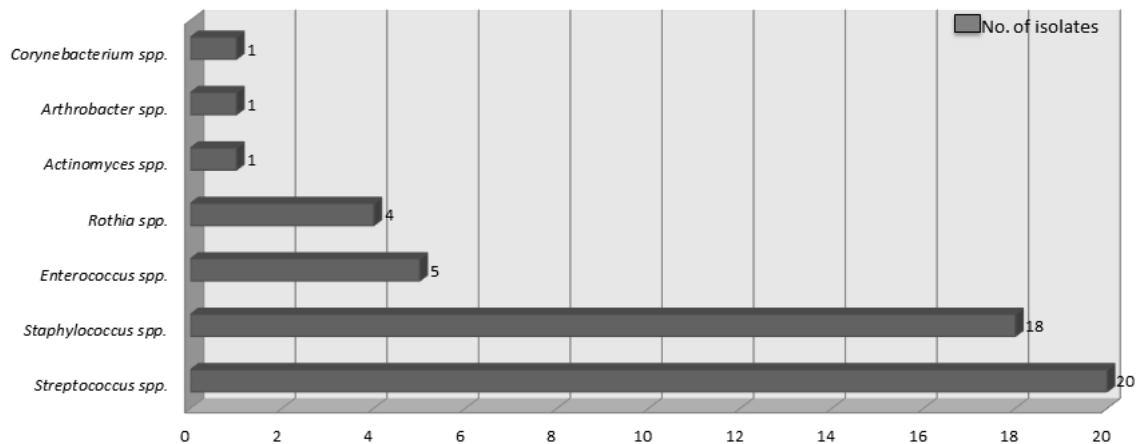


Fig 2. Genus distribution of TPE 5~6 isolates.

(genus) 50균주로 *Streptococcus spp.*(20주, 40%), *Staphylococcus spp.*(18주, 36%), *Enterococcus spp.*(5주, 10%), *Rothia spp.*(4주, 8%) 순으로 동정되었고 *Actinomyces spp.*, *Actinobacter spp.*, *Corynebacterium spp.*가 각 1주(2%)씩 일부 분리되었다(그림 2). 종 단계로 봤을 때는 총 11개 균종 45개 균주가 동정되었으며 *S. pseudintermedius*(14주, 31.1%), *Streptococcus minor*(13주, 28.9%), *Enterococcus faecalis*(4주, 8.9%), *Streptococcus canis*(4주, 8.9%) 등의 순서로 분리되었다(표 8). 위 결과는 TPE 1에서 TPE 4까지 시료의 동정 결과와 차이가 있었다. 시료 채취 수 대비 분리 대상으로 선정한 *Staphylococcus spp.*와 *Streptococcus spp.*의 종 분리율(35균주/45스왑)은 77.8%였다. 특히, *S. pseudintermedius*가 많이 검출되었는데 이는 구강이 *S. pseudintermedius*를 분리해내기에 가장 최적의 해부학적 부위라는 기존 연구들의 결과와 일치하였다(12, 29~30). S.A.Iverson(12)의 구강 내 *S. pseudintermedius* 분리율(41%)에 비해 본 연구의 분리율이 다소 낮지만(31.1%), 이 결과는 증균 과정과 Baird Parker 배지 사용 여부에 따른 차이라고 생각된다. *S. pseudintermedius*(SP)는 Coagulase-positive *Staphylococci* 중 하나로 *Staphylococcus intermedius* Group (SIG : *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini*)에 속한다. SP는 건강한 개의 90%에

서 분리되는 피부·점막의 정상 세균총 중 하나이자 농피증, 외이염 등의 주된 원인체로 임상치료에서 가장 많이 분리되는 기회감염균이기도 하다(12, 28~29, 31, 33~34, 41~42). 수의 임상학적으로는 과거에 SP는 penicillinase-stable β -lactam antibiotics에도 감수성이 있었지만 2006년 이후부터는 methicillin-resistant *S. pseudintermedius*(MRSP)가 증가하기 시작하면서 항생제 내성 문제가 대두되었다. MRSP 균주

Table 8. Species distribution of TPE 5~6 isolates

Score \geq 2.0 Organism	No. of isolates(%)
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	14(31.1)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	2(4.4)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1(2.2)
<i>Streptococcus minor</i>	13(28.9)
<i>Streptococcus canis</i>	4(8.9)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1(2.2)
<i>Enterococcus faecalis</i>	4(8.9)
<i>Enterococcus faecium</i>	1(2.2)
<i>Rothia nasimurium</i>	3(6.7)
<i>Actinomyces weissii</i>	1(2.2)
<i>Corynebacterium striatum</i>	1(2.2)
Total	45(100)

들은 사람에서의 MRSA(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)와 마찬가지로 β -lactam 계열 항생제 외에도 여러 항생제들에 내성을 갖고 있어 동물 병원의 치료 약제 선택에 어려움을 주고 있다(28~31, 33~34, 41~42, 48). SP는 개가 자연숙주인 세균으로 사람에서 드물게 질병을 일으키고 전염 가능성이 낮아 인공공통 병원체로 가능성이 저평가되어 왔다(29). 하지만 최근 여러 연구들에서 개 교상을 통한 감염증(봉와직염)과 한 공간에 사는 개와 견주 간 접촉성 세균 전파 보고가 나오고 있고 네덜란드에서는 동물 병원에 근무하는 직원들이 내원한 개의 MRSP에 감염되어 개와 동일한 항생제패턴과 PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) profile을 보인 결과가 있었다(29).

또한 유럽 지역에서는 MRSP 균주들이 사람에서 증식될 수 있고 사람 간 감염도 일으킬 수 있다는 보고가 있었으며, 개와 접촉이 전혀 없었던 사람에게서도 MRSP가 검출됨에 따라 인체감염 예방을 위해 SP를 모니터링해야 될 역학적 가치가 있음이 증명되고 있다(12, 29, 32~34, 36, 48). 그러나 그동안 SP 관련 연구들은 피부, 귀 시료들에만 국한되어 구강 SP에 대한 연구들이 미흡했었다(28, 41~42). 시료 채취 부위에 따라 세균의 항생제 감수성이나 전염성이 다르므로 본 연구 외에도 구강 SP에 대한 지속적인 분리 모니터링이 필요할 것으로 여겨진다.

3. *Sluc*유전자와 *mecA*유전자 검출

SP는 분류학적으로 이견이 많다가 2005년도에 이르러서야 *S. intermedius*와의 유전자 분석 차이로 재분류되었다(27, 29, 33). 예전 세균 동정 기법이 발달되지 않았을 때에는 같은 Coagulase-positive *Staphylococci*(COPS)인 *S. aureus*와 혼동되는 경우가 있었으며, *nuc* gene을 통한 multiplex-PCR 방법이 연구되면서 COPS 간 구분이 용이해졌다(27, 29, 36, 40~42).

MRSP의 methicillin 내성은 MRSA와 마찬가지로 modified penicillin-binding protein(PBP)의 생산을 암호화하는 *mecA* 유전자에 의해 결정된다(28, 40~42). *mecA* 유전자는 Staphylococcal

cassette chromosome *mec*(SCC*mec*)이라는 이동성 유전자의 염색체(mobile genetic element) 내 존재하며, El Zubeir 등(36)의 연구에서 *Sluc*와 *mecA* 유전자를 동시에 검출하는 multiplex-PCR 방법이 소개된 바 있다(27~29, 36, 40~43).

El zubeir 등(36)의 실험에서 사용된 *Sluc* 유전자와 *mecA* 유전자의 PCR 검출 기법을 본 연구에서 분리된 23개의 SP 시료들에 적용하였을 때, 23개의 SP 모두 *Sluc* 유전자가 확인되었으며 *mecA* 유전자는 6개의 SP(*mecA*-positive SP, 26.1%)에서 확인되었다(표 1, 그림 3). *mecA*는 이동성 유전자 염색체 내에 존재하기 때문에 *Staphylococci* 속간에 전파가 가능하다. 더욱이 사람에게 임상학적으로 중요한 MRSA와 MRSP 간의 항생제 내성관련 인자들이 서로 전이될 수 있으며 적은 수의 세균으로도 항생제 내성이 한 숙주에서 다른 숙주로 이동할 수 있으므로 주의를 기울여야 한다(28, 31~34, 36, 41). 최근 *mecA*-Positive SP들이 다제내성과 연관되고 항생제 감수성 시험 결과 상 항생제 내성을 나타내지 않더라도 외부 스트레스를 통해 항생제 내성 인자가 작용할 수 있다는 연구 보고들이 있으므로, 항생제 감수성 검사와 함께 항생제 내성인자 유무를 검사하여 항생제 내성 발전 가능성을 최소화하여야 한다(41~42).

4. 개 구강에서 분리된 *S. pseudintermedius*의 항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험을 Vitek2 compact system으로 수행하기에 앞서 GP card를 이용, MALDI-TOF MS로 동정된 SP 균주들을 교차 확인하였다. 교차 검증 결과, 23개 균주 모두 Vitek2를 통해서도 SP로 동정되었다. 분리된 *S. pseudintermedius* 23주에 대하여 MRSP와 항생제 내성 패턴을 확인하기 위하여 oxacillin 등 18종의 항생제 감수성 시험(MIC, Vitek2 compact system)을 수행하였다. 23개의 SP 균주들 중 oxacillin에 내성이 있는 MRSP는 6주(6/23, 26.1%), oxacillin에 감수성이 있는 MSSP는 17주(17/23, 73.9%)로 확인되었다. *mecA* 유전자가 검출된 SP 균주들은 모두 MRSP(6/6)로 밝혀졌고

MSSP 중 *mecA* 유전자가 검출된 균주는 없었다 (그림 3).

MRSP 6주와 MSSP 17주에 대한 항생제 감수성 시험 결과는 표 9~10과 같다. MRSP는 ben-

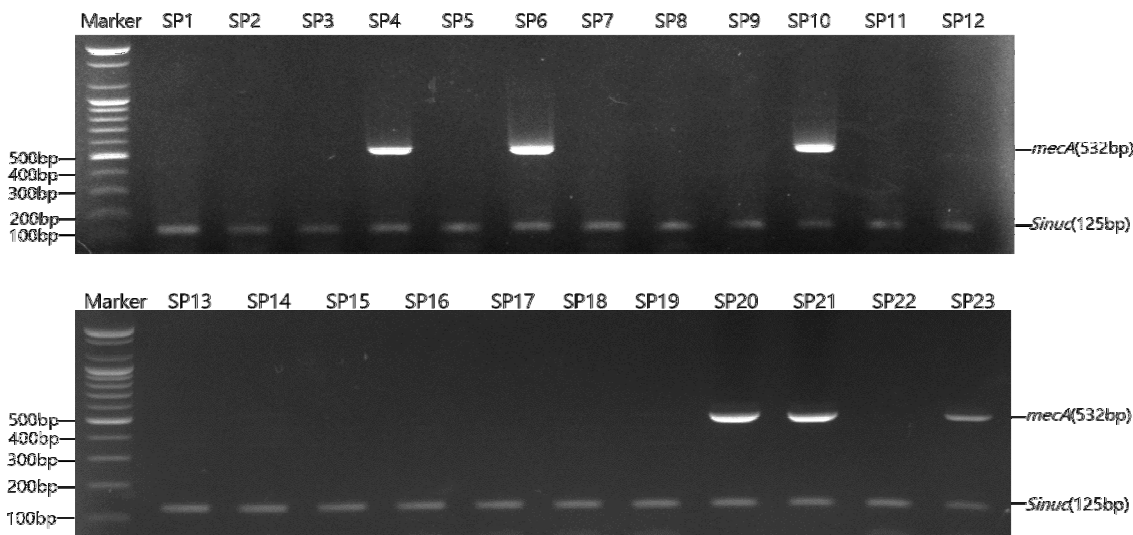


Fig 3. Results of the multiplex PCR assay.

Table 9. Antibigram(MIC) results for the 23 oral SP isolates

Antimicrobial agent	Number of SP isolates(%)		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Benzylpenicillin(P)	22(95.7)	0(0.0)	1(4.3)
Amoxicillin/Clavulanic Acid(AMC)	0(0.0)	0(0.0)	23(100)
Oxacillin(OX)	6(30.4)	0(0.0)	17(73.9)
Cefalotin(CF)	1(4.3)	0(0.0)	22(95.6)
Cefpodoxime(CPD)	1(4.3)	2(8.7)	20(87.0)
Amikacin(AN)	0(0.0)	0(0.0)	23(100)
Gentamicin(GM)	2(8.7)	1(4.3)	20(87.0)
Enrofloxacin(ENR)	4(17.4)	0(0.0)	19(82.6)
Marbofloxacin(MRB)	4(17.4)	0(0.0)	19(82.6)
Pradofloxacin(PRA)	4(17.4)	0(0.0)	19(82.6)
Erythromycin(E)	14(60.9)	0(0.0)	9(39.1)
Clindamycin(CM)	10(43.5)	0(0.0)	13(56.5)
Doxycycline(DO)	1(4.3)	14(60.9)	8(34.8)
Minocycline(MNO)	0(0.0)	6(26.1)	17(73.9)
Nitrofurantoin(FT)	0(0.0)	0(0.0)	23(100)
Chloramphenicol(C)	11(47.8)	0(0.0)	12(52.2)
Florfenicol(FFC)	0(0.0)	0(0.0)	23(100)
Trimethoprim/Sulfamethoxazole(SXT)	13(56.5)	0(0.0)	10(43.5)

Table 10. Antimicrobial resistance of the *mecA*-positive or -negative oral SP isolates from dogs

Antimicrobial agent	Number of antibiotic-resistant SP isolates(%)	
	<i>mecA</i> PCR-negative(n=17)	<i>mecA</i> PCR-positive(n=6)
		Oxacillin-Resistant(n=6)
Benzylpenicillin	16(94.1)	6(100)
Amoxicillin/Clavulanic Acid	0(0.0)	0(0.0)
Oxacillin	0(0.0)	6(100)
Cefalotin	0(0.0)	1(16.7)
Cefpodoxime	0(0.0)	1(16.7)
Amikacin	0(0.0)	0(0.0)
Gentamicin	0(0.0)	2(33.3)
Enrofloxacin	2(11.8)	2(33.3)
Marbofloxacin	2(11.8)	2(33.3)
Pradofloxacin	3(17.6)	1(16.7)
Erythromycin	10(58.8)	4(66.7)
Clindamycin	7(30.4)	3(50.0)
Doxycycline	0(0.0)	1(16.7)
Minocycline	0(0.0)	0(0.0)
Nitrofurantoin	0(0.0)	0(0.0)
Chloramphenicol	8(47.1)	3(50.0)
Florfenicol	0(0.0)	0(0.0)
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	8(47.1)	5(83.3)

zylpenicillin(100%), trimethoprim - sulfamethoxazole(83.3%), erythromycin(66.7%), chloramphenicol과 clindamycin(각각 50.0%), gentamicin과 enrofloxacin, marbofloxacin(각각 33.3%), cefalotin, cefpodoxime, pradofloxacin, doxycycline(각각 16.7%)에 내성을 나타냈다. Amoxicillin/clavulanic acid, amikacin, minocycline, nitrofurantoin, florfenicol에 대하여 내성인 균주는 없었다. MRSP 6주 중 3개 이상의 다른 항생제 분류(antibiotic class)에 내성(49)을 나타내는 다제내성(MDR = Multi-drug resistant) 균주는 5주(83.3%)로 5주 모두 5제 이상의 약제에 내성을 보였다(표 11).

MSSP는 benzylpenicillin(94.1%), erythromycin

(58.8%), chloramphenicol과 trimethoprim-sulfamethoxazole(각각 47.1%), clindamycin(41.2%), pradofloxacin(17.6%), enrofloxacin, marbofloxacin(각각 11.8%)에 내성을 나타내었다.

Amoxicillin/clavulanic acid, cefalotin, cefpodoxime, amikacin, gentamicin, doxycycline, minocycline, nitrofurantoin, florfenicol에 대하여 내성인 균주는 없었다(표 10). MSSP 17주 중 MDR을 보인 균주는 9주(52.9%)로 MRSP에 비해 MDR이 적게 나타났다. MSSP에서 MDR을 나타낸 균주 중 5제 이상의 약제에 대해 내성을 보인 균주는 6주였다.

MRSP와 MSSP 모두를 종합해 봤을 때, 개 구강 SP 균주들은 benzylpenicillin, erythromycin,

Table 11. Antimicrobial resistance patterns of the oral SP isolates

	Number of isolates	Resistance patterns	No. of resistant antibiotics	No. of isolates(%)
M S S P	SP1	P-ENR-MRB-PRA-E-CM-C-SXT	8	1(4.3)
	SP2,3,22	P-E-CM-C-SXT	5	3(13.0)
	SP5	P-E-CM	3	1(4.3)
	SP7	P-E-C	3	1(4.3)
	SP8	P-GM-E-C-SXT	5	1(4.3)
	SP9	P-E-CM-C	4	1(4.3)
	SP11, 12, 13, 15, 16	P	1	5(21.7)
	SP14	P-SXT	2	1(4.3)
	SP17	P-E-CM-SXT	4	1(4.3)
	SP18	P-ENR-MRB-PRA-E-C-SXT	7	1(4.3)
SP19	-	0	1(4.3)	
M R S P	SP4	P-OX-ENR-MRB-PRA-SXT	6	1(4.3)
	SP6	P-OX-E-CM-C-SXT	6	1(4.3)
	SP10	P-OX-E-C-SXT	5	1(4.3)
	SP20	P-OX	2	1(4.3)
	SP21	P-OX-CF-CPD-GM-E-CM-DO-C-SXT	10	1(4.3)
	SP23	P-OX-ENR-MRB-PRA-E-CM-SXT	7	1(4.3)

MSSP=Methicillin-Susceptible Staphylococcus pseudintermedius, MRSP=Methicillin-Resistant Staphylococcus pseudintermedius

Benzylpenicillin=P, Amoxicillin/Clavulanic Acid=AMC, Oxacillin=OX, Cefalotin=CF, Cefpodoxime=CPD, Amikacin=AN, Gentamicin=GM, Enrofloxacin=ENR, Marbofloxacin=MRB, Pradofloxacin=PRA, Erythromycin=E, Clindamycin=CM, Doxycycline=DO, Minocycline=MNO, Nitrofurantoin=FT, Chloramphenicol=C, Florfenicol=FFC, Trimethoprim/Sulfamethoxazole=SXT

trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, clindamycin에 강한 내성(95.7~43.5%)을 보였으며 amoxicillin/clavulanic acid, amikacin, nitrofurantoin, florfenicol에는 모두 감수성을 보였다(표 9). 23개 균주 중 다제내성을 보인 균주는 14개 균주(14/23, 60.9%)로 MSSP(9/17, 52.9%)에 비해 MRSP(5/6, 83.3%)에서 다제내성 균주가 더 많이 발견되었다. MRSP와 MSSP의 항생제 내성 유형은 표 11와 같다.

사용된 항생제의 종류와 감수성검사 방법이 다소 다르지만, 구강 SP 균주들의 항생제 내성 결과는 외국의 이전 연구들의 내성률에 비해선 다소

높았으나(30, 50) 국내 연구들의 결과와는 비슷하였다(28, 41~42). 그리고 amoxicillin/clavulanic acid, nitrofurantoin에 대하여 모든 SP가 감수성을 나타내어 이전 연구자들의 연구와 동일한 결과를 나타내었다(28, 41~42).

이번 연구에서 나온 MRSP 검출율을 기존 연구들과 비교해보면 해외 연구결과(28)에 비해 다소 높았으나 국내 반려견을 대상으로 한 연구결과에 비해선 낮거나(41~42) 비슷한 수준이었다(28). 이러한 MRSP 검출율의 차이는 지역적 분포, 질병의 유무, 항생제 처치, 치료채취 부위 및 검사 방법 등이 달라서 나타난 결과로 생각된다(28, 31).

본 연구 결과, MRSP는 MSSP에 비해 항생제 내성률이 높게 나왔으며 다제내성을 보이는 균주들의 비율도 더 많이 나왔다. 그리고 *mecA* 유전자 PCR실험 결과 모든 MRSP에서 *mecA* 유전자가 검출 됐기 때문에 기존 연구들과 마찬가지로 *mecA* 유전자와 다제내성 간 연관관계도 증명되었다(28, 34, 41~42, 48). 이러한 MRSP의 항생제 다제내성은 clones pattern과 관련성이 있는데 MRSP의 대부분(74%)은 clonal lineage ST71에 속하고 있고 그 중 87%가 최소 6종류의 항생제 class에 저항성을 보이고 있다(48). 따라서 추후 연구들에서는 sequence typing까지 실시되어 MRSP의 clone 분류와 사람 감염 SP 간의 유연관계가 밝혀져야 한다고 생각된다(28).

미국·유럽 등 선진국에서는 1990년대부터 국가 차원의 항생제 내성균 모니터링 프로그램 구축하였으나 국내 모니터링은 인간 및 축산분야에 한정되어 진행되어 왔었다. 반려동물과의 접촉이 점차 늘어나고 수의 임상분야에서 개의 항생제 내성 문제가 늘어나고 있는 만큼 다양하고 포괄적인 범위의 감시체계가 필요한 것으로 생각된다. 이번 연구 결과 *S. pseudintermedius*는 구강에서 분리될 수 있고 항생제에 높은 내성률을 보이는 MRSP와 *mecA* 유전자가 확인된 만큼 항생제 내성균 확산 예방을 위해 구강 세균의 모니터링이 필요할 것으로 생각된다. 더욱이 항생제 내성 인자 이동 및 전파가 균종 간(MRSA와 MRSP) 또는 숙주 간 일어날 수 있다는 점에서 이러한 관리 체계는 반려견과 사람 모두의 건강을 위해 중요한 것으로 사료된다.

결 론

반려 견주들의 치아관리 수준은 응답자 과반수가 미국 동물병원협회가 권장하는 수준에 못 미치는 것으로 드러났다. 게다가 양육하는 반려견의 구강이 안 좋다고 스스로 생각하고 있으면서도 칫솔질이나 스케일링 치료를 해주지 않는 경우가 대다수였다. 이러한 결과는 반려 견주들이 칫솔질이나 스케일링이 구강위생에 꼭 필수적이지 않다고

생각하는데 기인한 것으로 보인다. 칫솔질 횟수가 구강세균의 증식을 막는데 중요하다는 여러 외국 연구가 있는 만큼 국내에서도 견주들의 의식 변화와 책임감 있는 양육 관리를 위해 관련 연구나 홍보가 필요할 것으로 보인다. 신속한 임상 미생물 진단으로 각광받고 있는 MALDI-TOF MS를 이용하여 구강세균을 동정하였을 때, 사람의 개 물림 상처에서 분리된 세균들이 대부분 검출되었다. 개 물림 상처 감염을 일으키는 원인으로 물린 사람의 세균보다 개 구강세균이 원인인 경우가 많다는 외국 보고가 있으므로 MALDI-TOF MS를 사용하는 검사 방법은 개 구강세균을 신속·정확하게 동정하는데 활용도가 높을 것으로 생각된다.

Columbia CNA agar를 활용한 세균 분리 결과에서는 *Staphylococcus spp.*와 *Streptococcus spp.*가 다수 검출이 되었으며 특히 개에서 피부질환, 외이염 등 여러 질병을 일으키고 개 물림 상처의 주된 원인균 중 하나인 *Staphylococcus pseudintermedius*가 가장 많이 동정되었다. 사람에게 인수공통전염 병원체로 주목받고 있는 *S. pseudintermedius*에 대해 항생제 감수성 시험을 실시한 결과, 다제내성균(60.9%)과 Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (26.1%)가 다수 발견되었으며 Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* 출현 빈도는 북미와 유럽에 비해 높았으나 국내 연구결과와는 비슷하였다.

지금까지 우리나라의 항생제 내성균 모니터링 감시체계는 축산분야에만 집중돼 실시해왔다. 하지만 반려동물 수가 증가함에 따라 인의용 항생제를 다수 사용하고 있는 소동물 임상분야 시장이 커졌고, 동일 생활권 내에서 반려동물과 사람 간의 밀접한 접촉과 항생제 내성균의 직·간접적 전파 가능성이 커지고 있기 때문에 광범위한 반려동물의 항생제 감수성 검사가 지속적으로 이어져야 한다고 생각된다. 또한 기존 국내 반려동물 대상 항생제 내성균 연구들은 피부·귀·눈 등 시료에만 한정되어 구강 시료에 대한 연구가 부족하였다. 시료 채취부위에 따라 세균의 항생제 감수성이 다를 수 있고, 구강의 경우 항생제 내성균이 사람에게 전파된 사례가 여럿 보고된 바 있기에 모

니터링 시 구강 부위가 시료 채취부위로서 중요할 것으로 판단된다. 더욱이 임상학적으로 봤을 때, 개 물림 상처 발생 시 선제적 항생제 처치를 하는 경우가 많으므로 향후 다양한 연구를 통해 개 구강 세균에 대한 분리·동정 연구 및 항생제 감수성검사를 통한 기초자료의 축적이 올바른 항생제 치료 선택에 도움이 될 것으로 생각된다.

참고문헌

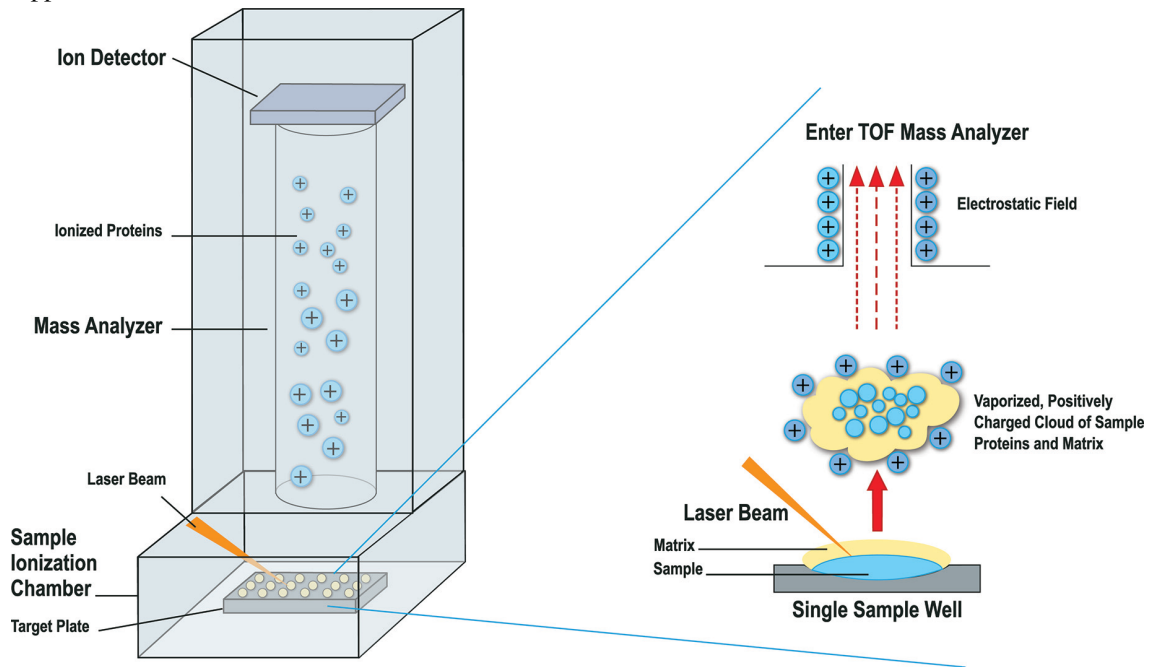
1. 농림축산검역본부 : 국내 동물보호·동물복지 최근 동향 조사 보고, 제1판. 농림축산검역본부, 경상북도, p.21~41, 2018.
2. 홍기태 : 서울 수도권 반려견 관리실태에 관한 연구 반려견 사육 가구 중심, 건국대학교 농축대학원, 서울, p.1~102, 2018.
3. 한국소비자원 : 소비자위해동향 분석, 한국소비자원 위해감시시스템, 2018.
4. MBN : “5살 아이 개에게 물렸는데 나 몰라라 떠난 주인”... 개 물림 사고 속출, MBN, 2018.
5. Ghasemzadeh, I and Namazi, SH : Review of bacterial and viral zoonotic infections transmitted. *J Med Life*, 8: 1~5, 2015.
6. Abrahamian, FM and Goldstein, EJ : Microbiology of animal bite wound infections. *Clinical microbiology reviews*, 24(2):231~246, 2011.
7. Brook, T : Microbiology and management of human and animal bite wound infections. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 30(1):25~39, 2003.
8. Dewhirst, FE, Klein, EA, Thompson, EC, Blanton, JM and Chen, T : The Canine Oral Microbiome. *PLOS ONE*, 7(4):1~12, 2012.
9. Zambori, C, CumpanasoIU, C, Bianca, L and Tirziu, E : Biofilms in oral cavity of dogs and implication in zoonotic infections. *Animal Science and Biotechnologies*, 46(1):155~158, 2013.
10. Misic, AM, Davis, MF, Tyldsley, AS, Hodkinson, BP, Tolomeo, P, Hu, B, Nachamkin, I, Lautenbach, E, Morris, DO and Grice, EA : The shared microbiota of humans and companion animals as evaluated. *Microbiome*, 3(2):1~19, 2015.
11. Oh, C, Lee, K, Cheong, Y, Lee, SW, Park, SY, Song, CS, Choi, IS and Lee, JB : Comparison of the Oral Microbiomes of Canines and Their Owners Using Next-Generation Sequencing. *PloS one*, 10(7):1~15, 2015.
12. Iverson, SA, Brazil, AM, Ferguson, JM, Nelson, K, Lautenbach, E, Rankin, SC, Morris, DO and Davis, MF : Anatomical patterns of colonization of pets with staphylococcal species in homes of people with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) skin or soft tissue infection(SSTI). *Veterinary Microbiology*, 176(1):202~208, 2015.
13. Ranjekar, A, Mahagaonkar, R and Mujumdar, S : Multi-drug resistance of micro-organisms isolated from Dog skin and saliva. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 2:317~329, 2015.
14. Kyllar, M and Witter, K : Prevalence of dental disorders in pet dogs. *Vet. Med. - Czech*, 50:496~505, 2005.
15. Zambori, C, Tirziu, E, Nichita, I, CumpanasoIU, C, Gros, RV, Seres, M, Mladin, B and Mot, D : Biofilm Implication in oral diseases of dogs and cats. *Animal Science and Biotechnologies*, 45(2):208~212, 2012.
16. Pieri, FA, Silva, VO, Silva, AJ and Moreira, MAS : Cultivable Microbiota in Mitis Salivarius Agar from Dental

- Plaque of Dogs. *Animal and Veterinary Sciences*, 6(2):21~26, 2018.
17. Patel, AM, Vadalía, JV, Kumar, V, Patel, PB and Barad, DB : Identifying Oral Bacterial Microflora Associated with Canine Dental Plaque -A Study of 53 Canines. *Intas Polivet*, 16(2):391~393, 2015.
 18. Elliott, R, Wilson, M, Buckley, CM and Spratt, DA : Cultivable Oral Microbiota of Domestic Dogs. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 43(11):5470~5476, 2005.
 19. Watanabe, K, Hayashi, K, Kijima, S, Nonaka, C and Yamazoe, K : Tooth brushing inhibits oral bacteria in dogs. *The Journal of veterinary medical science*, 77(10):1323~1325, 2015.
 20. David, A, Talan, MD, Diane, M, Citron, BS, Fredrick, M, Abrahamian, DO, Moran, Gregory J, MD, Ellie, JC and Goldstein, MD : Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. *N Engl J Med*, 340:85~92, 1999.
 21. Awoyomi, OJ and Ojo, OE : Antimicrobial resistance in aerobic bacteria isolated from oral cavities of hunting dogs in rural areas of Ogun state, Nigeria. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 12(3):47~52, 2014.
 22. 최현숙, 박진아B, 이새람, 전수진, 박진아A, 이집호, 김현정, 이목영 : MALDI-TOF MS를 이용한 한강수계의 미생물 군집 특성 연구. *서울특별시 보건환경연구원보*, 53:221~231, 2017.
 23. 정효원, 정지현, 박상훈, 승현정, 오세아, 신명희, 권은영, 김경식, 오영희 : MALDI-TOF MS를 이용한 장내 기회감염균 조사. *서울특별시 보건환경연구원보*, 51:155~163, 2015.
 24. Randall, LP, Lemma, F, Koylass, Mark, Rogers, Jon, Ayling, RD, Worth, Danny, Klita, M, Steventon, A, Line, K, Wragg, P, Muchowski, J, Kostrzewa, M and Whatmore, AM : Evaluation of MALDI-ToF as a method for the identification of bacteria in the veterinary diagnostic laboratory. *Research in Veterinary Science*, 101:42~49, 2015.
 25. Lee, MAe, Chung, HS, Moon, HW, Lee, SH and Lee, KW : Comparative evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry(MALDI-TOF MS) systems, Vitek MS and Microflex LT, for the identification of Gram-positive cocci routinely isolated in clinical microbiology laboratories. *Journal of Microbiological Methods*, 113:13~15, 2015.
 26. Singhal, N, Kumar, M, Kanaujia, PK and Viridi, JS : MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in microbiology*, 6(791):1~16, 2015.
 27. Decristophoris, P, Fasola, Amy, Benagli, C, Tonolla, M and Petrini, O : Identification of *Staphylococcus intermedius* Group by MALDI-TOF MS. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(1):45~51, 2011.
 28. 조재근, 이미리, 김정미, 김환득 : 개와 고양이에서 분리한 Methicillin 내성 및 감수성 *Staphylococcus pseudintermedius*. *한국가축위생학회지*, 39(3):175~181, 2016.
 29. Bannoehr, J and Guardabassi, L : *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog, taxonomy, diagnostics, ecology, epidermiology and pathogenicity. *Veterinary dermatology*, 23(4):253~e52, 2012.
 30. Faye A, Hartmann, David G, White, Susan EH, West, Robert D, Walker and

- Douglas J, DeBoer : Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Veterinary Microbiology*, 108(1~2):119~131, 2005.
31. Guardabassi, Luca, Schwarz, Stefan and David H, Lloyd : Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(2):321~332, 2004.
 32. Guardabassi, L, Loeber, ME and Jacobson, A : Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary Microbiology*, 98(1):23~27, 2004.
 33. Somayaji, R, Priyantha, MAR, Rubin, JE and Church, D : Human infections due to *Staphylococcus pseudintermedius*, an emerging zoonosis of canine origin: report of 24 cases. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 85(4):471~476, 2016.
 34. van Duijkeren, E, Catry, B, Greko, C, Moreno, MA, Pomba, MC, Pyörälä, S, Ruzauskas, M, Sanders, P, Threlfall, EJ, Torren-Edo, J and Törneke, K : Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemotherapy*, 66(12):2705~2714, 2011.
 35. Wu, MT, Burnham, CA, Westblade, LF, Dien, Bard, Lawhon, J, Wallace, MA, Stanley, T, Burd, E, Hindler, J and Humphries, RM : Evaluation of Oxacillin and Cefoxitin Disk and MIC Breakpoints for Prediction of Methicillin Resistance in Human and Veterinary Isolates of *Staphylococcus intermedius* Group. *Journal of clinical microbiology*, 54(3):535~542, 2016.
 36. El Zubeir, IEM, T, Kanbar, J, Alber, C, Lämmler, Ö, Akineden, R, Weiss and M, Zschöck : Phenotypic and genotypic characteristics of methicillin/oxacillin-resistant *Staphylococcus intermedius* isolated from clinical specimens during routine veterinary microbiological examinations. *Veterinary Microbiology*, 121(1~2):170~176, 2007.
 37. Dziva, F, Wint, C, Auguste, T, Heeraman, C, Dacon, C, Yu, P and Koma, LM : First identification of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains among coagulase-positive *staphylococci* isolated from dogs with otitis externa in Trinidad, West Indies. *Infection ecology & epidemiology*, 5(29170):1~6, 2015.
 38. Steven E, Holmstrom : 2013 AAHA Dental Care Guidelines for Dogs and Cats. American Animal Hospital Association.
 39. Bobenchik, AM, Hindler, JA, Giltner, CL, Saeki, S and Humphries, RM : Performance of Vitek 2 for antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus spp.* and *Enterococcus spp.* *Journal of clinical microbiology*, 52(2):392~397, 2014.
 40. Strommenger, B, Kettlitz, C, Werner, G and Witte, W : Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 41(9):4089~4094, 2003.
 41. Kang, MH, Chae, MJ, Yoon, J W, Kim, SG, Lee, SY, Yoo, JH and Park, HM : Antibiotic resistance and molecular characterization of ophthalmic *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *Journal of veterinary science*,

- 15(3):409~415, 2014.
42. Yoon, JW, Lee, KJ, Lee, SY, Chae, MJ, Park, JK, Yoo, JH and Park HM : Antibiotic Resistance Profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* from Canine Patients in Korea, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20(12):1764~1768, 2010.
 43. Baron, F, Cochet, MF, Pellerin, JL, Ben Zakour, N, Lebon, A, Navarro, A, Proudly, I, Le Loir, Y and Gautier, M : Development of a PCR test to Differentiate between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius*. *Journal of food protection*, 67(10):2302~2305, 2004.
 44. S, Lautz, T, Kanbar, J, Alber, C, Lämmler, R, Weiss, E, Prenger Berninghoff and M, Zschöck : Dissemination of the Gene Encoding Exfoliative Toxin of *Staphylococcus intermedius* Among strains isolated from Dogs during Routine Microbiological Diagnostics. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 53(9): 434~438, 2006.
 45. Lavy, E, Golani, Y, Friedman, M, Bdolah-Abram, T and Steinberg, D : Comparison of the distribution of oral cavity bacteria in various dog populations. *ISRAEL JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE*, 64(3):78~83, 2009.
 46. Heydecke, A, Andersson, B, Holmdahl, T and Melhus, A : Human wound infections caused by *Neisseria animaloris* and *Neisseria zoodegmatidis*, former CDC Group EF-4a and EF-4b. *Infection ecology & epidemiology*, 3:20312, 2013.
 47. Takashi Shinha : Cellulitis and Bacteremia due to *Neisseria weaveri* following a dog bite. *IDCases*, 12:56~57, 2018.
 48. Arshnee Moodley, Peter Damborg and Søren Saxmose Nielsen : Antimicrobial resistance in methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of canine origin : Literature review from 1980 to 2013. *Veterinary Microbiology*, 171(3~4):337~341, 2014.
 49. Magiorakos, AP, Srinivasan, A, Carey, RB, Carmeli, Y, Falagas, ME, Giske, CG, Harbarth, S, Hindler, JF, Kahlmeter, G, Olsson-Liljequist, B, Paterson, DL, Rice, LB, Stelling, J, Struelens, MJ, Vatopoulos, A, Weber, JT and Monnet, DL : Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria : an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 18(3): 268~281, 2012.
 50. Rubin, JE, Ball, KR and Chirino-Trejo, M : Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from various animals. *The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne*, 52(2):153~157, 2011.
 51. Patel, Robin : MALDI-TOF MS for the Diagnosis of infectious disease. *Clinical Chemistry*, 61(1):100~111, 2015.

Appendix



보충그림1. MALDI-TOF(Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry)의 원리와 동정방법(51).

세균 집락을 Target plate 에 적당량 바르고 matrix solution 을 떨어뜨린 후 일정기간 말린 다음, MALDI-TOF기기에 넣으면 기기의 Laser가 분석 부위에 조사되고 matrix가 증발되면서 미생물 내 양전하를 띠는 단백질을 방출시키고 그 이온은 크기에 따라 질량 종속적으로 진공 튜브 안에서 이동하여 detector에 질량스펙트럼이 측정된다. 이 질량 스펙트럼은 미생물 종 특이적으로 기존 스펙트럼 library와 비교하여 동정 score로 미생물의 종이 분석된다.

보충 Table. 1. TPE1에서 TPE4까지 검출된 구강 세균 균종(184주)에 대한 동정 score

연번	검출된 종	Score	연번	검출된 종	Score
1	<i>Pasteurella stomatis</i>	2.347	31	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2.399
2	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.005	32	<i>Neisseria zoodegamatis</i>	2.02
3	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.454	33	<i>Micrococcus luteus</i>	2.326
4	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.349	34	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	2.025
5	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.032	35	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.13
6	<i>Pasteurella canis</i>	2.427	36	<i>Neisseria weaveri</i>	2.067
7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.165	37	<i>Neisseria zoodegamatis</i>	2.013
8	<i>Micrococcus luteus</i>	2.259	38	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.255
9	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.432	39	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.518
10	<i>Enterococcus faecium</i>	2.488	40	<i>Neisseria flavescens</i>	2.199
11	<i>Micrococcus luteus</i>	2.184	41	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.039
12	<i>Neisseria weaveri</i>	2.033	42	<i>Pasteurella stomatis</i>	2.436
13	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.033	43	<i>Bacillus cereus</i>	2.296
14	<i>Bacillus simplex</i>	2.296	44	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.214
15	<i>Streptococcus oralis</i>	2.22	45	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.025
16	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.521	46	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.316
17	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.021	47	<i>Neisseria weaveri</i>	2.244
18	<i>Staphylococcus warneri</i>	2.053	48	<i>Pasteurella canis</i>	2.019
19	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.463	49	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.413
20	<i>Streptococcus minor</i>	2.279	50	<i>Streptococcus canis</i>	2.077
21	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.375	51	<i>Streptococcus canis</i>	2.036
22	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.002	52	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	2.484
23	<i>Pasteurella canis</i>	2.488	53	<i>Pasteurella stomatis</i>	2.492
24	<i>Neisseria weaveri</i>	2.155	54	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.356
25	<i>Pasteurella canis</i>	2.372	55	<i>Rothia nasimurium</i>	2.105
26	<i>Pasteurella canis</i>	2.37	56	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.072
27	<i>Neisseria weaveri</i>	2.159	57	<i>Streptococcus canis</i>	2.074
28	<i>Pasteurella stomatis</i>	2.432	58	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.122
29	<i>Neisseria canis</i>	2.119	59	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.032
30	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2.295	60	<i>Acinetobacter pittii</i>	2.376

보충 Table 1. (Continued)

연번	검출된 종	Score	연번	검출된 종	Score
61	<i>Streptococcus minor</i>	2.252	92	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.443
62	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.378	93	<i>Neisseria weaveri</i>	2.186
63	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.503	94	<i>Streptococcus minor</i>	2.029
64	<i>Actinomyces weissii</i>	2.275	95	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.34
65	<i>Streptococcus minor</i>	2.102	96	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.071
66	<i>Micrococcus luteus</i>	2.409	97	<i>Streptococcus minor</i>	2.091
67	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.001	98	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.101
68	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.021	99	<i>Neisseria weaveri</i>	2.283
69	<i>Neisseria weaveri</i>	2.224	100	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.464
70	<i>Pasteurella stoamatis</i>	2.174	101	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.501
71	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.147	102	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.278
72	<i>Pasteurella canis</i>	2.077	103	<i>Actinomyces canis</i>	2.137
73	<i>Pasteurella canis</i>	2.119	104	<i>Pasteurella canis</i>	2.409
74	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.122	105	<i>Bergeyella zoohelcum</i>	2.013
75	<i>Streptococcus minor</i>	2.013	106	<i>Pasteurella canis</i>	2.223
76	<i>Neisseria flavescens</i>	2.183	107	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.328
77	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.501	108	<i>Fusobacterium canifelinum</i>	2.124
78	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.501	109	<i>Fusobacterium canifelinum</i>	2.518
79	<i>Staphylococcus capitis</i>	2.095	110	<i>Micrococcus luteus</i>	2.263
80	<i>Streptococcus minor</i>	2.001	111	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.203
81	<i>Streptococcus minor</i>	2.174	112	<i>Bergeyella zoohelcum</i>	2.134
82	<i>Cardiobacterium sp</i>	2.156	113	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.459
83	<i>Pasteurella multocida</i>	2.434	114	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.454
84	<i>Moraxella_sg_Moraxella canis</i>	2.003	115	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.408
85	<i>Pasteurella canis</i>	2.538	116	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.454
86	<i>Streptococcus minor</i>	2.093	117	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2.403
87	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.491	118	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.099
88	<i>Proteus mirabilis</i>	2.516	119	<i>Pasteurella canis</i>	2.446
89	<i>Proteus mirabilis</i>	2.477	120	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.071
90	<i>Pasteurella canis</i>	2.423	121	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.38
91	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.408	122	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.277

보충 Table 1. (Continued)

연번	검출된 종	Score	연번	검출된 종	Score
123	<i>Staphylococcus warneri</i>	2.003	154	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2.023
124	<i>Pasteurella canis</i>	2.425	155	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.305
125	<i>Pasteurella canis</i>	2.456	156	<i>E. coli</i>	2.497
126	<i>Staphylococcus hominis</i>	2.09	157	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.156
127	<i>Pasteurella multocida</i>	2.569	158	<i>Staphylococcus capitis</i>	2.045
128	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2.427	159	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.14
129	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2.179	160	<i>Streptococcus minor</i>	2.049
130	<i>Enterococcus faecium</i>	2.428	161	<i>Acinetobacter pittii</i>	2.265
131	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	2.053	162	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.226
132	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2.494	163	<i>Enterobacter asburiae</i>	2.317
133	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.011	164	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.122
134	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.002	165	<i>Pasteurella canis</i>	2.284
135	<i>Actinomyces canis</i>	2.118	166	<i>Pasteurella canis</i>	2.455
136	<i>Neisseria weaveri</i>	2.264	167	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.515
137	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.344	168	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.414
138	<i>Fusobacterium canifelinum</i>	2.154	169	<i>Aerococcus viridans</i>	2.124
139	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	2.027	170	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	2.015
140	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2.214	171	<i>Streptococcus anginosus</i>	2.128
141	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2.075	172	<i>E. coli</i>	2.4
142	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2.234	173	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.18
143	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.364	174	<i>Kerstersia gyiorum</i>	2.452
144	<i>Serratia liquefaciens</i>	2.376	175	<i>Pasteurella multocida</i>	2.372
145	<i>Streptococcus oralis</i>	2.001	176	<i>Neisseria weaveri</i>	2.057
146	<i>Aeromonas caviae</i>	2.184	177	<i>Fusobacterium canifelinum</i>	2.408
147	<i>Pasteurella dagmatis</i>	2.422	178	<i>Streptococcus agalactiae</i>	2.392
148	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.398	179	<i>Pasteurella canis</i>	2.41
149	<i>Streptococcus minor</i>	2.127	180	<i>Actinomyces canis</i>	2.359
150	<i>Micrococcus luteus</i>	2.39	181	<i>Pasteurella stomatis</i>	2.471
151	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.077	182	<i>Streptococcus minor</i>	2.08
152	<i>Streptococcus oralis</i>	2.126	183	<i>Streptococcus minor</i>	2.007
153	<i>Neisseria weaveri</i>	2.083	184	<i>Actinomyces canis</i>	2.243

보충 Table. 2. TPE5에서 TPE6까지 검출된 구강 세균 균종(45주)에 대한 동정 score

연번	검출된 종	Score	연번	검출된 종	Score
1	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.009	24	<i>Streptococcus minor</i>	2.205
2	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.363	25	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.068
3	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.223	26	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.182
4	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.093	27	<i>Streptococcus minor</i>	2.162
5	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.107	28	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.092
6	<i>Rothia nasimurium</i>	2.378	29	<i>Streptococcus minor</i>	2.189
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.339	30	<i>Streptococcus minor</i>	2.209
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.429	31	<i>Actinomyces weissii</i>	2.133
9	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.091	32	<i>Staphylococcus sciuri</i>	2.17
10	<i>Streptococcus canis</i>	2.048	33	<i>Streptococcus canis</i>	2.123
11	<i>Streptococcus minor</i>	2.096	34	<i>Streptococcus minor</i>	2.2
12	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.157	35	<i>Staphylococcus sciuri</i>	2.158
13	<i>Streptococcus minor</i>	2.02	36	<i>Streptococcus canis</i>	2.044
14	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.036	37	<i>Streptococcus minor</i>	2.21
15	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.165	38	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.311
16	<i>Rothia nasimurium</i>	2.414	39	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.202
17	<i>Streptococcus minor</i>	2.159	40	<i>Streptococcus minor</i>	2.062
18	<i>Streptococcus minor</i>	2.146	41	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.097
19	<i>Rothia nasimurium</i>	2.29	42	<i>Streptococcus canis</i>	2.186
20	<i>Enterococcus faecium</i>	2.371	43	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.118
21	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.108	44	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2.151
22	<i>Streptococcus minor</i>	2.121	45	<i>Streptococcus sanguinis</i>	2.207
23	<i>Streptococcus minor</i>	2.094			