

Candida krusei에 의한 乳牛乳房炎

呂 相 建 · 崔 源 弼

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

乳牛의 諸疾病 中에서도 特히 乳房炎은 끊임없이 發生하고 있으며 乳量減少와 乳質의 低下 및 그 治療에 막대한 노력과 經濟的 損失을 가져오고 있을뿐만 아니라 재발의 가능성이 항상 내포되고 있어서 乳牛乳房炎의 근절이 어렵다는 것은 주지의 사실이다.

일반적으로 알려져 있는 細菌性乳房炎의 原因菌으로서 *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium pyogenes* 및 *Corynebacterium bovis* 등이 있고 기타 數種의 微生物이 알려져 있으며¹⁾ 이들에 의한 乳房炎의 治療目的으로 여러 가지의 抗生物質이 사용되고 있다.

근년에 있어서는 抗生物質의 남용과 또한 축주들의 독자적인 抗生物質 사용 및 오용에 의하여 各種 耐性菌이 출현하게 되어서 治療의 어려움이 증가되고 있으며 特히 抗生物質의 광범위한 사용에 基因한 菌交代現象으로 乳房內에서의 真菌의 選擇의 成長과 이에 의한 牛乳房炎 原因菌으로서의 真菌이 가지는 비중이 크다고 생각된다.

우리 나라에서도 各種 病原菌에 의한 牛乳房炎이 발생되고 있으며 이에 대하여 여러 가지 측면에서 많은 연구가 행하여지고 있으나 아직 예상되어지는 真菌性乳房炎의 菌分離報告는 全無하여 發生有無조차 파악되지 않은 실정이다. 이에 著者들이 慶北 慶山郡 某乳牛牧場에서 발생한 酵母樣真菌에 의한 乳房炎 1例로부터 그 原因菌의 分離同定, 경과에 따른 乳汁의 性狀檢査와 治療試驗 및 糞便 中の 原因菌의 分離狀況을 조사 보고코자 한다.

材料 및 方法

患畜: 慶北 慶山郡 某乳牛牧場에서 飼育중인 Holstein 種 乳牛로서 4産의 經歷을 가졌으며 分娩直後부터 右前後分房의 腫脹, 硬結, 熱感, 疼痛을 나타내었고 그 때부터 20여일간 1日 1回 各分房內로 streptomycin(1g), hostacilin(400萬 units), prednisolone(200mg), gentamycin(800mg) 및 ampicillin(500mg)을 注入한 治療

經歷을 가졌으나 그후 100여일이 경과한 후 이 實驗에 公시할 때까지도 中等도의 乳房炎症狀을 보이고 있었다.

供試材料: 1979年 11월부터 1980年 2월까지 6회에 걸쳐 各分房乳汁와 糞을 채취하였다. 乳汁는 70% 알코올로 乳頭를 소독하고 2~3回 짜낸 후 50ml씩 滅菌用器에 無菌的으로 취하였고 糞은 滅菌綿棒으로 直腸內의 宿糞을 취하였으며 동시에 牛體溫을 측정하였다.

乳牛의 理化學的 檢査: 各分房乳汁에 對하여 California mastitis test(CM反應)와 육안적인 性상을 관찰하였고 Breed^{5),17)}法에 의하여 細胞數를, pH meter로써 乳汁의 pH를 측정하였다.

培養: 各分房乳汁을 sabouraud's dextrose agar (SDA), chloramphenicol 加 SDA(CSA) 및 5% 綿羊血液 加 blood agar(BA)에 0.1ml씩 塗沫하여 37°C에서 SDA와 CSA는 5日간, BA는 2日간 培養하였으며 直腸糞은 SDA와 CSA로 乳汁에서와 동일한 방법으로 培養하였고 乳汁中の 菌數는 SDA 및 BA에서 發育한 集落數²⁰⁾로 계산하였다.

菌의 生物化學的 性狀檢査 및 同定: Larone⁹⁾, Conant⁴⁾ 등, Wolf¹¹⁾ 등의 方法에 準하여 分離菌에 대한 形態學的, 生物學的 및 生化學的 性狀을 檢査하였다.

治療試驗: 各分房에 nystatin (商品名: mycostatin, 동아제약)을 투여하고 그 효과를 관찰하였다.

結 果

臨床型乳房炎이 발생한 乳牛 1頭에 대하여 乳汁의 理化學的 檢査를 실시한 결과는 表 1과 같다.

臨床型乳房炎의 症勢를 보인 右前後分房은 硬結, 腫脹등이 인정되었고 乳汁에서는 가끔 黃白色의 응괴가 함유되어 있었으며 體溫의 변동은 인정치 못하였다.

乳房炎의 경과에 따른 4分房別 乳汁의 CM反應, 細胞數 및 pH의 변동을 보면 總 6回의 材料採取期間 중 第 5回까지에서, 臨床症狀을 나타내었던 右側後 分房 乳汁은 CM反應 ++~+++이었고 細胞數 50萬 이상이었으며 pH는 右前分房이 6.6, 右後分房이 6.2~6.7이었다. 한편 臨床症狀를 보이지 않았던 左前後分房乳汁은 CM反應 -~+이었고 細胞數는 CM反應 +에서는 50

Table 1. Characteristics of Each Quarter Milk

Date	CMT				No. of Somatic Cell*				pH of Milk			
	RF	RR	LF	LR	RF	RR	LF	LR	RF	RR	LF	LR
1979. 11. 24.	##	##	+	+	<500	<500	<500	<500
1968. 1. 4.	##	##	+	-	<500	<500	<500	>500	6.6	6.2	6.4	6.5
1980. 1. 12.	##	##	-	-	<500	<500	>500	>500	6.6	6.5	6.5	6.5
1980. 1. 28.	##	##	-	-	<500	<500	>500	>500	6.6	6.7	6.5	6.5
1980. 1. 31.	##	##	-	-	<500	<500	>500	>500	6.6	6.5	6.6	6.5
1980. 2. 6.	-	-	-	-	>500	>500	>500	>500	6.5	6.3	6.4	6.3

RF: Right front, LF: Left front, RR: Right rear, LR: Left rear

*: Cell count(thousands/ml)

萬以上이었고 CM反應 -에서는 50萬 이하 이었으며 pH는 6.3~6.6이었다.

乳汁과 直腸糞에서의 原因菌分離에는 SDA, CSA 및 BA를 사용하였으며 各培地에 乳汁 0.1ml씩을 培養한 결과 培養 1~3일에 SDA에서 肉眼的으로 단일한 酵母樣集落이 발육하였고(集落數 6~427/乳汁 0.1ml) CSA에서도 이와 同様の 集落이 관찰되었으며 그 형태는 乳白色 혹은 黃白色으로 용기하였고 표면이 乾燥, 平滑하였으며 中心部는 點狀이고 周邊部는 菌絲가 分枝하는 모양과 비슷하였으며(사진 1) cotton blue 染色 후의 鏡檢에서 크기가 큰 球形, 卵形 및 소서지型의 分芽胞子와 긴 偽菌絲를 볼수 있었다. 直腸糞을 SDA와 CSA에 培養한 것에서도 상기 乳汁에서와 同様の 酵母樣集落이 인정되었고 기타 數種의 細菌의 發育도 인정되었다. 乳汁을 BA에 培養한 것에서는 肉眼的으로 灰白色의 광택이 있고 습윤하여 *Staphylococcus* sp.와 類似的한 集落이 발육하였으나 Gram 染色 후의 鏡檢에서 SDA 및 CSA에서의 分離株와 형태적으로 동일한 酵母樣眞菌 및 *Staphylococcus* sp.(集落數 3~5/乳汁 0.1ml)

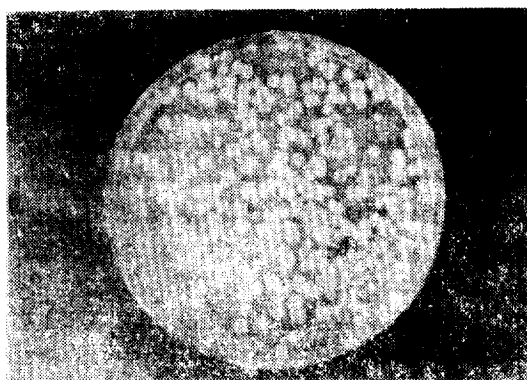


Fig. 1. Colonies cultured on SDA medium at 37°C, 3 days; cream-colored, raised, dry, smooth and developing a xycelial fringe.

가 분리되었다.

供試材料 採取日別로 乳汁과 直腸糞에서의 分離菌株와 乳汁 0.1ml當 發育集落數를 보면 表 2에서와 같이 總 6回中에서 右前分房乳汁에서는 第 1回에 *Staphylo-*

Table 2. Strains Isolated from Each Quarter Milk and Feces

Date	Strains Isolated				
	RF	RR	LF	LR	Feces
1979. 11. 24.	S (5)	Y (427)	Y (15)	Y (15)	Y, B
1980. 1. 4.	-	Y (407)	Y (9) S (3)	S (5)	B
1980. 1. 12.	-	Y (263)	Y (8)	-	B
1980. 1. 28.	Y (8)	Y (<500)	Y (6)	-	Y, B
1980. 1. 31.	-	Y (3)	-	-	B
1980. 2. 6.	-	-	-	-	Y, B

RF: Right front, LF: Left front, RR: Right rear, LR: Left rear,

Y: Yeast-like fungi(*Candida krusei*), S: *Staphylococcus* sp., B: Other bacterials,

-: No growth, (): Number of colony/0.1ml of milk

Table 3. Characteristics of Yeast-like Fungi Isolated from Quarter Milk and Feces

Isolates	Microscopic Morphology on Cornmeal Agar at 25°C, 4 Days	Fermentation				Growth in SDB at 37°C 2 Days	Growth at 25°C with Cycloheximide	Germ Tube
		Dex.	Mal.	Suc.	Lac.			
14 Strains	Pseudomycelia with Round (2-3 μ), Oval (2.5-4 \times 5-6.5 μ) and elongate (2.5-4 \times 7.5-10.5 μ) Blastospores Forming a Tree-like Appearance	AG	—	—	—	Wide Surface Film (7-10mm) Upside of Tube	—	—

Dex. Dextrose, Mal.: Maltose, Suc.: Sucrose, Lac.: Lactose,
AG: Acid and gas, —: Negative

ccus sp. 5개, 第4회에 酵母樣眞菌이 8개가 발육하였고 右後分房乳汁에서는 第1回부터 第5회까지 지속적으로 酵母樣眞菌이 427, 407, 263, <500, 3개가 발육하였다. 左前分房乳汁에서는 第1回부터 第4회까지 酵母樣眞菌이 15, 9, 8, 6개이었으며 第2회에는 *Staphylococcus* sp. 3개가 동시에 발육하였고 左後分房乳汁에서는 第1회에 酵母樣眞菌 15개가, 第2회에 *Staphylococcus* sp. 5개가 발육하였다. 直腸糞에서는 第1, 4, 6회에 酵母樣眞菌과 기타 細菌들이 發育하였고 第2, 3, 5회에는 酵母樣眞菌이 아닌 기타 細菌들만 발육하였다.

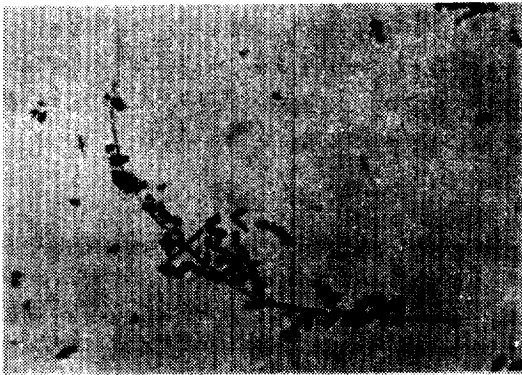


Fig. 2. Pseudomycelia with round(2-3 μ), oval (2.5-4 \times 5-6.5 μ) and elongate(2.5-4 \times 7.5-10.5 μ) blastospores formed a tree-like appearance \times 400.

SDA, CSA 및 BA에서 分離되었던 酵母樣眞菌 總14株의 形態學的 및 生物化學的 性狀은 表 3과 같다.

Cornmeal agar에서 slide 培養한 菌을 cotton blue 染色한 후의 鏡檢所見에서 球形(2~3 μ), 卵形(2.5~4 \times 5~6.5 μ) 및 소시지型(2.5~4 \times 7.5~10.5 μ)의 分芽胞子가 보였고 이들은 긴 偽菌絲를 따라 부착되거나 흩어져서 樹枝狀을 나타내었다(사진 2). 分離菌株는 모두 germ tube 形成陰性, cycloheximide 加 SDA 25°C 2日 培養 陰性이었고 Sabouraud's dextrose broth

(SDB) 37°C 2日培養에서 培地面의 상부에 白色의 넓은 膜(wide surface film; 7~10mm)을 형성하였으며 (사진 3) 糖分解性狀은 maltose, sucrose, lactose는 分解하지 않았으나 dextrose만은 分解하여 酸과 gas를 產生하였다. 이와 같은 成績에서 볼 때 분리된 總14株의 酵母樣眞菌은 *Candida krusei*와 일치하였다.

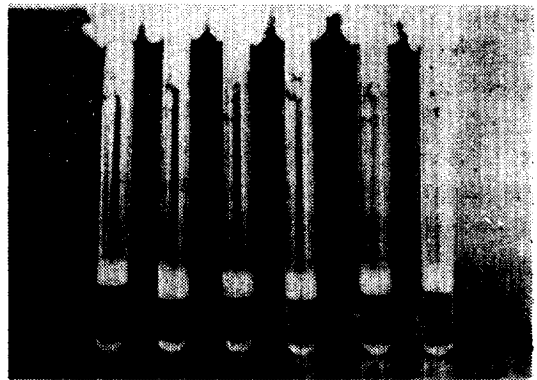


Fig. 3. Wide surface film(7-10mm) formed upside of tube cultured with isolates.

乳房炎起炎菌으로서의 *Candida krusei*에 대한 抗眞菌性物質의 治療效果를 알기 위하여 第4회 材料採取 후 12時間 間격으로 3회에 걸쳐 各分房內로 nystatin을 2ml(100,000 units/ml)씩 주입하였던 결과 最終注入 후 1일에 乳汁과 直腸糞의 培養에서 右後分房에서만 眞菌의 集落 3개가 발육하였고, 臨床症狀을 나타내었던 右前後分房은 아직 CM反應 +, 細胞數 50萬以上이었으나 그 1週日 후의 再檢에서는 CM反應, 細胞數 및 菌分離가 모두 陰轉되었던 반면 直腸糞에서는 계속 이 眞菌이 분리되었다.

考 察

抗生物質의 개발에 의하여 여러 가지 주요한 疾病의 治療效果가 향상되고 있으나 抗生物質의 계속사용 또는 남용에 의한 菌交代現象으로 인하여 耐性菌 혹은 感受

성이 없는 眞菌이 출현한다고 생각되어지고 있으며 이에 의한 眞菌의 만연이 문제시되고 있다.^{18,19)}

우리 나라에서도 최근 가축에서의 眞菌症이 증가되고 있을 것으로 사료되나 1969年 金 및 崔¹²⁾가 보고한 닭의 呼吸器의 aspergillosis와 崔 등¹⁴⁾이 보고한 韓牛에서의 白癬菌症 및 崔¹⁵⁾가 보고한 猫의 白癬菌症 등이며 乳房炎에서는 鄭 등¹³⁾이 2個分房에 소 균종미상인 yeast를 증명한 것 뿐이며 眞菌性乳房炎에 관한 眞菌의 分離同定 및 治療試驗 등 상세한 보고는 全無한 실정이다.

眞菌性乳房炎은 1934年 Rolle⁸⁾에 의하여 최초로 보고 되었으며 일반적으로 알려져 있는 眞菌性乳房炎의 原因菌은 *Candida* sp., *Cryptococcus neoformans*, *Nocardia* sp., *Saccharomyces* sp. 및 *Torulopsis* sp. 등이다.¹⁾

이 實驗에서 1979年 11월부터 1980年 2월까지 總6回 동안의 乳汁의 理化學的 檢査와 菌分離培養의 結果를 보면 藥劑投與前까지 臨床症狀를 나타내었던 右前後分乳房乳汁은 지속적으로 CM反應 卍~卍이었고 細胞數도 乳汁 1ml當 50萬 以上이었으며 乳汁 0.1ml當 菌數는 右後分房에서는 酵母樣眞菌만 各回 427, 407, 263, 500 개 以上の 集落이 발육하여 酵母樣眞菌에 의한 重感染임을 알수 있었다. 그러나 右前分房에서는 第1回에 *Staphylococcus* sp. 5개, 第4回에 酵母樣眞菌 8개 集落으로서 菌의 感染이 미약하였으나 乳房炎의 소견을 나타내고 있는 것은 乳房炎感染牛에서 完治 후에도 菌의 感染없이 細胞數가 50萬~75萬인 경우가 있고⁹⁾ CM反應 陽性的 分房乳汁에서 菌分離 陰性일 수 있다²⁾는 보고와 관련지어 생각할 수 있겠다.

한편 臨床症狀를 보이지 않았던 左前後分房은 전 結果를 통하여 CM反應도와 細胞數 및 菌分離狀態가 경미하였던 짐은 乳管感染¹⁾(teat canal infection)에 의한 것으로 생각된다. 乳房炎에 있어서 乳汁의 細胞數와 pH의 관련성에 대하여 高桑 등¹⁸⁾은 *Candida albicans* 感染時에 臨床症狀가 있고 細胞數가 乳房炎值이며 多數의 菌이 分離될때 6.9~7.2, 臨床症狀가 없고 細胞數가 乳房炎值이나 菌分離가 없을때 6.6~6.8, 正常乳는 6.4~6.6이라 보고 하였으며 久米 등¹⁶⁾은 細菌性乳房炎時에 臨床型發症分房에서 細胞數와 pH는 동시에 상승하나 菌數와 pH는 반드시 비례하지는 않는다고 보고하고 있으나 이 예에서는 臨床症狀 유무, 細胞數, 菌數의 차이에 따라 pH는 큰 변동을 인정치 못하였다. 이는 高桑 등¹⁸⁾의 성격과 약간의 차이가 인정되고 있으나 앞으로 더 많은 예를 통하여 고찰되어져야 할것 같다.

乳汁 및 直腸糞에서 분리된 總14株의 酵母樣眞菌은

集落의 形態, slide 培養에서의 顯微鏡所見 및 生物化學的 性狀 등이 Larone⁹⁾, Conant 등⁴⁾의 *Candida krusei* 所見과 일치하였다.

한편 本症의 治療試驗으로 第4回 材料採取 후 12時間간격으로 3회에 걸쳐 nystatin 그 2ml(100,000 units/ml)씩 各分房內로 주입한 結果 最終注入 후 1日에 右後分房에서 이 菌의 集落 3개가 발육하였고 그의 分房에서는 菌分離 陰性이었으나 臨床症狀를 나타내었던 右前後分房은 아직 CM反應 卍, 細胞數 50萬 以上이었는데 이것은 乳房의 손상이 완전히 회복되지 않았기 때문인 것으로 생각되며 그후 1週日에는 臨床症狀가 消失되었고 乳汁은 CM反應, 細胞數 및 菌分離가 모두 陰轉하였으나 直腸糞에서는 이 菌이 계속 分離되었다. *Candida* sp.는 各種動物의 腸內에서 分離되고 있으며^{3,7,10)} 正常牛와 乳房炎牛의 糞에서도 상당히 分離되고 있을뿐만 아니라 酵母樣眞菌이 糞으로부터 乳房內로 침입할 수 있다는 점²⁰⁾ 등으로 보아 糞이 眞菌性乳房炎의 主要한 汚染源이 되고 있다고 생각된다.

이상에서와 같이 供試牛의 乳房炎은 초기에 축주가 임의로 抗生物質을 투여한 후 公시된 것이므로 *Candida krusei*가 일차적 起炎菌인지 2次的인 選擇의 成長에 의한 것인지 확실하지는 않지만 발병 후 120여일이 경과한 뒤에도 臨床症勢가 계속되었으며 乳汁에서 많은 *Candida krusei*가 계속적으로 분리되었고 抗眞菌性 物質로서 완치된 점 등으로 생각할때 이 乳房炎의 起炎菌은 *Candida krusei*이라고 사료된다.

結 論

慶北 慶山郡 乳牛牧場에서 臨床型乳房炎으로 20여일간 抗生物質의 治療를 받은바 있으나 120일이 경과한 뒤에도 계속하여 臨床症狀를 나타내었던 乳房炎 1例에 대하여 原因菌의 同定 및 菌의 分離狀況과 治療試驗을 실시한 結果는 다음과 같다.

乳汁 및 糞에서 *Candida krusei*가 分離되었고 抗眞菌性物質(nystatin)의 乳房內注入으로 治療效果가 인정되었다.

이상에서와 같이 本例의 乳房炎은 *Candida krusei*에 기인된 것이었으며 앞으로의 乳房炎治療에 있어서는 眞菌性乳房炎에 관한 고려가 있어야겠다.

參 考 文 獻

1. Blood, D.C. and Henderson, J.A.: Veterinary medicine. 4 ed., The William and Wilkins Co., Baltimore (1974) p.257.
2. Braund, D.G. and Schultz, L.H.: Physiological

- and environment factors affecting the california mastitis test under field conditions. J. Dairy Sci. (1963) 46:197.
3. Clarke, R.T.J.: Rumen *Candida* species and bovine mastitis. N.Z. Vet. (1960) 8:79.
 4. Conant, N.F., Smith, D.T., Baker, R.D. and Callaway, J.L.: Manual of clinical mycology. 3 ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia (1971) p. 325-364.
 5. Harrigan, W.F. and McCane, M.E.: Laboratory methods in food and dairy microbiology, Academic Press Inc. Ltd., London (1976) p. 40-42.
 - 6) Larone, D.H.: Medically important fungi, A guide to identification, Harper and Row Publishers, Hagerstown (1976) p. 35-50.
 7. Parle, J.N.: J. Gen. Microbiol. (1957) 17:363 (cited from reference No. 17)
 8. Rolle, M.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. (1934) 42: 385. (cited from Shibata, S., The Veterinary World (1964) 74:1.)
 9. Schultz, L.H.: Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. J.A.V.M.A. (1977) 10(2):1244.
 - 10) Uden, N., Van, Do Karmo Sousa, L. and Farinha, M.: J. Gen. Microbiol. (1958) 19:435. (cited from reference No. 17)
 11. Wolf, P.W., Russell, B. and Shimoda, A.: Practical clinical microbiology and mycology: Techniques and interpretations. John Wiley and Sons, New York (1975) p. 350-368.
 12. 金和植, 崔源弼: 初生離에 發生한 Aspergillosis 大韓獸醫學會誌 (1969) 9(1):79.
 - 13) 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 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1970) 10(1):39.
 14. 崔源弼, 呂相建, 李鉉凡: 韓牛에 集團發生한 白癬菌症에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1979) 19:149.
 15. 崔源弼: 猫의 白癬菌症에 관한 研究. 慶北大學校 論文集 (1979) 28:337.
 16. 久米常夫, 平棟考志, 村瀬信雄: 牛の臨床型および 潜在性乳房炎乳汁の細菌叢. 日本家畜衛生試驗研究 報告 (1970) 61:29.
 17. 近藤正一, 河島俊一: 獸醫衛生細菌實習. 株式會社 東京プレス, 東京 (1960) p. 260.
 18. 高桑一雄, 池本安夫, 杉村崇明, 金城俊夫: *Candida albicans* による牛乳房炎について. 日本獸醫師會雜誌 (1966) 19:100.
 - 19) 大越 伸, 長谷川篤彦: 家畜の Ringworm について. 日本獸醫師雜誌 (1966) 19:513.
 - 20) 雨宮淳三, 田代哲之: 鹿兒島における乳牛の乳並びに 糞よりの酵母の分離について. 鹿兒島大農學部學 術報告 (1978) 28:113.

A Case of Bovine Mastitis Caused by *Candida krusei*

Sang Geon Yeo, D.V.M., M.S. and Won Pil Choi, D.V.M., M.S., Ph.D.

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

Abstract

This experiment was undertaken to determine the causative agent of bovine mastitis induced by yeast-like fungi and to know its therapeutic effect.

California mastitis test, somatic cell counting and pH titration as well as cultural examination were performed continuously for the quarter milk and the feces obtained from the diseased cattle from November, 1979 to February, 1980.

As a result, the causative agent was identified as *Candida krusei* and intramammary infusion of Nystatin was effective in the udder. *Candida krusei* was isolated from the feces.