

도태 유우의 유선조직에서 분리된 세균의 항균제 감수성

김혜라 · 이정치 · 김상기 · 윤병철** · 서계원** · 이정길 · 이채용¹

전남대학교 수의과대학

*서정대학 애완동물과

**광주광역시 보건환경연구원

Antimicrobial Susceptibility of Causative Agents of Mastitis Isolated from Mammary Glandular Tissues of Slaughtered Holstein Cows

Hye-ra Kim, Jeong-chi Lee*, Sang-ki Kim, Byeong-cheol Yoon**, Kye-won Seo**, Chung-gil Lee and Chai-yong Lee¹

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

*Department of veterinary nurse and pets science, Seojeong College

**Gwangju City Health & Environment Research Institute

Abstract : Causative agents of mastitis were isolated from glandular tissues of 101 culled Holstein cow udders and tested with antimicrobials by standardized disc diffusion method. Pathogens most commonly isolated were coagulase-negative staphylococci (43.9%) and streptococci (21.4%). Most of the udders (88.5%) showed mixed infections with more than two species of bacteria. Antimicrobial sensitivity tests revealed that 90.0% and 84.5% of the isolated organisms were susceptible to amoxicillin and gentamicin, while most organisms were resistant to erythromycin. Coliforms were resistant to ampicillin, cephalothin, cefazolin, erythromycin, kanamycin, neomycin, penicillin and tetracycline and streptococci to erythromycin, kanamycin, neomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole and tetracycline.

Key words : Holstein cows, mammary glandular tissue, bacterial, antimicrobial sensitivity

서 론

유방염은 원유의 품질을 결정하는 데 커다란 영향을 미치고 있으며 세계적으로 젖소질병 중 가장 큰 경제적 손실을 초래하고 있다. 미국의 경우 유방염이 도태의 원발성 원인인 경우가 도태되는 소의 15%로 보고되었고⁶ 국내에서도 20두 사육 1일 20 kg/두 착유 목장에서 체세포수가 1,000,000 cell/ml 이상인 경우, 착유 시 매년 약 1,000만원 이상의 손실을 가져온다고 하였다²¹.

유방염을 일으키는 중요한 원인균에는 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, 환경에서 유래한 streptococci, 장내세균, coagulase-negative staphylococci (CNS), *Staphylococcus hyicus*, *Corynebacterium bovis* 등이 있다⁸. 유방염 원인체의 종류는 많으나 그 중에서 staphylococci와 streptococci에 의한 감염률이 매우 높은 것으로 알려져 왔으며, 최근에는 원인균의 분포가 더욱 다양화되고 있는 추세이다³. 이를 원인체들은 혈행을 통해서나 피부

를 통하여 감염을 일으킬 수도 있지만 주 감염경로는 길이 약 1 cm의 각질화된 중충편평상피로 이루어진 유두관이다¹⁰.

지금까지의 주요 유방염 원인균에 대한 보고는 감염분방에서 채취된 유즙을 대상으로 실시한 검사 결과가 대부분이고 유선조직에서 직접 원인균을 분리한 보고는 찾아보기 어려우며²², 또한 외국의 경우도 유선조직에서 직접 원인균을 분리한 문헌은 드문 설정이다.

이러한 설정을 감안하여 이 연구에서는 유방염을 일으키는 감염성 인자들의 변화의 추이를 파악하여 유방염의 예방 및 치료를 위한 기초자료를 얻기 위하여 도태 유우의 유선조직에서 원인균을 분리하여 약제감수성 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

재료의 채취

2000년 10월부터 12월까지 광주근교 도축장에서 도축된 유우 101두에서 유방 정중제인대를 중심으로 외측제인대부에서부터 현수 장치를 조심스럽게 분리 적출하여 위생팩에 넣은 뒤 아이스박스를 이용하여 실험실로 운반하였다. 운반된 유방은 먼저 육안적 병변을 조사하기 위하여 외관을 검사하였다²³. 이어서 피부를 벗겨내고 유선조직을 약 2 cm 간격으로 자르면서 병변의 유무를 육안적으로 관찰하였고, 관

¹Corresponding author.

E-mail : cylee@chonnam.ac.kr

본 연구는 농림부 농림기술개발사업 (과제번호 199067-3)의 지원에 의해 이루어진 것임.

찰된 병변의 가장 심한 부위에서 세균학적 검사를 위한 재료를 채취하였다.

유선조직의 미생물학적 검사

채취한 재료는 멸균 트레이에 놓은 뒤 멸균된 가위와 포셉으로 조심스럽게 재료의 표면 부위를 떼어내고 나머지 부분을 스토마커백 (Seward, USA)에 담았다. 이어서 멸균 PBS를 가하여 10회 정도 좌우로 잘 흔든 다음 스토마커(Seward, USA)로 5분 정도 분쇄하였다. 스토마커백 내에 추출된 유선조직액에 멸균 면봉을 적셔 5% 면양혈액이 침가된 혈액한천 배지에 도말하였다. 유선조직액이 도말된 배지는 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후 형성된 집락의 형태에 따라 새로운 배지에 계대 배양하였다. 순수배양된 집락은 집락의 성상 및 용혈성의 유무를 기록하고 그람 염색과 catalase, oxidase 시험을 통하여 그람양성 간균, 그람양성 구균, 그람음성 간균, 그람음성 구균으로 1차 분류한 뒤 coagulase, MacConkey agar, motility, salicin, trehalose, Voges-Proskauer 시험, Oxidation-Fermentation 시험 및 당분해 시험 및 균동정기 (BBL Crystal™, USA)를 이용하여 동정하였다.

항생제감수성 시험

분리된 각각의 세균에 대한 항균제 감수성 검사는 Kirby-Bauer 디스크 확산법¹을 이용하여 실시하였다. 분리균을 BHI에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 후, Mueller-Hinton 한천배지에 멸균 면봉으로 도말하여 24시간 배양한 다음 억제대의 크기를 판독하였다. 항균제 감수성 검사에는 Sensi-Disc™ (BBL, USA)로 amoxicillin, ampicillin, cephalothin, cefazolin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, penicillin, norfloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazol (SXT), tetracyclin, neomycin, enrofloxacin 등 13종의 항균제를 사용하였으며, 결과의 판독은 항균제 디스크 제작회사의 판정기준에 따라 감수성, 중등도, 내성을 3단계로 구분하였다.

결 과

총 101두의 도태 유우 중 93두의 유선조직에서 분리된 원인균의 분포와 중복감염 양상을 Table 1에 요약하였다. 분리동정된 균은 총 262주었으며, 그 중 coagulase-negative staphylococci (CNS)가 43.9%로 가장 높은 분리빈도를 나타냈고, 그 다음은 streptococci (21.4%)이었다. 그리고 *Corynebacterium* spp. (9.9%), coliform (9.1%), *Micrococcus* spp. (6.9%) 그리고 *S. aureus* (1.1%) 순으로 분리되었다. 또한 감염양상을 보면 이중감염이 35.1%로 가장 많았고 그 다음으로 삼중감염 (33.6%), 사중 이상의 복합감염 (19.8%) 그리고 단독감염 (11.5%) 순이었다.

분리균에 대한 항생제감수성 시험 결과는 Table 2에 나타내었다. CNS에 대해 감수성 있는 항생제는 amoxicillin (92.1%)과 gentamicin (90.1%)이었고 streptococci는 amoxicillin (97.9%)에 높은 감수성을 보였다. *Corynebacterium* spp.는 cefazolin과 gentamicin에 94.7%로 높은 감수성을 보였고, coliform은 gentamicin (88.9%)에 비교적 높은 감수성을 보였다. *S. aureus*에 높은 감수성을 나타낸 항생제는 amoxicillin, cephalothin, cefazolin, enrofloxacin, gentamicin, kanamycin, norfloxacin 그리고 SXT 등이었다. 그러나 13가지 항균제중에서 coliform은 8가지 약제 (ampicillin, cephalothin, cefazolin, erythromycin, kanamycin, neomycin, penicillin, tetracycline)에 그리고 streptococci에서는 5가지 약제 (erythromycin, kanamycin, neomycin, SXT, tetracycline)에 다양제 내성을 나타냈다.

전체 분리균에 감수성을 나타낸 항생제는 amoxicillin (90.0%)과 gentamicin (84.5%)이었고 내성을 보인 항생제는 erythromycin이었다.

고 찰

이 연구에서는 도태 젖소의 유선조직에서 균을 분리하고

Table 1. Bacterial isolates from the glandular tissues of 101 slaughtered Holstein cow udders

Microorganisms	No. of isolates (%)	No. of multiple infections (%)			
		single	double	triple	quadruple
coagulase-negative staphylococci	115 (43.9)	17 (14.8)	42 (36.5)	41 (35.7)	15 (13.0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 (1.1)	1 (33.3)	1 (33.3)	0 (0.0)	1 (33.3)
Other staphylococci*	18 (6.9)	2 (11.1)	3 (16.7)	6 (33.3)	7 (38.9)
Streptococci	56 (21.4)	6 (10.7)	28 (50.0)	16 (28.6)	6 (10.7)
<i>Corynebacterium</i> spp.	26 (9.9)	4 (15.4)	4 (15.4)	9 (34.6)	9 (34.6)
Coliforms	24 (9.1)	0 (0.0)	10 (41.7)	5 (20.8)	9 (37.5)
<i>Micrococcus</i> spp.	18 (6.9)	0 (0.0)	4 (22.2)	9 (50.0)	5 (27.8)
<i>Bacillus</i> spp.	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)
<i>Enterococcus</i> spp.	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)
Total	262 (100.0)	30 (11.5)	92 (35.1)	88 (33.6)	52 (19.8)

* *Staphylococcus hyicus* (17), *Staphylococcus intermedius* (1).

Table 2. Susceptibility of microorganisms isolated from Holstein cow udders to 13 different antibiotics

Microorganism	No. of isolates	No. of susceptible isolates (%)												
		AM	AMC	CF	CZ	E	ENO	GM	K	N	NOR	P	SXT	Te
Coagulase-negative staphylococci	101	66 (65.3)	93 (92.1)	86 (85.1)	85 (84.2)	46 (45.5)	81 (80.2)	91 (90.1)	70 (69.3)	78 (77.2)	67 (66.3)	63 (62.4)	72 (71.3)	69 (68.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	1 (33.3)	3 (100.0)	3 (100.0)	3 (100.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	3 (100.0)	2 (100.0)	3 (66.7)	3 (100.0)	1 (33.3)	3 (100.0)	2 (66.7)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	17	11 (64.7)	16 (94.1)	14 (82.4)	12 (70.6)	10 (58.8)	13 (76.5)	15 (88.2)	14 (82.4)	12 (70.6)	11 (64.7)	10 (58.8)	10 (58.8)	13 (76.5)
Streptococci	47	35 (74.5)	46 (97.9)	40 (85.1)	37 (78.7)	26 (55.3)	36 (76.6)	29 (61.7)	15 (31.9)	15 (31.9)	40 (85.1)	31 (66.0)	10 (21.3)	15 (31.9)
<i>Corynebacterium</i> spp.	19	17 (89.5)	16 (84.2)	15 (78.9)	18 (94.7)	13 (68.4)	14 (73.7)	18 (94.7)	12 (63.2)	14 (73.7)	13 (68.4)	15 (78.9)	12 (63.2)	11 (57.9)
Coliforms	18	10 (55.6)	11 (61.1)	4 (22.2)	8 (44.4)	3 (16.7)	14 (77.8)	16 (88.9)	9 (50.0)	6 (33.3)	15 (83.3)	2 (11.1)	14 (77.8)	1 (5.6)
<i>Micrococcus</i> spp.	15	11 (73.3)	13 (86.7)	12 (80.0)	14 (93.3)	7 (46.7)	12 (80.0)	14 (93.3)	11 (73.3)	13 (86.7)	13 (86.7)	11 (73.3)	11 (73.3)	8 (53.3)
Total	220	151 (68.6)	198 (90.0)	174 (79.1)	177 (80.5)	105 (47.7)	173 (78.6)	186 (84.5)	134 (60.9)	140 (63.6)	162 (73.6)	133 (60.5)	132 (60.0)	119 (54.1)

AM, ampicillin; AMC, amoxcilin; CF, cephalothin; CZ, cefazolin; E, erythromycin; ENO, enrofloxacin; GM, gentamicin; K, kanamycin; N, neomycin; NOR, norfloxacin; P, penicillin; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole; Te, tetracycline.

분리된 균주에 대하여 약제감수성 시험을 실시하였다. 유선 내 감염을 일으키는 많은 세균들 중에 약 80~90%정도를 차지하는 *Staphylococcus* spp.와 *Streptococcus* spp.는 낙농산업에 막대한 경제적 손실을 일으키는 준임상형 유방염을 일으키는 것으로 알려져 있다^{8,11}. 유즙에서 분리된 국내 유방염 원인균 중 *Staphylococcus* spp. 분리 결과는 지역에 따라 46.6~56.1%의 높은 분리율을 보였고, *Streptococcus* spp.는 3.5~39.4%로 다양한 성상을 보였다¹⁵⁻²⁰. 이 연구의 결과에서 *Staphylococcus* spp.의 분리율은 51.9%로 나타났는데, 이는 대상 동물의 품종이 동일한 유즙에서 Lee와 Frost⁹가 보고한 42.3%, Ziv와 Nachman¹⁴의 43.0% 그리고 실험동물과 재료가 동일한 이 등²²의 40.7%보다 높은 분리율이었다. 또한 *Streptococcus* spp.의 분리율은 21.4%로 조사되었는데, 이는 실험동물과 재료가 동일한 이 등²²의 1.9%보다 월등히 높게 조사되었다. 이와 같이 20여년 전과 실험동물과 재료가 동일하면서도 *Staphylococcus* spp.와 *Streptococcus* spp.의 분리율의 차이는 조사시기 및 유방염 치료를 위해 사용된 항균제 등의 차이와 기존 치료제에 대한 내성 확득 균주의 증가 결과로 생각되며 유방염 치료 때는 반드시 약제감수성 시험을 실시하여 적합한 항균제의 적용이 요구된다.

유즙에서의 유방염 분리균에 대한 감수성 시험결과로 김 등¹⁷의 보고에 의하면 *S. aureus*에 감수성이 있는 약제는 gentamicin, cephalothin이었고 Gentilini et al⁵은 cephalothin^o 완전한 감수성을 보였다고 하였다. *Staphylococcus* spp.에 대한 시험결과인 Trinidad et al¹³의 보고는 cephalothin, erythromycin, gentamicin 및 tetracycline 등에 100% 감수성을 나타냈으며, Todhunter et al¹²은 tetracycline에 감수성을 보였다고 하였다. 또한 Bezek²은 gentamicin^o

가장 민감한 반응을 보였고 cephalothin에도 감수성을 보였다고 하였다. *Streptococcus* spp.에 대한 항생제 감수성 시험 결과, 김¹⁸은 cephalothin에 아주 민감한 감수성을 보였고 erythromycin과 penicillin에도 감수성을 나타냈다고 하였다. 그리고 김 등¹⁷은 gentamicin, cephalothin에 비교적 감수성이 높았고, 연도별 항생제 감수성 변화에서 ampicillin, penicillin 및 tetracycline 등은 매년 감수성이 낮아지는 경향이 있다고 하였다. 20여년 전 실험동물과 재료가 동일한 이 등²²의 보고에서는 *Staphylococcus* spp.는 oxytetracycline과 carbenicillin 및 cloxacillin에 비교적 높은 감수성을 나타냈고, *E. coli*에는 kanamycin, oxytetracycline, erythromycin, carbenicillin에 중등도 및 약간의 감수성을 나타냈을 뿐 그 밖의 약제에는 감수성이 없다고 하였다. 그러나 최근 Costa 등⁴은 이 연구에서처럼 도태 유우의 유선조직에서 분리한 *Staphylococcus* spp.에 대한 항균제 감수성 시험 결과, 감수성 있는 항균제는 cephalothin과 gentamicin이라 하였다. 이 연구결과, staphylococci에 감수성을 나타낸 항생제는 amoxacillin과 gentamicin으로 이 등²²의 결과와는 다른 반면 Costa 등⁴의 결과와는 유사하였는데, 이는 조사시기와 균내성에 따른 차이 때문으로 생각된다. 한편 streptococci는 amoxacillin에 감수성을 보였지만 5가지 약제에 내성을 나타냈고 coliform은 gentamicin과 norfloxacin에 감수성이 있을 뿐 나머지 약제에는 내성을 나타내어 다양체 내성이 매우 심각하였다. 특히 20여년 전에 *E. coli*에 감수성이 있었던 kanamycin, oxytetracycline, erythromycin에 내성을 나타내어 유방염의 치료는 반드시 약제 감수성 시험 결과를 토대로 이루어져야 함과 내성 약제의 양상이 변화되었음을 시사하는 것으로 임상가의 유방염 치료에 도움이 되리라 생각된다.

또한 이 등²²은 유방 감염 양상에서 이중 감염이 55.6%, 삼중감염이 16.7% 그리고 단독감염이 27.7%라 하여 중복감염률은 72.3%라 하였다. 그러나 20여 년이 지난 이 연구결과 중복감염 양상 중 가장 많은 것은 이중감염으로 35.1%였고 이중감염 이상의 중복감염은 88.5%로 훨씬 높았으며, 또한 이 등²²의 결과보다 훨씬 더 복합감염 양상인 사중 감염도 19.8%로 조사되었다. 이렇게 과거보다 혼합감염의 발생빈도가 높게 나타난 이유는 사육환경과 조사시기가 다르고, 지역 및 개체별 치료약제의 차이, 그리고 항생제의 오·남용에 의한 내성 균주의 증가에 의한 것으로 사료되나, 보다 구체적이고 광범위한 연구가 더 요구된다. 그리고 이러한 유방염 감염양상 및 항생제 감수성의 변화 추이는 임상가가 치료에 참고할 수 있는 기초자료로 활용할 수 있으리라 생각된다.

결 론

2000년 10월부터 12월까지 광주근교 도축장에서 도축된 젖소 101두의 유방을 채취하여 그 중 97두의 유선조직에서 원인균을 분리하고, 원인균에 대한 약제감수성 시험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

분리 동정된 균은 총 262주었으며, 그 중 CNS가 43.9%로 가장 높은 분리빈도를 나타냈고 그 뒤를 이어 *streptococci*가 21.4%를 나타냈다. 그리고 *Corynebacterium* spp.은 9.9%, coliform은 9.1%, *Micrococcus* spp.는 6.9%, 기타 *staphylococci*가 6.9% 그리고 *S. aureus*가 1.1%의 분리율을 보였다. 감염의 양상을 보면 이중감염이 35.1%로 가장 많았고 그 다음으로 삼중감염이 33.6%, 복합감염이 19.8% 그리고 단독감염이 11.5%이었다. 유방염 분리균에 대한 약제감수성 시험결과 *staphylococci*와 *streptococci*에 감수성 있는 약제는 amoxicillin이었고 coliform에 감수성 있는 약제는 gentamicin이었다. 그러나 13가지 항균제중에서 coliform은 8가지 약제 (ampicillin, cephalothin, cefazolin, erythromycin, kanamycin, neomycin, penicillin, tetracycline)에 그리고 *streptococci*에서는 5가지 약제 (erythromycin, kanamycin, neomycin, SXT, tetracycline)에 다약제 내성을 나타냈다. *S. aureus*는 erythromycin에 100% 내성을 나타냈다. 그리고 전체 분리균에 대한 약제감수성 시험 결과는 amoxicillin (90.0%), gentamicin (84.5%)에 높은 감수성을 보인 반면 erythromycin에는 내성을 나타냈다.

참 고 문 헌

- Bauer AW, Kirby WM, Sherris TC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1966; 45: 493-496.
- Bezek DM. Genus identification and antibiotic susceptibility patterns of bacterial isolates from cows with acute mastitis in a practice population. J Am Vet Med Assoc 1998; 212: 404-406.
- Bramley AJ, Dood FH. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control-progress and prospects. J Dairy Res 1984; 51: 481-512.
- Costa EO, Benites NR, Guerra JL, Melville PA. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. J Vet Med B 2000; 47: 99-103.
- Gentilini E, Denamiel G, Llorente P, Godaly S, Rebuelto M, DeGregorio O. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. J Dairy Sci 2000; 83: 1224-1227.
- Gruet P, Maincent P, Berthelot X, Kaltsatos V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. Adv Drug Deliv Rev 2001; 50: 245-259.
- Hinckley LS, Benson RH, Post JE, DeCloux JC. Antibiotic susceptibility profiles for mastitis treatment. J Am Vet Med Assoc 1985; 187: 709-711.
- Jain NC. Common mammary pathogens and factors in infection mastitis. J Dairy Sci 1970; 62: 128-134.
- Lee CS, Frost AJ. Mastitis in slaughtered dairy cows. I. Udder infection. Aust Vet J 1970; 46: 201-203.
- McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF. Thomson's Special Veterinary Pathology, 3rd ed. St Louis Mosby. 2001: 627.
- Nickerson SC, Owens WE, Boddie RL. Mastitis in dairy heifers: initial studies on prevalence and control. J Dairy Sci 1995; 78: 1607-1618.
- Todhunter DA, Cantwell LL, Smith KL, Hoblet KH, Hogan JS. Characteristics of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine intramammary infections. Vet Microbiol 1993; 34: 373-380.
- Trinidad P, Nickerson SC, Alley TK. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. J Dairy Sci 1990; 73: 107-114.
- Ziv G, Nachman I. An abattoir survey of udder pathogens from culled dairy cows. Refuah Vet 1972; 29: 161.
- 고광두, 김두. 강원 지역의 젖소 유방염 감염률 및 원인균에 관한 연구. 대한수의학회지 1991; 8: 47-52.
- 김두. 유우의 임상형 유방염 원인균과 항생제 감수성의 변화 양상. 대한수의학회지 1988; 28: 397-404.
- 김종만, 정석찬, 이지연, 서옥석, 박정문. 젖소의 유방염 원인균 및 항생제 감수성의 변화 양상 조사. 한국수의공중보건학회지 1992; 16: 7-13.
- 김태종. 젖소 유방염 유즙에서 분리된 연쇄상구균속의 분류와 약제감수성에 관한 연구. 대한수의학회지 1989; 25: 423-433.
- 문진산, 주이석, 구복경, 김종염, 류태선, 장금찬, 박하중, 박용호, 이재진, 한태욱, 양창근. 목장 원유 중 체세포 수에 따른 유방염 원인균 양상 및 목장 사양관리에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 1997; 21: 345-353.
- 석호봉, 이광원, 오성용. 성환 지역의 유우 유방염에 관한 연구 1. 유방염의 발생 실태와 그 원인균 조사. 대한수의학회지 1981; 21: 161-165.
- 이정원, 김추철, 윤여백 송희종, 최인방. CMT 양성 유즙에서 유방염 원인균 분리 및 분리균의 항균제 감수성. 한국기축위생학회지 1997; 20: 151-159.
- 이채용, 강병규, 박영준, 이정길. 도태 유우에 있어서의 유방염에 관한 연구. 대한수의학회지 1980; 20: 119-122.
- 이채용, 김혜라, 이정치, 김상기, 이정길, 김종택. 광주지역에서 도태되는 흘스타인 소 유방의 병변조사. 대한수의학회지 2003; 43: 295-299.