

유방염 감염 목장유우의 유즙으로부터 원인균 분리 및 치료제 선택에 관한 연구

축산물위생검사소

정경태 · 이우원 · 노은미 · 이강록 · 김근규

Studies on Species Identification and Antibiotics Susceptibility from Bovine Mastitic Milk

Veterinary Service Laboratory

Kyung-Tae Chung, Woo-Won Lee, Eun-Mi Noh,
Gang-Log Lee and Geun-Kyu Kim

Abstract

This study was carried out to investigated the incidence of mastitis in dairy cows of Busan area. Also performed were the isolation of microorganisms from SPC(standard plate count) and SCC(somatic cell count) positive milk samples and antibiotics susceptibility testing of the isolated.

29 of 500 raw milks were found to be infected with mastitis and infection rate was 5.8%. 37 of 359heads milks were found to be infected with mastitis and infection rate was 10.3%.

The causative organisms isolated in order of prevalence were *Staphylococcus aureus* (74.2%), *Streptococcus dysgalactiae*(10.6%), *Streptococcus agalactiae*(9.1%) and *Staphylococcus + E. coli*(6.1%).

The antibiotics susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus + E. coli* were highly sensitive to Norfloxacin and Cephalexin.

Key Words : bovine mastitic milk, antibiotics susceptibility

서 론

젖소 유방염은 낙농산업에서 경제적 손실 발생 및 도태율이 가장 큰 질병으로 알려져 있다. 젖소 유방염은 원유의 품질을 결정하는데 많은 영향을 미치고 있을 뿐 아니라 우유의 생산량 감소는 물론 세균 또는 체세포수 증가와 비육기간의 단축 등 젖소 사육농가에 커다란 경제적 손실을 주고 있다^{1~4)}. 또한 최근 국민소득의 증가로 인한 우유 및 축산식품의 소비량이 크게 증가함과 동시에 고 품질의 우유를 크게 선호하는 소비자의 욕구가 증가하고 있어 양질의 원유생산을 위한 필요성이 제기되고 있다. 유방염은 젖소의 만성 소모성 질병의 하나로 국내에서는 Gram positive bacteria인 *Staphylococcus* spp.와 *Streptococcus* spp.가 주 원인균으로 알려져 있다. 건강한 젖소의 유즙에서는 체세포중 상피세포가 60% 정도 존재하나 유방이 감염되었을 경우 다형핵백혈구의 숫자가 전체 체세포수의 90% 이상으로 증가하므로 체세포수의 측정이 집단 우군의 유방염 감염우를 색출하는 방법으로 적절하며⁵⁾, California Mastitis Test가 아직 까지 야외에서의 개체별 젖소의 유방염 검사방법으로 간단하고, 정확하게 적용되어지고 있다⁶⁾.

젖소가 유방염에 이환되면 유선의 기

능부전으로 인한 유량감소, 유질의 저하, 치료비 지출 및 비유기간 단축으로 인한 폐기 등 여러 측면에서 낙농가에 막대한 경제적 손실을 준다. 또한 유방염 치료제의 오·남용에 의한 유방염 원인균의 약제 내성으로 치료에 어려움이 있으며, 내성균 출현에 의한 시민건강을 위협 할 수 있는 바 적절한 유방염 치료제의 선택에 의한 지속적 치료를 통한 유방염 퇴치의 필요성이 있다.

정부에서는 유방염 퇴치 및 질 좋은 원유의 생산을 위한 방편으로 1993년 6월 농림수산부 고시를 통하여 양질의 원유생산을 위한 세균수 등급 적용 유대 차 등 지급안을 마련하였고, 1996년 7월에는 이를 세균수 및 체세포수 등급으로 강화한 바 있다^{7,8)}.

이에 관내 낙농가를 대상으로 사육중인 젖소의 유방 상태를 파악하고, 유방염 관리대책 수립의 기본자료를 제시하기 위해 다음의 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

관내 목장에서 사육중인 젖소의 집합 유연 500건 및 농가를 직접 방문 개체별 유즙 359건을 채취하여 멸균용기에 담아 냉장상태로 시험실로 운송 시험재료로 사용하였다.

2. 시험방법

- Somatic cell count(SCC) : 집합유시료는 Somacount 300(Bentley)을 이용 SCC에 의한 체세포수를 측정하였다.

- Standard plate count(SPC) : 일반적인 SPC에 의한 세균수를 검사하고 기준 3급(50만/ml초과) 이하의 시료에 대해 원인균 분리 및 약제감수성 시험을 시도하였다.

- California Mastitis Test : 개체별 시료는 Schalm 등⁹⁾의 방법에 따라 CMT에 의한 양성시료를 확인하고 원인균 분리 및 약제감수성 시험을 시도하였다.

- 유방염 의심우의 세균분리는 National Mastitis Council의 "Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis"의 방법을 변형 사용하였다¹⁰⁾.

즉, BHI broth 증균 후 Blood agar, MacConkey's agar에서 선택 도말 후 Hemolysis, 접락의 형태 확인 및 Gram stain, Biochemical test를 통해 원인균을 규명하였다.

- 약제감수성시험은 Difco사의 Standard high-potency discs를 사용하여 Muller-

Hinton agar를 사용 일반측정법으로 확인하였다.

약제감수성시험에 사용된 disc는 Am-picillin(AM : 10mcg), Cephalexin (CF : 30mcg), Chloramphenicol(CP : 30mcg), Erythromycin(EM : 15mcg), Gentamicin (GM : 10mcg), Penicillin (PC : 10IU), Neomycin(NM : 30mcg), Norfloxacin (Nor : 10mcg), Streptomycin (SM : 10 mcg), Tetracycline(TC : 10mcg) 등 이었다.

결 과

부산시 관내 낙농가에서 사용되고 있는 젖소의 유방염 원인균 분리 및 약제감수성검사 결과는 다음과 같다.

관내 집합유 및 개체유를 포함한 78농가 859건에 대한 유방염 원인균 분리 결과 Table 1과 같이 각종 유방염 원인균 66건이 분리되어 약 7.7%의 분리율을 보였다.

분리균주 66건에 대한 약제감수성시험 결과 주요 치료제는 Table 2에서와 같이 Norfloxacin 31건(47.0%), Cephalexin 27건 (40.9%), Gentamicin 8건(12.1%) 순

Table 1. Ethiological agents isolated from bovine mastitis in 66 dairy milk

Bacteria species	No. strains isolated	Rate(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	49	74.2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6	9.1
<i>Streptococcus dysagalactiae</i>	7	10.6
<i>Staphy. + Escherichia coli</i>	4	6.1
Total	66	100.0

Table 2. Antibiotic susceptibilities of 66 isolated dairy milk to antimicrobial agents

Antimicrobial agent	Disc potency (mcg)	<i>Staph. aureus</i>	<i>Strep. agalactiae</i>	<i>Strep. dysgalactiae</i>	<i>Staph+E. coli</i>	Total
Ampicillin	10	25(51)	3(50)	3(43)	2(50)	33(50.0)
Cephalexin	30	45(92)	5(83)	6(86)	3(75)	59(89.4)
Chloramphenicol	30	18(37)	4(75)	2(29)	1(25)	25(37.9)
Erythromycin	15	25(51)	2(33)	2(29)	2(50)	31(46.9)
Gentamicin	10	43(87)	5(83)	6(86)	4(100)	58(87.8)
Neomycin	30	32(65)	2(33)	3(43)	1(25)	40(60.1)
Penicillin	10IU	13(26)	3(50)	2(29)	0(0)	18(27.2)
Tetracycline	10	25(49)	3(50)	2(29)	3(75)	33(50.0)
Streptomycin	10	30(61)	3(50)	3(43)	2(50)	38(57.6)
Norfloxacin	10	46(94)	6(100)	7(100)	3(75)	62(93.9)

Table 3. Developing of mastitis and grade of standard plate count(SPC) in raw milk

Items	No. of farms	rate (%)
No. of average milking cows	500	100
Current grade of SPC		
A) Grade 1A(below 0.03mil.)	195	39
B) Grade 1B(0.03~below 0.1mil.)	237	47
C) Grade 2 (0.1~below 0.25mil.)	36	7
D) Grade 3 (0.25~0.5mil.)	25	5
E) Grade 4 (over 0.5mil.)	7	2

Table 4. Developing of mastitis and grade of somatic cell count(SCC) in raw milk

Items	No. of farms	rate (%)
No. of average milking cows	500	100
Current grade of SCC		
A) Grade 1(below 0.02mil.)	205	41
B) Grade 2(0.2~below 0.5mil.)	240	48
C) Grade 3 (over 0.5mil.)	55	11

이었다.

집합유 500건에 대한 세균수 및 체세포수 검사 결과는 Table 3과 4에서와 같이 세균수는 1B급(3~10만/ml)이 237건 47%로 가장 많았고, 4급 초과도 7건으로 2%로 조사되었다. 체세포수는 2급(20~50만 이하/ml)이 240건 48%였고, 3급(50만 초과/ml)이 55건 11%였다.

체세포수 기준 3급(50만 초과/ml) 55농가에 대한 유방염 감염 유무 확인 결과 29농가에서 유방염 원인균을 분리하였으며, 그 동정 결과는 Table 5와 같이 *Staphylococcus aureus*가 17농가 58.7%로 가장 많이 분리되었고, 다음은 *Streptococcus* spp.였으며, *Staphylococcus* 와 *E. coli*의 혼

합감염도 3건 10.3%로 나타났다.

집합유에서 분리된 유방염의 원인균에 대한 약제감수성 검사 결과 주요 치료제는 Cephalexin 15건(51.7%), Norfloxacin 10건(34.5%) 및 Gentamicin 4건(13.8%)의 순으로 유효하였다.

관내 28농가에 대하여 농가를 직접 방문 채취한 개체유 359두에 대한 검사 결과는 다음과 같았다.

28농가 359두에 대한 CMT 결과 Table 6에서와 같이 42두에서 + 이상의 양성반응을 보였으며, 그중 12농가 37두에서 유방염 감염이 확인되어 개별 유방염 감염율은 10.3%의 양성율을 보였고, 그 원인균은 Table 7에서와 같이

Table 5. Ethiological agents isolated from bovine mastitis in 29 raw milk

Bacteria species	No. strains isolated	Rate(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	58.7
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6	20.7
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	3	10.3
<i>Staphy. + Escherichia coli</i>	3	10.3
Total	66	100.0

Table 6. Results of examination by California mastitis test(CMT) method

No. of farms	No. of heads	California mastitis test source				Total positive
		-	+	++	Total	
28	359	317	10	32	42	

Table 7. Ethiological agents isolated from bovine mastitis in 37 milk sample

Bacteria species	No. strains isolated	Rate(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	86.5
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	10.8
<i>Staphy. + Escherichia coli</i>	3	2.7
Total	39	100.0

*Staphylococcus aureus*가 32건 86.5%로 가장 높았으며, *Streptococcus dysgalactiae*가 4건 10.8% 및 *Staphylococcus aureus*와 *E. coli*의 혼합감염도 1건 2.7%로 나타났다.

개체유 29건에서 분리된 유방염 원인균의 약제감수성시험 결과 주요 치료제는 Norfloxacin 21건 56.8%, Cephalexin 12건 32.4% 및 Gentamicin 4건 10.8%의 순으로 유효하였다.

고 찰

젖소가 유방염에 감염되면 유방에 침입한 각종 세균 및 곰팡이 등의 원인균과 그 대사산물에 의해 유선조직이 자극을 받으므로 유즙내의 체세포수가 증가하게 되고 이는 유방염의 간접적인 진단법으로 활용된다⁵⁾. California mastitis test 진단액의 화학적 조성을 유즙에 함유된 protein의 정도에 따라 응집반응을 일으키도록 조제된 일종의 계면활성제로 현재도 야외에서의 screen test용으로 널리 사용되고 있다.

본 실험에서는 Somacount 300 (Bentley사)을 이용 집합유 500건에 대한 체세포수 검사 결과 1급(20만 이하/ mL)이 205건 41%, 2급(20~50만 이하/ mL) 240건 48% 및 3급(50만 초과/ mL) 55건 11%로 1,2급 원유가 전체의 89% 정도로 높게 나타났다. 이는 허 등¹¹⁾의

체세포수 1급 35% 및 2급 55%로 1,2급 전체 90%와 비교할 때 등급별 차이는 인정되나 비슷한 수치를 나타내었다. 체세포수 3급이하 55농가에 대한 원인균 분리 결과를 시도한 결과 29건에서 유방염 원인균이 분리되어 약 6%의 유방염 감염을 나타내었다. 이는 허 등¹¹⁾의 평균 7%보다는 약간 낮은 수치였다. 집합유에서 분리된 29건의 유방염 원인균은 *Staphylococcus aureus*가 17건 58.7%로 가장 높았고, *Streptococcus* spp. 및 *Staphylococcus* spp.와 *E. coli*의 혼합감염 순으로 분리되었는데 이는 김 등¹²⁾의 포도구균 41%와 박 등⁵⁾의 *Staphylococcus* spp. 47.9%와 유사한 상태로 유방염의 원인균이 아직까지 포도상구균에 의한 것이 가장 많이 발생되고 있음을 알 수 있다.

또한 본 실험에서는 개체별 유즙 28농가 359두에 대하여 CMT를 실시하고 양성 반응을 보인 14농가 42두에 대한 원인균 분리를 실시한 바 37건에서 원인균 분리 동정 유방염 감염율은 10.3%로 나타났다. 이는 임 등⁶⁾의 36.6%, 박 등⁵⁾의 43.2%에 비해 매우 낮은 수준이나 이는 조사시기가 1998년으로 현재 전국 목장 축주의 사양방법 향상 및 질 좋은 우유에 대한 소비자들의 욕구를 수용하기 위한 축주들의 노력의 결과에 의한 유방염 감염율 하락으로 판단되며, 특히 부산지방의 목장관리 실태를 감안 할 때 50두 이하의 소규모 사육이 대부

분이며, 젖소의 관리에 종업원이 아닌 축주의 직접적인 관리로 인한 애착심 증가 등으로 감염수치는 더욱 낮아진 것으로 사료된다.

집합유 및 개체유 포함 전체 78농가 859건에 대한 분리균주 66주에 대한 약제 감수성검사 결과 *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. 및 *Staphylococcus* 와 *E. coli* 혼합감염 공히 Norfloxacin과 Cephalexin이 제일 유효하였다. 이는 박 등⁵⁾의 Cephalothin, Chloramphenicol, 임 등⁶⁾의 Cephalothin, Chloramphenicol과 비교할 때 Cephalothin은 공통성을 갖지만 Chloramphenicol은 차이점을 나타내는데 이는 최근 퀴놀린계 항생제의 출현과 함께 이전부터 많이 사용되어지던 Chloramphenicol 계통의 항생제가 내성을 획득한 것으로 판단되며, 앞으로도 퀴놀린 계통의 항생제가 빈번히 사용될 것으로 사료된다.

이상의 결과를 놓고 볼 때 과거에 비해 유방염의 발생빈도는 매우 줄어들었으나, 여전히 발생 양축가들에게 피해를 주고 있으며, 위생적인 사양관리와 끊임없는 유방염 방제로 소비자에게는 보다 질 좋은 우유를 제공하고, 양축가에게는 물질적 피해를 줄이는데 최선을 다하여야 할 것으로 판단된다.

결 론

부산시 관내에서 사육중인 젖소의 집

합유 및 개체유 859건에 대하여 유방염 원인균 분리 및 치료제 선택에 관한 시험을 위하여 SPC 및 SCC법에 의하여 체세포수 및 세균수를 검사하고, 양성 유즙으로부터 원인균을 분리하여 약제감수성검사를 실시한 결과는 다음과 같다.

- 집합유 500건에 대한 유방염 감염율은 29건이 감염되어 5.8%의 감염율을 보였다.
- 개체유 359건에 대한 유방염 감염율은 37건이 감염되어 10.3%의 감염율을 보였다.
- SCC, SPC 양성유즙으로부터 분리한 주요 균주는 *Staphylococcus aureus* (74.2%), *Streptococcus dysagalactiae* (10.6%), *Streptococcus agalactiae* (9.1%) 및 *Staphylococcus* 와 *E. coli*의 혼합감염 (6.1%)의 순으로 포도상구균이 74% 이상을 점하고 있었다.
- 약제감수성 시험 결과 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysagalactiae*, *Streptococcus agalactiae* 및 *Staphylococcus* 와 *E. coli* 공히 Norfloxacin, Cephalexin 순으로 높은 감수성을 보였다.

참고문헌

- 손봉환 : 유방염 감염조사 및 예방

- 대책에 관한 연구. 『최근 3년간 (91~93) 유방염 발생 실태에 관한 최종 결과 보고서』. 한국가축위생학회지, 1994.
2. 손봉환 : 유방염 방제를 통한 유질 향상 방안 학술심포지움 자료. 한국가축위생학회, 1994.
3. 이성모, 황현순, 손봉환 등 : 원유의 위생학적 유질 변동에 관한 연구. 한국가축위생학회지 17(3) : 208~226, 1994.
4. 이방한 : 수의내과학(II), 대영문화사, 1985.
5. 박동수, 하영주, 이주홍 등 : 젖소에 있어서 유방의 위생관리 실태에 따른 준임상형 유방염의 감염율과 분리균의 약제감수성. 한국수의공중보건학회지 12(2) : 185~191, 1988.
6. 임희웅, 김진희, 김공식 : 제주도 지역의 젖소 유방염에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 12(2) : 193~199, 1988.
7. 농림수산부 고시 제93-35호(93. 6). 원유위생등급 및 기준 개정 고시, 1993.
8. 농림수산부 고시 제93-101호(93. 12). 원유위생등급 및 기준 개정 고시, 1993.
9. Schalm O.W., Carroll E.J. and Jain N.C. : Bovine mastitis. Lea & Febiger, Philadelphia., 1971.
10. Brown R.W. and Morse G.E. : Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis. National Mastitis Council Inc., 1969.
11. 허정호, 정명호, 박영호 등 : 젖소 유방염 관리에 따른 세균 및 체세포수 등급 실태 조사 분석. 한국가축위생학회지 21(3) : 285~300, 1988.
12. 김신, 김순태, 김우현, 권현일 : 경북지역 젖소 유방염 우유 및 각종 동물로부터 분리한 포도구균의 동정 및 항생제 감수성. 한국가축위생학회지 21(3) : 301~312, 1998.