

# 젖소乳房感染症으로부터分離한 Gram陰性桿菌

朴 淸 圭  
慶北大學校 農科大學 獸醫學科

## 緒 論

Gram陰性桿菌에 의한 젖소乳房感染症은 여러 調査報告에서 多樣한 發生頻度를 나타내고 있다. 5~8, 10, 12, 16~20 이들 菌이 乳房內에 侵入하면 대개가 慢性乳房炎을 惹起시켜 感染分房의 乳汁分泌機能을 低下시키는 것은 물론 때로는 急性全身感染疾으로 敗血症 또는 毒血症을 일으켜 폐사를 招來하기도 한다.

Murphy 및 Hanson<sup>8)</sup>과 Schalm 및 Woods<sup>12)</sup>는 coliform mastitis에 있어 *Enterobacter aerogenes*가 重要한 役割을 한다고 報告했고, McDonald 등<sup>7)</sup>과 Radostits<sup>10)</sup> 그리고 著者 등<sup>21)</sup>은 *Escherichia coli*가 이들 感染症의 主要原因菌이라 報告한바 있다. 한편 *Klebsiella pneumoniae*<sup>9)</sup>, *Serratia marcescens*<sup>15)</sup>와 *Pseudomonas*<sup>4)</sup>에 의한 急性乳房炎이 어떤 牛群에서 散發的 또는 流行性으로 發生한 例와, *Streptococcus agalactiae*가 根絶되고 *Staphylococcus aureus*에 의한 乳房炎이 52%에서 6%로 減少된 한 牛群에서 coliforms가 乳房感染症의 主原因菌임을 指摘한 報告<sup>12)</sup> 등으로 보아 Gram陰性桿菌性乳房感染症이 점차 問題視되고 있다. 그러나 國內에서 Gram陰性桿菌性乳房感染症에 對한 體系的인 調査研究은 거의 찾아볼 수 없다.

于先 著者는 젖소의 乳房感染症으로부터 大腸菌을 비롯한 Gram陰性桿菌을 分離하여 分類함으로써 이들 菌의 分布狀態를 調調하였던바 그 結果를 報告한다.

## 材料 및 方法

乳房感染症에서 分離한 Gram陰性桿菌 148株는 大邱近郊에 위치한 Holstein 6個 牛群의 180餘頭를 對象으로 2年間に 걸쳐 乳房炎에 걸린 소의 乳汁를 수시로 採取하여 分離하였다.

乳汁採取 및 培養: 乳汁材料는 臨床的診斷에 依하여 乳房炎에 걸린 分房의 乳頭를 70% 알코올에 적신 솜으로 소독하고 foremilk를 짜버린 후 다시 乳頭를 알코올에 적신 솜으로 소독한 후 滅菌採取瓶에 10ml 정도 採取, 실험실로 운반하여 供試하였고 즉시 供試하지 못한 乳汁材料는 2~5°C에 保管하여 24時間 以內에 使用하였다.

菌分離는 brain heart infusion agar(Difco)에 脫纖維牛血液을 5%되게 加한 血液加平板培地와 MacConkey agar(Difco)에 乳汁를 各各 0.1ml 接種, 균등도 말한 다음 37°C에서 24時間 好氣培養한 후 나타난 集落의 形態學의 特徵과 Gram 염색소견에 依하여 原因이 된 Gram陰性菌을 分離했고 分離菌은 brain heart infusion 固形斜面培地에 接種, 培養하여 保管하면서 이 후 試驗에 供試하였다.

分離菌의 同定: 分離菌中 MacConkey agar에서 좋은 發育을 보이고 oxidase 產生陰性인 glucose를 分解한 enterobacteriaceae는 Edwards 및 Ewing<sup>2)</sup>의 方法에 의거 同定하였고, 腸內細菌 以外的 分離株에 對해서는 Bergey's manual<sup>1)</sup>에 의거 同定하였다.

分離菌株의 豫備群別은 oxidase 產生能, MacConkey agar에서 發育狀態 및 lactose 分解能과 Kligler iron agar (KIA)에서 lactose와 glucose의 分解能 및 gas와 硫化水素產生能에 기준을 두고 分類하였다.

## 結 果

表 1에 提示한 바와 같이 젖소乳房感染症으로부터 分離한 Gram陰性桿菌 148株는 oxidase 產生能, MacConkey agar에서 lactose 分解能과 KIA에서 反應結果에 따라 3群으로 大別되었다.

A群에 속한 129株는 indole, methyl red, Voges-Proskauer 및 Simmons' citrate 試驗과 尿素分解能, 運動性, KCN 培地에서 發育能 및 decarboxylation 反應의 結果에 따라 大腸菌 및 類似菌들이었다.(表 2)

B群의 12株는 모두 Proteus였으며 citrate利用能, 硫化水素產生能과 ornithine decarboxylation 反應의 結果에 依하여 3種으로 同定되었다.(表 3)

腸內細菌에 속하지 않은 C群의 7株中 3株는 pyocyanin을 產出하는 *Pseudomonas aeruginosa*였고 4株는 *Alcaligenes faecalis*로 同定되었다.(表 4)

感染分房으로부터 分離된 Gram陰性桿菌의 各菌種別 分離率을 보면 *E. coli*가 81株(54.7%)로 가장 分離頻도가 높았고 *E. aerogenes*는 30株(20.3%)로 그 다음이었으며 *Ps. aeruginosa*는 3株(2.0%)로서 가장 낮은 分離頻도를 보였다(表 5). 젖소乳房의 4分房으로

**Table 1.** Group Differentiation of 148 Gram-Negative Bacilli Isolated from Bovine Udder Infections

| Group | Colony Color on MacConkey Agar | Oxidase Production | KIA Agar |          |     |                  | No. of Isolates |
|-------|--------------------------------|--------------------|----------|----------|-----|------------------|-----------------|
|       |                                |                    | Slant    | Butt     | Gas | H <sub>2</sub> S |                 |
| A     | Red                            | —                  | Acid     | Acid     | +   | —                | 129             |
| B     | Colorless                      | —                  | Alkaline | Acid     | +   | +                | 6               |
|       |                                |                    |          |          |     | —                | 6               |
| C     | Colorless                      | +                  | Alkaline | Alkaline | —   | —                | 7               |

**Table 2.** Identification of 129 Group A (Table 1) Microorganisms by Biochemical Test Reactions

| No. of Isolates | Indole | Methyl Red | Voges-Proskauer | Simmons' Citrate | Urease | Motility |
|-----------------|--------|------------|-----------------|------------------|--------|----------|
| 81              | +      | +          | —               | —                | —      | +        |
| 30              | —      | —          | +               | +                | —      | +        |
| 18              | —      | —          | +               | +                | +      | —        |

  

|    | KCN | Phenylalanine Deaminase | Decarboxylation |           | Microorganisms                |
|----|-----|-------------------------|-----------------|-----------|-------------------------------|
|    |     |                         | Lysine          | Ornithine |                               |
| 81 | —   | —                       | +               | +         | <i>E. coli</i>                |
| 30 | +   | —                       | +               | +         | <i>Enterobacter aerogenes</i> |
| 18 | +   | —                       | +               | —         | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |

**Table 3.** Identification of 12 Group B (Table 1) Microorganisms by Biochemical Test Reactions

| No. of Isolates | Indole | Simmons' Citrate | Urease | H <sub>2</sub> S(KIA) | KCN | Phenylalanine Deaminase | Ornithine Decarboxylation | Micro-Organisms         |
|-----------------|--------|------------------|--------|-----------------------|-----|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 6               | +      | +                | +      | +                     | —   | +                       | —                         | <i>Proteus vulgaris</i> |
| 3               | +      | —                | +      | —                     | —   | +                       | +                         | <i>Proteus morgani</i>  |
| 3               | +      | +                | +      | —                     | —   | +                       | —                         | <i>Proteus rettgeri</i> |

**Table 4.** Identification of 7 Group C (Table 1) Microorganisms by Biochemical Test Reactions

| No. of Isolates | Nitrate Reduction | Motility | OF Reaction |         |         | Microorganisms     |
|-----------------|-------------------|----------|-------------|---------|---------|--------------------|
|                 |                   |          | Glucose     | Lactose | Sucrose |                    |
| 3               | +                 | +        | 0           | —       | —       | <i>Pseudomonas</i> |
| 4               | +                 | +        | —           | —       | —       | <i>Alcaligenes</i> |

**Table 5.** Number of Gram-Negative Bacilli Isolated from Bovine Udder Infections

| Microorganism                 | No. of Isolates | Percent |
|-------------------------------|-----------------|---------|
| <i>Escherichia coli</i>       | 81              | 54.7    |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 30              | 20.3    |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | 18              | 12.2    |
| <i>Proteus</i> spp.           | 12              | 8.1     |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 3               | 2.0     |
| <i>Alcaligenes faecalis</i>   | 4               | 2.7     |
| Total                         | 148             | 100.0   |

Table 6. Isolation of Gram-Negative Bacilli from 4 Quarters of Bovine Udders

| Quarter     | Isolates |       |
|-------------|----------|-------|
|             | No.      | %     |
| Right Front | 16       | 10.8  |
| Right Rear  | 61       | 41.2  |
| Left Front  | 21       | 14.2  |
| Left Rear   | 50       | 33.8  |
| Total       | 148      | 100.0 |

분방別 Gram 陰性桿菌의 分離率은 表 6에서 提示한 바와 같이 앞쪽 분방에서보다 뒷쪽 분방에서 다 같이 分離率이 높았으며 右後分房에서 61株(41.2%)가 分離되어 가장 높은 分離率을 보였다.

### 考 察

젖소의 Gram 陰性桿菌性 乳房感染症에 있어서 主要原因菌 및 原因菌들의 分布狀態를 알아보기 위해 泌乳中인 Holstein 6個牛群의 180餘頭를 對象으로 感染分房으로부터 148株를 分離하여 固定해 본 結果 *E. coli*가 81株(54.7%)로 가장 分離頻度가 높았다. 이와 같은 成績은 McDonald 등<sup>7)</sup>, Radostits<sup>10)</sup>와 Rowlands<sup>11)</sup>의 成績과는 一致된 所見이나 *E. aerogenes*가 主要原因菌이라고 報告한 Murphy 및 Hanson<sup>8)</sup>과 Schalm 및 Woods<sup>12)</sup>의 成績과는 相異하였다.

*Klebsiella-Enterobacter-Serratia* 感染症에 있어서 McDonald 등<sup>7)</sup>은 *Klebsiella*가 主要原因體임을 報告했고 한편 한牛群에서 Newman 및 Kowalski<sup>10)</sup>는 *Klebsiella* 그리고 김 및 김<sup>15)</sup>은 *Serratia*에 의한 急性流行性感染를 各各 報告한바 있으나 이 成績에서는 *Enterobacter*가 더 높은 分離率로 나타났고 *Serratia*는 分離되지 않았다. 또한 感染分房에서 *E. cloacae*만이 分離된 報告<sup>7)</sup>도 있으나 이 調査에서는 感染된 30個分房 全例에서 *E. aerogenes*만이 分離되었다.

*Pseudomonas aeruginosa*가 젖소 乳房感染症의 原因菌으로서 重要視되고 있으나<sup>4)</sup> 이 成績에서의 分離率을 보면 3例(2.0%)로서 分離된 Gram 陰性桿菌中에서 가장 낮은 分離率을 나타냈다. Schalm 등<sup>13)</sup>은 實驗的 *Ps. aeruginosa* 乳房炎에 있어서 採取한 乳汁材料의 直接塗抹培養에서 보다 37°C에서 24時間 培養한 乳汁에서 分離率이 越等히 높다고 하였으나 이 調査에서는 增菌培養은 실시하지 않았다.

이 調査에서 感染分房中에서는 *Alcaligenes faecalis*가 少數로 分離되기는 하였으나 이 菌은 好氣性이고 炭水化合物을 分解하지 않는 菌으로서 動物 및 사람의

乳房炎 外에 扁排腺炎, 化膿性皮膚炎, 腎臟炎, 膀胱炎 및 子宮筋層炎의 原因體로 重要한 役割을 하고 있음이 指摘<sup>3,14)</sup>되고 있어 주목을 끌고 있다.

流行性乳房感染症의 原因體調査, 病原學的研究 및 豫防對策에 있어서 原因菌의 根源과 乳房內에서 發育의 特徵 등을 糾明함은 무엇보다 重要하다 하겠다. 分房別 感染狀態에서 感染分房中 75.0%는 뒷쪽 分房이었고 原因菌으로서 coliforms가 지배적으로 많이 分離된 점은 泌尿 및 消化器管으로부터의 배설물에 基因된 感染의 機會가 많아진 것으로 추측된다.

coliforms는 또한 乳房炎의 臨床症勢를 나타냄이 없이 相當한 期間 동안 乳房內에 潜在해 있으면서 不顯性感染症을 惹起시키기도 한다.<sup>8,12)</sup> 이 成績은 急性性感染症例를 對象으로 하여 얻어진 것이며 顯症感染과 不顯性感染에서 原因菌의 分布 및 性狀에 對한 比較檢討는 앞으로 追究해 볼 必要가 있다고 생각된다.

### 結 論

젖소의 Gram 陰性桿菌性 乳房感染症의 主要原因菌 및 原因菌의 分布狀態를 알아보기 위해 泌乳中인 Holstein 6個牛群 180餘頭를 對象으로 2年間 感染分房으로부터 148株를 分離하였다.

分離菌中 *Escherichia coli*가 81株(54.7%)로 가장 分離率이 높았고 *Enterobacter aerogenes*는 30株(20.3%)였으며 *Enterobacter cloacae*는 分離되지 않았다. 나머지 分離菌들은 *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Alcaligenes faecalis*였다. 分離菌의 大部分은(75.0%) 뒷쪽 分房에서 分離되었다.

### 參 考 文 獻

1. Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E.: Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore (1974) p. 217-275.
2. Edwards, P.R. and Ewing, W.H.: Identification of Enterobacteriaceae. 3rd ed., Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minn. (1972)
3. Hennessey, P.W., Kohn, F.S., Bickford, S.M. and Loy, J.I.: *in vitro* Activity of gentamicin against bacteria isolated from domestic animals. Vet. Med. (1971) 66:1118.
4. Kruijning van, H.J.: Successful treatment of a herd outbreak of *Pseudomonas* mastitis. Cornell Vet. (1963) 53:240.
5. McDonald, J.S.: Prevention of intramammary

- infections by milking time hygiene. Am. J. Vet. Res. (1970) 31:233.
6. McDonald, J.S. and Packer, R.A.: Incidence of intramammary infections during lactation in dairy cattle repeatedly exposed to *Streptococcus agalactiae* and *Aerobacter aerogenes*. Am. J. Vet. Res. (1968) 29:1525.
  7. McDonald, T.J., McDonald, J.S. and Rose, D.L.: Aerobic Gram-negative rods isolated from bovine udder infections. Am. J. Vet. Res. (1970) 31:1937.
  8. Murphy, J.M. and Hanson, J.J.: Infection of the bovine udder with coliform bacteria. Cornell Vet. (1943) 33:61.
  9. Newman, L.E. and Kowalski, J.J.: Fresh sawdust bedding—a possible source of *Klebsiella organisms*. Am. J. Vet. Res. (1973) 34:979.
  10. Radostits, O.M.: Coliform mastitis in cattle. Canad. Vet. J. (1961) 2:401.
  11. Rowlands, A.: The udder as a possible source of coliform organisms in milk. J. Hyg. (1939) 39:454.
  12. Schalm, O.W. and Woods, G.M.: Characteristics of coliform mastitis and treatment with dihydrostreptomycin. J.A.V.M.A. (1952) 120:385.
  13. Schalm, O.W., Lasmanis, J. and Carroll, E.J.: Experimental *Pseudomonas aeruginosa* mastitis in cattle. Am. J. Vet. Res. (1967) 28:697.
  14. Washington II, J.A.: Antimicrobial susceptibility of enterobacteriaceae and nonfermenting Gram negative bacilli. Mayo Clin. Proc. (1969) 44:811.
  15. 김태중, 김봉환: 급성 유방염에 걸린 젖소의 유즙에서 분리한 *Serratia marcescens*의 생화학적 특성 및 약제 감수성. 韓國獸醫公衆保健學會誌 (1979) 3:15.
  16. 金烘殊, 洪淳國, 蘇景宅, 韓弘栗: 忠南地域 乳牛乳房炎의 感染率 및 原因率 및 原因菌에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1974) 14:91.
  17. 羅鎮洙, 康炳奎: 全南地域 乳牛乳房炎의 疫學的 調查研究, 1. 原乳中の 細菌數 및 乳房炎檢診. 大韓獸醫學會誌 (1975) 15:83.
  18. 손봉환, 김효민, 정홍환, 김수경: 京畿道地域의 乳牛乳房炎에 關한 調查, 1. 乳房炎의 疫學的 調查. 大韓獸醫學會誌 (1974) 14:99.
  19. 송기홍, 조중현, 홍순종: 경기도 지역의 유유유방염에 관한 조사, 3. 한수이남지방의 젖소 유방염 발생실태. 大韓獸醫學會誌 (1975) 15:109.
  20. 鄭昌國, 韓弘栗, 鄭吉澤: 우리 나라 젖소 乳房炎 原因菌의 疫學的 調查 및 治療에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1970) 10:39.
  21. 鄭宗植, 趙聲煥, 趙鏞煥, 朴清圭: 젖소 乳房源 病原細菌의 抗生物質에 對한 感受性. 大韓獸醫學會誌 (1979) 19:75.

## Gram-Negative Bacilli Isolated from Bovine Udder Infections

Cheong Kyu Park, D.V.M., M.S.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongbuk National University*

### Abstract

In order to know the main causative agent and distribution of the agents in Gram-negative bacillus infections of bovine udders, one hundred and forty-eight cultures of Gram-negative bacilli isolated from clinical cases of mastitis during lactation over a period of 2 years in 6 herds of 180 Holstein cows were studied.

*Escherichia coli* occupied 54.7% of the isolates was the most frequently isolated Gram-negative bacillus. 30 of the isolates (20.3%) were *Enterobacter aerogenes*, but *Enterobacter cloacae* was not isolated. Remaining isolates were *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and *Alcaligenes faecalis*. Most of the isolates (75.0%) were isolated from rear quarters.