碩士學位論文

제주지역 젖소의 유방염 원인균 분리 및 약제 감수성 검사

濟州大學校 大學院
獸 醫 學 科

康 希 禎

110.5-5

2001年 2月

제주지역 젖소의 유방염 원인균 분리 및 약제 감수성 검사

指導敎授 李斗植

康希禎

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2000年 12月

康希禎의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長
委 員
委 員

濟州大學校 大學院

2001年 1月

Identification and Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms isolated from Bovine Mastitis in Cheju

Hee-Jung Kang

Department of Veterinary Medicine
Graduate School, Cheju National University
Cheju, Korea
(Supervised by Professor Du-Sik Lee)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Summary

Pathogenic bacteria were isolated and identified from bovine 296 quarters which showed positive reaction by California Mastitis Test (CMT) in 40 farms of Cheju from September 1999 to June 2000.

Among the 11 kinds of isolates identified in this study, *Staphylococcus aureus* was the most predominant species as 152 (51.4%) isolates. Other identified species included 49 (16.5%) Coliform, 47 (15.8%) *Streptococcus dysgalactiae*, 15 (5.1%) *Bacillus* spp., 8 (2.7%) *Staphylococcus epidermidis*, 6 (2.1%) *Streptococcus agalactiae*, 5 (1.7%) *Enterococcus faecalis*, 5 (1.7%) *Corynebacterium* spp., 3 (1.0%) *Streptococcus uberis*, 1 (0.3%) *Pseudomonas aeruginosa* and 1 (0.3%) *Pasteurella haemolytica*.

Almost of all the isolated bacterial species showed high sensitivity against kanamycin (98.6%), cephalothin (98.0%), streptomycin (94.9%), gentamicin (94.6%), ampicillin (92.2%) and polymyxin B (90.2%). On the contrary, they showed resistance against penicillin (47.0%),

tetracycline (37.2%), cefazolin (26.0%), bacitracin (22.6%) and erythromycin (19.9%). Eighty-one isolates were not resistant to any antibiotics and 215 drug resistant isolates showed 89 different drug resistance patterns from single to nine multiple antibiotics resistance patterns.

β-lactamase was produced by 35.4% of *Staphylococci* isolated from 48 CMT positive milk samples, but MRSA was not found.

Key words : mastitis, antimicrobial susceptibility, CMT, β-lactamase, MRSA, multiple antibiotics resistance

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

목 차

Ⅰ. 서 론 ····· 1

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 3

Ⅲ. 결 과 ····· 9

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅳ. 고 찰 ····· 20

Ⅴ. 결 론 ····· 24

Ⅵ. 참 고 문 헌 ····· 25

Ⅰ. 서 론

유방염 (乳房炎, Mastitis)은 병원성 미생물이 젖을 만드는 조직인 유선에 침입하여 유선을 자극 또는 파괴할 때에 이를 회복시키려고 나타내는 생체반응이다.

젖소의 유방염의 원인은 Abildgaard (1967)에 의하여 처음으로 보고되었으며 방목시 곤충에 물려 발생한다고 하였으나 Fank와 Glage (1967)는 유방염의 인공감염을 유도하여 유즙으로부터 세균검출에 성공함으로써 유방염이 감염병임을 확인하였다.

유방염의 치료방면에서 Mercer (1971)는 치료효과를 높이기 위해서는 약용량, 약의 용해성, 투약형태, 사용빈도, 혼합사용시의 길항작용 등을 다각적으로 고려해야 한다고 하였다. 반면 Morris (1971)는 그 지역의 특수성과 환경을 조사하여 그 지역에 적합한 예방관리계획을 수립하는 것이 유방염 대책의 효과적인 방법이라고 하였다. 결국 Dodd 등 (1977)과 Pearson 등 (1972)은 유방염이 다양한 원인에 의하여 발병하므로 면역방법이나 위생 착유 등의 특정한 한가지 방법만으로는 치료가 어렵다고 하였다.

국내에서는 정 등 (1970)에 의하여 서울 및 수원근교의 젖소를 대상으로 유방염 원인균에 대한 역학적 조사가 처음 이루어진 이후 각 도 단위의 유방염 역학조사 결과가 보고되었다 (손, 1982; 라와 강, 1975; 고와 김, 1991). 또한 국가적 차원에서 유방염에 대한 관심도가 고조되면서 1991~1993년에 축산발전 계획 및 그 실시요령에 의한 유방염 감염조사가 실시되어 전국적인 유방염 감염률, 원인 미생물 분포, 항생제 감수성 등이 연구되었다 (손, 1994).

따라서 유방염은 낙농가에 많은 피해를 입히고 있는 바, 이의 치료를 위한 항생제의 투여 등 여러 가지 경제적인 손실은 불임증이나 생식기질병에 의한 그것보다 두 배나 높은 실정이다. 또한 젖소의 질병에 의한 경제적 총 피해액의 26%는 유방염에 기인되고 있다고 한다 (Devriese 등, 1980; Fox 등, 1991; Hoblet, 1991; Janzen, 1970).

본 연구에서는 세균, virus, 곰팡이 등의 다양한 유방염의 원인 중에서 세균의 종류를 조사하여 치료에 도움을 주고자 한다. 유방염의 원인균 중 대부분은 포도상구균과 연쇄상구균이고 이중 *Staphylococcus aureus*는 임상형 유방염으로부터 검출빈도가 높다 (Torgerson 등, 1992). 또한 coagulase negative *Staphylococcus* (CNS)는 잠재성 유방염의 원인균으로 알려져 있으며 최근 유방염에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

다 (Devriese 등, 1980). 앞서 말한 CNS을 포함한 환경성 유방염 원인균 중 장내 세균류는 *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. 등이 있고 환경성 연쇄상구균에는 *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus bovis*가 있다 (McDonald, 1970; Newman과 Kowalski, 1973; 김 등, 1998).

국내에서 손 (1994)이 보고한 전국 유방염의 주된 원인균은 *Staphylococcus* spp. 와 *Streptococcus* spp.이었고 이들 원인균은 cephalothin, chlorampenicol, gentamicin에 높은 감수성을 나타내었다. 따라서 현재 제주도내 유방염을 일으키는 원인균의 분포상황 및 주된 원인균의 분포를 파악할 시점이라 생각된다. 또한 내성 및 감수성을 나타내는 항생제의 종류를 조사해서 1994년 이후의 변화양상을 비교할 필요가 있을 것이다.

1940년대 초에는 β-lactam계인 penicillin에 거의 모든 포도상구균이 감수성을 보였지만, β-lactamase를 생성하는 penicillin-resistant *Staphylococcus aureus*가 출현하기 시작하였다 (Barber, 1948).

1960년에는 이러한 β-lactamase에 의해 가수분해를 받지 않는 반합성 페니실린제인 methicillin이 포도상구균의 감염치료에 사용되었다. 그러나 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)가 출현하기 시작하였다. 이 MRSA균주는 β-lactam계 항생물질뿐만 아니라 aminoglycoside계, macrolide계 등 거의 모든 약제에 대하여 교차내성 (Cross-resistance)을 가지고 있다 (Trees와 Iandolo, 1988; 임 등, 1997; Coello 등, 1997; Cotter 등, 1997; Cox와 Conquest, 1997). MRSA균주에 유일하게 강한 항균작용을 가지고 있는 항생물질로써는 Vancomycin이 있으나 이 항생물질에도 강한 내성을 나타내는 균주가 분리되어 심각한 문제가 되고 있다 (장, 1988).

*Staphylococci*는 전염성 유방염의 주된 원인균으로서 작용하는데 이에 계속적인 항생제를 투여한 결과 현재 내성균이 증가하고 있다. 약제를 재사용시 치료지연 및 치료효과를 기대할 수 없어 경제적 손실과 약제 선택에 어려움을 나타나게 한다 (Anderson 등, 1982; 김, 1988).

본 연구는 제주도내 유방염을 일으키는 원인균을 분리 동정하여 그 분포상황을 파악하고 항생제 감수성 검사를 통하여 문제시되는 항생제 내성현황을 조사하여 올바른 치료약제 선택을 통한 낙농가의 경제적 손실을 방지하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

II. 재료 및 방법

1. 검사대상

유방염 원인균의 분포를 조사하기 위하여 1999년 9월부터 2000년 6월까지 제주도지역 목장 40개 낙농가의 California Mastitis Test (CMT)결과 양성반응을 나타낸 젖소 206두 296분방으로부터 원유를 채취하여 사용하였다.

β-lactamase 생성 *Staphylococci* 와 MRSA의 분리 및 분포도를 조사하기 위하여 10개 낙농가 35두 48분방에서 채취된 CMT양성인 원유 중 *Staphylococcus*로 의심되는 집락을 본 실험에 사용하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2. 시약

시험에 사용한 시약, 배지는 CMT Reagent Solution ((주)제일화학), KOH (Junsei chemical co.), Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (Sigma), Hydrogen peroxide (Junsei chemical co.), Isoamyl alcohol (AJAX chemical co.), P-dimethyl aminobenzaldehyde (Hayashi pure chemical co.), Methyl red (Shinyo pure chemical co.), Ethanol ((주)동양화학), α-naphthol (Hayashi pure chemical co.), Liquid paraffin (Shinyo pure chemical co.), Glycerol (TEDIA co.), Blood agar plate (Difco), MacConkey agar (Difco), DNase agar (Difco), Mannitol salts agar (Difco), MR-VP agar (Difco), Gelatin agar (Difco), Urea agar (Difco), OF agar (Difco), SIM medium (Difco), Bile esculin agar (Difco), BAGG broth (Difco), TSI agar (Difco), Simon's citrate agar (Difco), Nutrient agar (Difco), ENDO agar (Difco), EMB agar (Difco), MH broth (Merck) , MH medium (Merck)을 사용하였고, 약제 감수성 시험은 BBL의 disc를 사용하였다.

3. CMT

유즙을 CMT용 Paddle에 2㎖가량을 취하고 동량의 CMT시약과 혼합한 후 1분내에 응집하는 정도에 따라 -, ±, +, ++, +++으로 판정하였다 (Schalm과 Noorlander, 1957). 본 실험에는 +이상의 유즙을 사용하였다.

4. 원인균의 분리 및 동정시험

CMT 양성 유즙을 Blood agar plate와 MacConkey agar에 도말하여 37℃에서 24~48시간 배양하고 순수 배양을 위하여 다시 Blood agar plate에 재도말하여 37℃에서 24~48시간 배양하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

순수 배양된 원인균 동정을 위하여 기본시험인 gram stain, 3% KOH반응, catalase test, coagulase test, oxidase test를 실시하였다 (신, 1988). Cowan (1974), Elmer 등 (1979)의 방법을 변형하여 추정되는 세균집락을 따서 추가확인 동정시험을 Table 1의 기준에 의하여 동정하였다.

β-lactamase 생성시험용의 경우 Vitek system (bioMerieux vitek, Inc)을 이용하였다. Vitek 운용 전처리과정은, GPI card에 먼저 해당번호를 기입한 뒤, catalase, coagulase, β-haemolysis의 결과를 표시하였다. 0.45% sodium chloride와 crystal violet으로 탁도계를 조정 (0 point : crystal violet, 100 point : 0.45% saline)하였다. 멸균된 면봉으로 집락을 따서 0.45% sodium chloride (1.8㎖)와 희석 후 탁도계의 눈금이 red color의 해당범위에 오도록 하였다. GPI card에 Transfer tube를 꽂고 다른 쪽 부분은 0.45% sodium chloride (1.8㎖)가 담긴 시험관에 삽입하였다. GPI Card를 Filling stand에 놓여진 상태로 card를 filler 안에 넣은 후 작동시켰다. filling과 sealing이 끝난 뒤, GPI card를 빼낸 후 sealer plug로 card의 균액 흡입구를 밀봉하였다. card를 reader/incubator tray에 넣고서 Vitek 운용순서에 따라 시험을 실시하였다.

Table 1. Identification of bacteiral spp. isolated from bovine 296 quarter CMT positive mastitic milk samples

Identification of bacteria	Bacteria										
	bac.	col.	cor.	pas.	pse.	aur.	epi.	aga.	dys.	fae.	ube.
Gram stain	+	−	+	−	−	+	+	+	+	+	+
3% KOH	−	+	−	+	+	−	−	−	−	−	−
Oxidase	+/−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
Catalase	+	+	+/−	+/−	+	+	+	−	−	+	−
Coagulase	·	·	·	·	·	+	−	·	·	·	·
Motility	·	+/−	−	−	+	·	·	−	−	−	−
Haemolysis	·	·	·	·	·	·	·	α/β	α	−/β	α
DNase test	·	·	·	·	·	+	+	·	·	·	·
Mannitol salt agar	·	·	−	+	+	+	+	·	·	·	·
Indole	·	+	·	−	−	·	·	·	·	·	·
MR	·	+	·	·	−	·	·	·	·	·	·
VP	+/−	−	−	·	+	+	+	·	·	·	·
H_2S	·	−	·	·	·	·	·	·	·	·	·
TSI agar	·	A/AG	·	·	K/K	·	·	·	·	·	·
Citrate agar	+/−	−	·	·	+	·	·	·	·	·	·
Gelatin liquefaction test	+/−	−	+/−	−	+	+	+	·	·	+	−
Urease test	+/−	−	+/−	−	−	+	+	·	·	·	·
OF test	·	·	F/−	·	·	F	F	·	·	·	·
Aesculin hydrolysis	·	·	·	·	·	·	·	−	−	+	+
CAMP test	·	·	·	·	·	·	·	+	−	−	−
BAGG broth	·	·	·	·	·	·	·	·	·	+	−
Endo agar	·	+	·	·	·	·	·	·	·	·	·
EMB agar	·	+	·	·	·	·	·	·	·	·	·
Nutrient agar	·	·	·	·	+	·	·	·	·	·	·

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

※ bac. : *Bacillus* spp.
col. : Coliform
cor. : *Corynebacterium* spp.
pas. : *Pasteurella haemolytica*
pse. : *Pseudomonas aeruginosa*
aur. : *Staphylococcus aureus*
epi. : *Staphylococcus epidermidis*
aga. : *Streptococcus agalactiae*
dys. : *Streptococcus dysgalactiae*
fae. : *Enterococcus faecalis*
ube. : *Streptococcus uberis*

5. 항생제 감수성 시험

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 방법에 따라 표준평판 디스크 확산법으로 실시하였으며 그 방법은 다음과 같다. Blood agar plate에 순수 배양된 원인균을 Müller Hinton broth에 접종하여 37℃ incubator에서 18~24시간 동안 증균한 후 100㎕를 Müller Hinton agar plate에 면봉으로 균일하게 도말한 다음 배지표면의 습기가 제거된 후 antibiotic disc paper (BBL) 15종을 멸균된 핀셋을 이용하여 배지표면에 부착하여 37℃에서 24시간 배양 후 발육억제대의 직경을 측정하여 감수성 여부를 판정하였다 (Table 2).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 2. Antimicrobial Susceptibility test Discs (BBL, 1997. 12)

Antimicrobial Agent	Code	Disc potency	Zone diameter interpretive standards (mm)		
			Resistant	Intermediate	Susceptible
Ampicillin for *Enterbacteriaceae*	AM-10	10μg	≤13	14-16	≥17
for *Staphylococcus*			≤28	-	≥29
for *Enterococci*			≤16	-	≥17
for *Listeria Monocytogenes*			≤19	-	≥20
for *Heamophilus* species			≤18	19-21	≥22
for β-hemolytic *Streptococci*			≤18	19-25	≥26
Bacitracin	B-10	10U	≤8	9-12	≥13
Cefazolin	CZ-30	30μg	≤14	15-17	≥18
Cephalothin	CF-30	30μg	≤14	15-17	≥18
Colistin	CL-10	10μg	≤8	9-10	≥11
Erythromycin for *Streptococci*	E-15	15μg	≤15	16-20	≥21
for other organisms			≤13	14-22	≥23
Gentamicin	GM-10	10μg	≤12	13-14	≥15
Kanamycin	K-30	30μg	≤13	14-17	≥18
Neomycin	N-30	30μg	≤12	13-16	≥17
Oxacillin	OX-1	1μg	≤10	11-12	≥13
Penicillin for *Staphylococci*	P-10	10U	≤28	-	≥29
for *Enterococci*			≤14	-	≥15
for *L. monocytogenes*			≤19	-	≥20
for *N. gonorrhoeae*			≤26	27-46	≥47
for β-hemolytic *Streptococci*			≤19	20-27	≥28
Polymyxin B	PB-300	300U	≤8	9-11	≥12
Streptomycin	S-10	10μg	≤11	12-14	≥15
Tetracycline for *Heamolphilus*	Te-30	30μg	≤25	26-28	≥29
for *N. gonorrhoeae*			≤30	31-37	≥38
for *Streptococcus spp.*			≤18	19-22	≥23
for other organisms			≤14	15-18	≥19
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	SXT	1.25μg/23.75μg			
for *Heamophilus*			≤10	11-15	≥16
for *S. pneumoniae*			≤15	16-18	≥19
for other organisms			≤10	11-15	≥16
Vancomycin for *Streptococcus spp.*	Va-30	30μg	-	-	≥17
for *Enterococci*			≤14	15-16	≥17
for other gram-positive organisms			≤9	10-11	≥12

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

6. β-lactamase 생성 시험

제조사 (Baltimore Biological Laboratories, USA)의 지시에 따라 멸균증류수 1~2방울로 디스크를 적신 후 백금이로 집락을 채취하여 cefinase disk 표면에 도말하였다. 실온에서 60분간 반응시킨 후 붉은 색이 나타나면 β-lactamase 양성으로 판정하였다.

7. MRSA의 분리

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 방법에 따라 표준평판디스크 확산법에 의하여 균의 증식이 억제된 직경의 크기에 따라 oxacillin에 대한 내성유무로서 MRSA를 판정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅲ. 결 과

1. CMT 양성 유즙으로부터 분리된 균종과 분리빈도

젖소를 사육하는 40개 낙농가의 206두 296분방의 CMT 양성 유즙에서 분리된 균종을 알기 위하여 균 분리 동정을 실시한 결과 11종이었다. 전체 유즙 시료에서 분리된 균종은 *Staphylococcus aureus* 152주 (51.4%), Coliform 49주 (16.5%), *Streptococcus dysgalactiae* 47주 (15.8%), *Bacillus* spp. 15주 (5.1%), *Staphylococcus epidermidis* 8주 (2.7%), *Streptococcus agalactiae* 6주 (2.1%), *Enterococcus faecalis* 5주 (1.7%), *Corynebacterium* spp. 5주 (1.7%), *Streptococcus uberis* 3주 (1%), *Pseudomonas aeruginosa* 1주 (0.3%), *Pasteurella haemolytica* 1주 (0.3%), unidentified 4주 (1.4%) 순으로 분리되었다 (Table 3).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3. Numbers of bacterial isolates isolated from bovine 296 quarter CMT positive milk samples

Bacterial spp.	No. of isolates	%
Staphylococcus aureus	152	51.4
Coliform	49	16.5
Streptococcus dysgalactiae	47	15.8
Bacillus spp.	15	5.1
Staphylococcus epidermidis	8	2.7
Streptococcus agalactiae	6	2.1
Enterococcus faecalis	5	1.7
Corynebacterium spp.	5	1.7
Streptococcus uberis	3	1.0
Pseudomonas aeruginosa	1	0.3
Pasteurella haemolytica	1	0.3
unidentified	4	1.4
Total	296	100

지역에 따른 균종별 분포상황은 Table 4와 같다. 북군, 남군, 제주시지역의 목장으로부터 분리된 균종의 분포율은 *Staphylococcus aureus*는 북군 55.1%, 남군 50%, 제주시 34.8%이었으며 *Streptococcus dysgalactiae*는 북군 14.2%, 남군 15.6%, 제주시 23.9%의 검출율을 나타내었다. Summer mastitis라 지칭되어지는 *Corynebacterium* spp.는 북군 0.9%, 남군 3.1%, 제주시 4.4%로 3개 지역 모두 비슷한 분포율을 나타내었다. 또한 환경성 유방염의 원인균인 Coliform은 남군이 28.1% 로 가장 높은 분포율을 나타내었고, 북군과 제주시는 같은 분포율을 나타내었다. 따라서 기후 등의 지역적 여건과 관계없이 도내 전지역이 유사한 균종 분포가 있음을 알 수 있었다.

Table 4. Regional distribution of bacterial spp. isolated from bovine 296 quarter CMT positive milk samples (1999. 9~ 2000. 6)

Bacterial spp.	Total	Pukchejugun	Namchejugun	Chejushi
Staphylococcus aureus	152 (51.4)	120 (55.1)	16 (50.0)	16 (34.8)
Coliform	49 (16.5)	33 (15.1)	9 (28.1)	7 (15.2)
Streptococcus dysgalactiae	47 (15.8)	31 (14.2)	5 (15.6)	11 (23.9)
Bacillus spp.	15 (5.1)	10 (4.6)	0 (0)	5 (10.9)
Staphylococcus epidermidis	8 (2.7)	8 (3.7)	0 (0)	0 (0)
Streptococcus agalactiae	6 (2.1)	4 (1.8)	0 (0)	2 (4.4)
Enterococcus faecalis	5 (1.7)	4 (1.8)	0 (0)	1 (2.0)
Corynebacterium spp.	5 (1.7)	2 (0.9)	1 (3.1)	2 (4.4)
Streptococcus uberis	3 (1.0)	2 (0.9)	1 (3.1)	0 (0)
Pseudomonas aeruginosa	1 (0.3)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)
Pasteurlla haemolytica	1 (0.3)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)
unidentified	4 (1.4)	2 (0.9)	0 (0)	2 (4.4)
Total	296 (100)	218 (100)	32 (100)	46 (100)

※( ) number in parantheses indicates the percentage

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2. 항생제 감수성 시험 결과

1) 분리 동정된 균의 항생제에 대한 내성

분리 동정된 11균종의 15종 항생제에 대한 내성출현빈도를 알고자 하는 감수성시험의 결과는 Table 5와 같이 분리균들은 gentamicin, streptomycin, polymyxin B, kanamycin, ampicillin, cephalothin 등에 감수성이 높았다. 반대로 erythromycin, penicillin, bacitracin, tetracycline, cefazolin 등의 항생제에는 내성균이 많이 생겼음을 알 수 있었다. 그 중 penicillin 내성균주가 139주 (47.0%)로 가장 많았다.

이중 주된 원인균인 *Staphylococcus aureus*는 penicillin 48.0%, tetracycline 37.5%로 높은 내성율를 나타내었으며 그 외 항생제에는 cefazolin 25.0%, bacitracin 17.8%, vancomycin 15.8%, erythromycin 13.8% 등의 내성율을 나타내었다.

*Streptococcus dysgalactiae*는 tetracycline 21.2%, streptomycin 14.9%, penicillin 14.9%로 높은 내성율을 나타내었으며 그 외 항생제에는 colistin 10.6%, ampicillin 10.6%, erythromycin 8.5%, trimethoprim/sulfamethoxazole 6.4% 등의 내성율을 나타내었다 (Table 5).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 5. 15 Drug resistances of microorganisms isolated from bovine 296 quarter CMT positive milk samples (1999. 9.~2000. 6.)

Bacterial spp. (No. of isolates)	No. of resistant bacteria (%)														
	GM	E	Pc	B	CL	N	S	PB	Sxt	K	Te	AM	CF	Va	CZ
Staphylococcus aureus (152)	8 (5.3)	21 (13.8)	73 (48)	27 (17.8)	18 (11.8)	21 (13.8)	2 (1.3)	15 (9.9)	20 (13.2)	3 (2)	57 (37.5)	10 (6.6)	3 (2)	24 (15.8)	38 (25)
Coliform (49)	1 (2)	26 (53)	41 (83.7)	31 (63.3)	0 (0)	8 (16.3)	0 (0)	5 (10.2)	9 (18.4)	0 (0)	26 (53.1)	0 (0)	0 (0)	30 (61.2)	27 (55.1)
Streptococcus dysgalactiae (47)	1 (2.1)	4 (8.5)	7 (14.9)	3 (6.4)	5 (10.6)	1 (2.1)	7 (14.9)	1 (2.1)	3 (6.4)	1 (2.1)	10 (21.2)	5 (10.6)	0 (0)	0 (0)	4 (8.5)
Bacillus spp. (15)	1 (6.7)	1 (6.7)	3 (20)	0 (0)	8 (53.3)	0 (0)	4 (26.7)	3 (20)	0 (0)	0 (0)	4 (26.7)	2 (13.3)	1 (6.7)	0 (0)	0 (0)
Staphylococcus epidermidis (8)	0 (0)	1 (12.5)	3 (37.5)	1 (12.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (25)	1 (12.5)	0 (0)	2 (25)	0 (0)	0 (0)	2 (25)	2 (25)
Streptococcus agalactiae (6)	2 (33.3)	3 (50)	3 (50)	3 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (33.3)	0 (0)	0 (0)	2 (33.3)	3 (50)	0 (0)	3 (50)	2 (33.3)
Corynebacterium spp. (5)	2 (40)	3 (60)	4 (80)	2 (40)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (40)	0 (0)	3 (60)	2 (40)	0 (0)	3 (60)	3 (60)
Enterococcus faecalis (5)	1 (20)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)
Streptococcus uberis (3)	0 (0)	0 (0)	2 (66.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (66.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Pasteurella haemolytica (1)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
Pseudomonas aeruginosa (1)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
unidentified (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	2 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total (296)	16 (5.4)	59 (19.9)	139 (47.0)	67 (22.6)	33 (11.2)	30 (10.1)	15 (5.1)	29 (9.8)	35 (11.8)	4 (1.4)	110 (37.2)	23 (7.8)	6 (2.0)	62 (21.0)	77 (26.0)

※ GM : Gentamicin
E : Erythromycin
Pc : Penicillin
B : Bacitracin
CL : Colistin
N : Neomycin
S : Streptomycin
PB : Polymyxin B
Sxt : Trimethoprim/Sulfamethoxazole
K : Kanamycin
Te : Tetracycline
AM : Ampicillin
CF : Cephalothin
Va : Vancomycin
CZ : Cefazolin

제주대학교 중앙도서관

2) 다제 내성균 출현 빈도

15종의 항생제에 대한 분리 동정된 296균주의 내성 유형과 다제 내성균 출현빈도는 다음과 같았다. 296균주 중 81주 (27.4%)는 시험에 사용된 모든 항생제에 대하여 내성을 나타내지 않았으며 215주 (72.6%)가 1가지 이상의 항생제에 내성을 나타내었다.

항생제 내성유형은 단제 내성형에서 9제 내성형까지 89개 내성형을 나타내었으며, 5가지 이상의 다제 내성형은 58주 (19.6%)이었다 (Table 6).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 6. Multiple antibiotics resistance of bacterial spp. isolated from bovine 296 quarter CMT positive mastitic milk samples

Multiplicity of resistance	Antibiotics	No. of antibiotic resistant bacteria											
		bac.	col.	cor.	pas.	pse.	aur.	epi.	aga.	dys.	fae.	ube.	unid.
1	CL	-	-	-	-	-	8	-	-	4	-	-	-
	CZ	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	K	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	N	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-
	Pc	4	-	1	-	-	7	-	-	1	-	-	-
	PB	-	2	-	-	-	5	1	-	-	-	-	-
	S	-	-	-	-	-	1	-	-	4	-	-	-
	Sxt	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Te	1	2	-	-	-	6	-	-	3	1	-	-
2	AM,CL	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	AM,N	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	B,Pc	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,PB	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CF,Pc	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	CL,PB	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	CL,S	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	CL,Sxt	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	CZ,Pc	-	3	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	CZ,PB	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E,Pc	2	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	Pc,Te	-	1	-	-	-	7	-	-	-	-	2	-
	PB,Te	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E,K	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	E,Te	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-
	S,Te	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
	Sxt,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
3	AM,CL,Pc	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	AM,Pc,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-
	B,CZ,Pc	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	B,Pc,Te	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	CL,E,PB	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	CL,S,Te	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	CZ,Pc,PB	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	CZ,Pc,Va	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	GM,Pc,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	N,Pc,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Pc,PB,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Pc,PB,Sxt	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	PB,Sxt,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 6. *continued*

Multiplicity of resistance	Antibiotics	No. of Antibiotic resistant bacteria											
		bac.	col.	cor.	pas.	pse.	aur.	epi.	aga.	dys.	fae.	ube.	unid.
	AM,B,CZ,E	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	AM,B,CZ,Pc	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	AM,CF,CZ,Pc	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	AM,CL,Pc,Sxt	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AM,CL,Pc,Te	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
	AM,CZ,Pc,Te	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,Pc	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,Te	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,Pc,PB	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,Pc,Te	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,Pc,Va	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
4	B,E,Pc,Te	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,E,Pc,Va	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	B,N,Pc,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,Pc,Te,Va	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CZ,E,GM,Pc	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	CZ,N,PB,Te	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CZ,,N,Pc,Va	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	CZ,N,Pc,Te	-	1	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-
	CZ,Pc,Sxt,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	CZ,Pc,Te,Va	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	E,Pc,S,Te	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	Pc,PB,Sxt,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	AM,B,E,Pc,Va	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	B,CZ,E,Pc,Va	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,Pc,Te,Va	-	2	-	-	-	3	1	-	-	-	-	-
	B,E,Pc,Te,Va	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
5	B,Pc,PB,Te,Va	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CF,CL,GM,Pc,PB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	CZ,E,Pc,Te,Va	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	CZ,Pc,Sxt,Te,Va	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	GM,N,Pc,Sxt,Te	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 6. *continued*

Multiplicity of resistance	Antibiotics	No. of Antibiotic resistant bacteria											
		bac.	col.	cor.	pas.	pse.	aur.	epi.	aga.	dys.	fae.	ube.	unid.
6	AM,CF,CL,CZ,K,Pc	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,N,Pc,Va	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,Pc,PB,Va	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,Pc,Te,Va	-	4	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,Pc,Sxt,Te,Va	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	B,E,N,Pc,Te,Va	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,E,Pc,Sxt,Te,Va	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CZ,E,Pc,Sxt,Te,Va	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
7	AM,CZ,K,Pc,S,Sxt,Te	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	B,CZ,E,GM,Pc,Sxt,Va	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,GM,Pc,Te,Va	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,Pc,Sxt,Te,Va	1	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
8	B,CZ,E,N,Pc,Sxt,Te,Va	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,Pc,PB,Sxt,Te,Va	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
9	AM,B,CZ,E,GM,Pc,PB,Te,Va	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
	AM,B,CZ,E,GM,Pc,Sxt,Te,Va	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,GM,N,Pc,PB,Sxt,Te	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	B,CZ,E,GM,N,Pc,Sxt,Te,Va	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Total (215)	14	46	4	1	1	112	4	3	24	2	2	2

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

※ bac. : *Bacillus* spp.
col. : Coliform
cor. : *Corynebacterium* spp.
pas. : *Pasteurella haemolytica*
pse. : *Pseudomonas aeruginosa*
aur. : *Staphylococcus aureus*
epi. : *Staphylococcus epidermidis*
aga. : *Streptococcus agalactiae*
dys. : *Streptococcus dysgalactiae*
fae. : *Enterococcus faecalis*
ube. : *Streptococcus uberis*
unid. : unidentified

3. β-lactamase 생성 *Staphylococcus* spp.

포도상구균의 β-lactamase 생성여부와 효소를 생성하는 균의 oxacillin의 내성 유무를 통하여 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*의 존재 유무를 파악하고자 하였다. 또한 Vitek (미생물분리동정기)를 이용하여 *Staphylococcus* spp.를 동정하였고 그 결과는 아래와 같았다. β-lactamase 생성능 조사를 위해서 사용되어진 2000년 1월~9월 기간동안 10개 낙농가에서 35두 48분방에서 채취된 유즙에서 분리된 균종은 *Staphylococcus aureus* 44주 (92%), *Staphylococcus warneri* 1주 (2%), *Staphylococcus auricularis* 1주 (2%), unidentified *Staphylococcus* spp. 2주 (4%)로 동정되었다. 이들 중 *Staphylococcus aureus* 17균주만이 β-lactamase를 생성하였다 (Table 7).

Table 7. Isolation of β-lactamase producing *Staphylococci* from bovine 48 quarter CMT positive milk samples (for β-lactamase productivity test)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Staphylococcus species	No. of isolates (%)	No. of β-lactamase producing bacteria
Staphylococcus aureus	44 (92)	17
Staphylococcus warneri	1 (2)	0
Staphylococcus auricularis	1 (2)	0
unidentified *Staphylococcus* spp.	2 (4)	0
Total	48 (100)	17

가장 분리빈도가 높았던 *Staphylococcus aureus*는 Table 8과 같이 각종 항생제에 비교적 높은 내성을 나타낸 반면 *Staphylococcus warneri* 와 *Staphylococcus auricularis* 는 어떤 항생제에도 저항성을 보이지 않았고 동정되지 않은 *Staphylococcus* spp. 2균주는 ampicillin, cephalothin, cefazolin에 내성을 나타내었다. 결국 유방염의 원인균으로 동정된 *Staphylococci* 48균주 중 29균주가 1가지 이상의 항생제에 대해 내성을 보였으나 MRSA를 나타내는 oxacillin 저항균주는 분리되지 않았다 (Table 8).

Table 8. Resistance of 48 *Staphylococci* isolated from bovine 48 quarter CMT positive milk samples for β-lactamase productivity test

Bacterial spp. (Total isolates)	No. of Antibiotic resistant bacteria (%)															
	AM	B	CF	CL	CZ	E	GM	K	N	OX	P	PB	S	Sxt	Te	Va
Staphylococcus aureus (44)	13 (29.5)	0 (0)	2 (4.5)	7 (15.9)	1 (2.3)	6 (13.6)	5 (11.4)	6 (13.6)	0 (0)	0 (0)	17 (38.6)	2 (4.5)	0 (0)	2 (4.5)	12 (27.3)	0 (0)
Staphylococcus warneri (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Staphylococcus auricularis (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
unidentified *Staphylococcus* spp. (2)	1 (50)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total (48)	14 (29.2)	0 (0)	3 (6.3)	7 (14.6)	2 (4.2)	6 (12.5)	5 (10.4)	6 (12.5)	0 (0)	0 (0)	17 (35.4)	2 (4.2)	0 (0)	2 (4.2)	12 (25)	0 (0)

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Penicillin 이외의 항생제에 대하여 비교적 높은 내성을 가질 수 있는 β-lactamase 생성 *Staphylococci*의 항생제 내성결과는 Table 9와 같다. β-lactamase를 생성하는 17 *Staphylococci*는 모두 Penicillin에 저항하였고 ampicillin (76.5%), tetracycline (41.2%), kanamycin (29.4%), gentamicin (23.5%) 등에도 비교적 높은 내성을 나타내었다.

Table 9. Antibiotic resistance of 17 β-lactamase producing *Staphylococci* obtained from bovine 48 quarter CMT positive milk samples

Antibiotic	No. of resistant bacteria (%)
Ampicillin	13 (76.5)
Bacitracin	0 (0)
Cephalothin	2 (11.8)
Colistin	4 (23.5)
Cefazolin	1 (5.9)
Erythromycin	2 (11.8)
Gentamicin	4 (23.5)
Kanamycin	5 (29.4)
Neomycin	0 (0)
Oxacillin	0 (0)
Penicillin	17 (100)
Polymyxin B	0 (0)
Streptomycin	0 (0)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	0 (0)
Tetracycline	7 (41.2)
Vancomycin	0 (0)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅳ. 고 찰

유방염은 자연계에 널리 분포되어 있는 세균이나 곰팡이가 젖소 유방 속에 침입하여 일으키는 병으로 젖소 질병 중 가장 많이 발생한다. 그리고 우유 중에 세균 및 체세포 수의 증가를 일으켜 유질이 저하되고 유량감소, 치료비 지출 등 경제적인 손실을 야기시킨다 (Janzen, 1970).

젖소 유방염의 원인균 중에 가장 검출빈도가 높은 세균은 Thims와 Schultz (1987)에 의해서 *Staphylococcus* species 로 알려져 있고, 본 연구 결과에서도 유방염 우유로부터 coagulase-positive *Staphylococcus*로는 *Staphylococcus aureus*가 152주 (51.4%)로 가장 많이 분리되었다. 이것은 국내에서 보고된 *Staphylococci* 균종 분리율인 고와 김 (1991)의 50.9%, 손 (1994)의 46.2% 그리고 손 등 (1997)의 45.8% 보다 다소 높은 분리율을 보였다. 특히, 손 (1994)이 보고한 *Staphylococci* 균종의 제주도지역 분포율 64.4% 보다 낮은 분리율을 보였지만 가장 많은 비중을 나타내는 균종이었다.

손 (1994)의 보고에 따르면 제주도 유방염 원인미생물 분포가 전국에서 가장 적은 미생물 분포인 7종의 원인균, 즉 *Staphylococcus aureus* (40.6%), *Staphylococcus* spp. (23.8%), *Streptococcus* spp. (10.8%), gram (+) *bacillus* (15.1%), gram (-) *bacillus* (4.8%), *E. coli* (3.2%), *Pseudomonas* spp. (1.7%)만이 분리되었으나, 본 연구에서는 11종의 원인균이 분리되어서 점점 다양한 미생물이 유방염을 일으키는 것을 알 수 있었다.

특히 1991년에서 1993년 사이 3년간 연구되어진 손 (1994)이 보고한 전국 유방염 실태보고에서 제주도만 *Streptococcus agalactiae*가 분리되지 않았었으나 본 연구에서 분포율 6%를 나타내었고 이것은 손 (1994)의 전국 분포율 7.5%와 유사한 분포를 나타내고 있었다. 또한 경기도 10.4%, 충청북도 15.8%, 전라남도 8.1%, 경상남도 11.1%의 분포율보다는 낮았으나 손 등 (1997)의 4%보다는 높은 분포율을 보였다.

여름철에 다발하며 전염성을 갖고 있는 *Corynebacterium* spp.는 앞서 보고되었던 손 (1994)의 전국적인 분포율인 1.1%, 고와 김 (1991)의 1%와 유사하였으며 손 등 (1997)의 5.2%, 이 (1980)의 5.8%와는 차이가 있었다.

Staphylococci 다음으로 가장 많은 분포율을 보인 Coliform (16.5%)의 경우는 다른 지역에서 보고되었던 손 (1994)의 12%, 손 등 (1997)의 7%, 고와 김 (1991)의 0.7%, 이

(1980)의 10%에 비하여 높은 분리율을 나타내었다. 이 결과는 유방염 예방 관리대책이 잘 시행되는 목장에서는 포도상구균, 연쇄상구균의 분리율이 낮아지고 환경에 존재하는 대장균속에 의해서 급성 전신성 유방염의 발생이 증가한다는 보고와 일치한다 (Wilton 등, 1972). 그리고 유방염 원인균인 gram 음성 간균의 중요성은 이미 보고되었다 (박, 1980). 따라서 착유 환경의 영향으로 장내 세균류에 의한 환경성 유방염이 많이 발생함을 생각할 수 있다. 이것의 강구책으로는 착유자 청결, 축사주변의 철저한 소독과 위생관리로 충분히 유방염 발생을 예방할 수 있으리라 생각된다.

본 실험에서는 나타나지는 않았으나 때로는 CMT에서 양성이지만 100% 모두 원인균을 분리할 수 없는 경우가 있다 (Philpot 등, 1974). 그 이유는 Schalm 등 (1971)이 보고한 바와 같이 비특이성 유방염이거나 Schalm과 Lasmanis (1968)가 보고한 대로 우유내 식균작용에 기인한다. 그러나 한편으로는 유즙채취시 이미 고농도의 항균제가 사용되었다면 균의 분리시 원인균을 분리하지 못할 경우도 있을 것이다.

원인균의 분포상태는 목장, 분리방법, 분리연도 등에 따라서도 상당한 차이가 있음이 보고된 바 있다 (김 등, 1992). 이것은 환경과 사양조건이 다소 다르기 때문에 분리되는 균도 다양한 것으로 생각된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

15종의 항생제중 gentamicin, streptomycin, polymyxin B, kanamycin, ampicillin, cephalothin등에 감수성이 높았고 반대로 penicillin, bacitracin, tetracycline, cefazolin 등의 항생제에는 내성균이 많이 생겼음을 알 수 있었다. 이것은 손 (1982), 김 (1998), 손 등 (1997), 손 (1994) 등에 의하면 유방염의 원인균들은 gentamicin, kanamycin, ampicillin, cephalothin에 감수성이 높았고, penicillin에 내성율이 높았다고 보고한 결과와 일치하였다.

본 실험에서는 penicillin 내성균주가 139주 (47%)로 가장 많았다. 또한 *Staphylococcus aureus*의 경우에는 penicillin, tetracycline에 대한 내성율이 각각 48%, 37.5%로서 이들 약제의 남용이 큰 문제점으로 대두되고 있다. 따라서 앞으로 내성율이 낮고 쉽게 구입이 가능한 gentamicin 이나 kanamycin의 항생제를 치료에 사용함으로써 치료효과뿐만 아니라 경제적인 손실을 덜 수 있지 않을까 생각된다.

분리균의 내성유형은 단제 내성형의 경우 9개형으로서 colistin에 대하여 2속균의 12주, penicillin에 대하여 4속균의 13주 그리고 tetracycline에 대하여 5속균의 13주가 내성을 보여 비교적 다양한 속균들이 penicillin과 tetracycline에 내성을 나타내었다. 2제

내성형에서는 17개형으로서 대부분 1균주가 한가지의 2제 내성유형을 보였으나 CZ, Pc는 2속의 5주, E, Pc는 3속의 6주 그리고 Pc, Te는 3속의 10주가 속하고 있었다. 3제 내성형은 13개형으로서 하나의 내성형은 1균주와 2균주만을 포함하였다. 4제 내성유형은 총 23개형으로서 CZ, N, Pc, Te 형이 2속의 5균주로서 가장 높았고 그 외에는 1균주에서 3균주를 포함하는 다양한 내성유형을 나타내었다. 5제와 6제 내성유형은 각각 9개 및 8개형으로서 1균주가 하나의 내성형에 나타내는 것보다 2주에서 5주의 균이 하나의 내성형을 보이는 예가 많았다. 7제, 8제 내성형은 각각 4개 및 2개형으로서 B, CZ, E, Pc, Sxt, Te, Va형은 3속의 4주가 속하였고 다른 3가지의 7제 내성유형은 1주씩이 속하였다. 2가지의 8제 내성유형에는 3균주 및 2균주가 포함되었고 본 실험에서 가장 많은 종류의 항생제에 내성을 보였던 9제 내성유형은 4가지형으로 나타났고 4가지의 9제 내성유형 중 3 가지 유형이 2균주씩을 포함하였다. 이것은 손 (1982)이 보고한 포도상구균의 9제 내성형 결과와 유사하였고 김 (1998)이 보고한 포도상구균의 14제 내성형보다는 그 종류가 적었다.

이상에서 본 바와 같이 내성유형의 종류는 4제 내성유형이 가장 다양하게 나타났고 여러 균주가 하나의 내성유형을 보이는 경우에는 단제에서 높은 분포를 보인 Pc와 Te의 경우가 많았다. 또한 본 실험에서는 포도상구균 외에 9제의 내성유형을 보이는 coliform, *Corynebacterium* spp. 그리고 *Streptococcus agalactiae*가 분리되어 보다 다양한 균들이 여러 치료제에 동시에 내성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 이와 같이 다양한 내성유형은 유방염의 원인균이 어떤 한 속균의 동일 주에 의해 일어나는 것이 아니라 여러 병원체로 인해 발생되며 비록 한속의 동일주가 여러 개체에 감염되더라도 각 농가의 치료약제의 종류나 사용방법에 따라 다양한 내성균을 출현시킬 가능성이 높다고 생각된다.

또한 치료제에 대한 내성이 높아지고 다제 내성균주의 출현빈도가 많아지는 것은 사람뿐만 아니라 동물에서도 임상진료와 공중 보건 위생에 많은 문제를 일으키고 있는 실정이다. 이것은 앞으로도 계속될 것이라 생각한다. 그러므로 유방염 치료는 물론 예방관리대책을 위해서 계속적으로 유방염 치료제에 대한 내성파악이 필요하다 (손, 1982). 그리고 유방염 치료시에는 이론과 현실이 맞지 않는 경우가 많이 있다. 이론적으로 볼 때 어떠한 시험관내에서의 시험성적이라도 현실적으로는 생체내에서 일어날 수 있는 각종 여건과 이것들이 미칠 수 있는 요인이 많기 때문에 치료에 적용시 기대

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

되는 효과가 안 나타날 수도 있다는 보고가 있었다 (Cheatle, 1967). 실제 유방염 치료제의 선택시 실험실내에서 유방염 원인균의 약제에 대한 내성은 penicillin의 경우 64.3%였는데 생체내에서 약제내성은 10.3%로 생체내 치료효과가 89.7%로 감수성이 높게 나타났다는 보고가 있었다 (손, 1982).

이에 따라 향후 제주도내 유방염 원인균에 대한 항생제 감수성 조사시 실험실내와 생체내의 실험결과를 비교할 수 있는 연구가 필요하며 그 결과에 따라 적절한 치료방법을 제시할 수 있으리라 생각한다.

β-lactamase 생성시험은 시험한 48균주중 1가지이상의 항생제에 내성을 나타내는 것은 *Staphylococci* 29주였고 그 중 17주가 β-lactamase positive 이였으며, 이는 박 (1984)의 70.7%, Jones 와 Health (1985)의 66.1%, 김 (1989)의 67.1%와 유사하였다. 이러한 β-lactamase positive균들은 penicillin계의 항생제에 내성을 나타내어 penicillin계 단일제제가 아닌 복합제제의 사용을 불가피하게 하여 내성균들을 더욱 증가시킨다고 보고되었다 (Huber, 1977).

1960년대에는 penicillinase에 의해 분해되지 않는 페니실린계 항생제인 methicillin과 같은 항생제가 개발 사용되었으나 내성 포도상구균이 나타나기 시작하였다. 병원에서 항생제 내성균으로 문제시 되고있는 MRSA균주는 *Staphylococcus aureus* 49주중 13주 (26.5%)가 oxacillin에 내성을 나타내었다는 보고가 있었다 (김, 1998).

본 연구에서는 methicillin과 같은 계열의 oxacillin을 이용하여 내성유무를 파악한 결과 48주 모두 감수성을 나타내어서 MRSA균주는 나타나지 않았다. 그러나 향후 계속적인 조사가 필요할 것이다.

MRSA균주 출현을 관찰할 수는 없었지만 최근 문제시 되고있는 vancomycin 저항균주의 출현은 제주도내에서 항생제의 남용으로 자칫 큰 문제를 야기시킬 수도 있음을 암시한다. 또한 항생제 감수성결과에서 보는 바와 같이 주 원인균이 되고 있는 *Staphylococcus aureus*의 경우 사용된 16종의 약제 중 penicillin에 높은 내성을 보임을 알 수 있었다. 16종의 약제 중 일부는 낙농가들이 별도의 항생제 감수성검사 없이 유방염치료에 쓰는 경우가 대부분이다. 따라서 내성균출현은 증가될 것으로 예상된다. 이런 내성균 출현을 예방하기 위해서는 농가지도 뿐만 아니라 실험실적 진단만으로 끝내는 항생제 감수성검사를 농가현장에 응용할 수 있도록 검사 기관의 노력과 농가의 협조가 필요하다고 생각한다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅳ. 결　　론

원유에서 분리된 유방염 원인균의 분리현황 및 치료제의 내성양상을 파악하기 위하여 1999년 9월부터 2000년 6월까지 제주도지역 목장 40개 낙농가의 California Mastitis Test (CMT)결과 양성반응을 나타낸 젖소 206두 296분방의 유즙을 채취하여 검사하였다. β-lactamase 생성시험용의 경우 *Staphylococci*의 β-lactamase 생성능 및 MRSA 존재를 확인하기 위하여 2000년 1월~9월까지 10개 목장으로부터 채취된 CMT 양성인 원유를 검사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

젖소를 사육하는 40개 낙농가 206두 296분방의 CMT 양성 유즙에서 분리된 균종은 11종이었고 *Staphylococcus aureus* 152주 (51.4%), Coliform 49주 (16.5%), *Streptococcus dysgalactiae* 47주 (15.8%), *bacillus* spp. 15주 (5.1%), *Staphylococcus epidermidis* 8주 (2.7%), *Streptococcus agalactiae* 6주 (2.1%), *Enterococcus faecalis* 5주 (1.7%), *Corynebacterium* spp. 5주 (1.7%), *Streptococcus uberis* 3주 (1%), *Pseudomonas aeruginosa* 1주 (0.3%), *Pasteurella haemolytica* 1주 (0.3%), unidentified 4주 (1.4%)으로 나타났다.

원인균에 대한 치료제의 내성 양상은 15종의 항생제중 kanamycin (98.6%), cephalothin (98%), streptomycin (94.9%), gentamicin (94.6%), ampicillin (92.2%), polymyxin B (90.2%) 등에 감수성이 높게 나타났고 반대로 penicillin (47%), tetracycline (37.2%), cefazolin (26%). bacitracin (22.6%), erythromycin (19.9%) 등의 항생제에는 내성균이 많이 나타났다.

다제 내성균 출현빈도는 296균주 중 81주 (27.4%)은 시험에 사용된 모든 항생제에 대하여 내성을 나타내지 않았으며 단제 내성형에서 9제 내성형까지 89개 내성형을 나타내었고, 5제 이상의 다제 내성형은 58주 (19.6%)이었다.

β-lactamase 생성능 조사결과 β-lactamase 양성율은 17/48 (35.4%)로 나타났고 MRSA는 검출되지 않았다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

V. 참 고 문 헌

Abildgaard, 1967. The diseses of the mammary gland of domestic animals. W.S. Saunders Co. Philadelphia and London, pp.113-118.

Anderson, K.L., Smith, A.R., Gustafsson, B.K., Spahr, S.L. and whitmore, H.L., 1982. Diagnosis and treatment of acute mastitis in a large dairy herd. *J.A.V.M.A.*, 181(7) : 690-693.

Barber M., 1948. Infection by penicillin Resistant staphylococci. Lancet ii, pp.641-644.

Cheatle, E. L., 1967. The single disk sensitivity test using a zone size chart. *Am. J. Clin. Path.*, 48(6) : 603-604.

Coello, R., Glynn, J.R., Gaspar, C., Picazo, J.J. and Fereres, J., 1997. Risk factors for developing clinical infection with methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) amongst hospital patents only colonized with MRSA. *J. hospi. Inf.*, 37 : 39-46.

Cotter, L., Lynch, M., Cryan, B., Greer, P., and Fanning, S., 1997. Invesigation of a methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) outbreak in a Trish hospital: Triplex PCR and DNA amplification fingerprinting. *J. Hospi. Inf.*, 36 : 36-47.

Cowan ST, 1974, Cowan and steel's manual for the identification of medical bacteria. Cambrige Uni. Press. London., 238pp..

Cox, R.A., and Conquest, C., 1997. strategies for the management of healthcare staff colonized with epidemic methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. *J. Hospi. Inf.*, 35 : 117-127.

Devriese L.A., and keyser, H.D., 1980. Prevalence of different species of coagulase -negative *staphylococci* on teats and in milk samples from dairy cows. *J. Dairy Res.*, 47 : 155.

Dodd, F.H., Westgarth, D.R. and Griffin, T.K., 1977. Strategy of mastitis control.

제주대학교 중앙도서관

J.A.V.M.A., 170. 10(2) : 1124-1128.

Elmer W. Koneman, Stephen D. Allen, U.R. Dowell, Jr., Herbert M. Sommers, 1979 , Color Atlara and Textbook of diagnostic microbiology. J.B. LIPPIN COTT COMPANY, 495pp..

Fox, L.K., Nagy, J.A., Hiller, J.K., Cronrath, J.D., Ratkowsky, D.A., 1991. Effects on postmilking teat on the colonization of S. aureus in chapped teat skin. *Am. J. Vet. Res.*, 52 : 799.

Fank, Glage, 1967, The disease of the mammary gland of domestic animals. W.S. Saunders Co. Philadelphia and London. pp.113-118.

Hoblet, K.H., G.D. Schnitkey, D. Arbaugh, et. al., 1991. Costs associated with selected preventive practices and with episodes of clinical mastitis in nine herds with low somatic cell counts. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 199(2) : 190-196.

Huber, W.G., 1977. Antibacterial Drug Effectiveness Against Mastitis pathogens. *J.A.V.M.A.*, 170(10) : 1182-1184.

Janzen., J.J., 1970. Economic losses resulting from mastitis. *J. Dairy sci.*, 53(9) : 1151-1161.

Jones, T.O., and Health, P.J., 1985. β-lactamase production in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk. *Vet. Record.*, 117 : 340.

McDonald, J. S., 1970. Prevention of intramammary infections by milking time hygine. *Am. J. Vet. Res.*, 31 : 233.

Mercer, H.D., 1971, Principles of mastitis Chemotherapy. Nat. Mastitis Coun. INC pp.30.

Morris, R.S., 1971. Economic aspects of diseases control programes for dairy cattle. *Aust. Vet. J.*, 47 : 358-363.

Newman, L.E. and Kowalski, J.J., 1973. Fresh sawdust bedding a possible source of Klebsiella organisms. *Am. J. Vet. Res.*, 34 : 979

National Committe for Clinical Laboratory Standards. 1993. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically : National Committe for Clinical Laboratory Standards document M7-A2. Villanova, PA.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Pearson, J.K.L., Greer, D.O., Spencer, B.K., McParland, P.J., McKinley. D.L., Dunlop, W.L. and Achson, A.W., 1972. Factors involved in mastitis control : A comparative study between high and low incidence herds. *Vet. Rec.*, 91 : 615-624.

Philpot, W.N., Burch, C.W., Guss, S.B., Hicks, J.W. and Schultz, D.W., 1974. Mastitis treatment guidlines for dairyman. Nat. Mastitis Coun. INC. Washington, D.C. U.S.A.

Schalm, O.W. and Lasmanis, J., 1968. The leukocytes. Origin and function in mastitis. *J.A.V.M.A*,, 153(12) : 1688-1694.

Schalm, O.W. and Noorlander, D.O., 1957. Experiment and observations leading to development of the California mastitis test. *J.A.V.M.A.*, 130(5) : 199-209.

Schalm, O.W. Carrol, E.J. and Jain, N.C., 1971, Bovine mastitis. Lea and Febiger. Philadelphia, U.S.A., pp.6-7.

Torgerson, P.R., Gibbs, H.A., Anderson, D.B., 1992. High incidence of clinical mastitis due to *staphylococcus aureus* in two diary herds with low milk cell counts. *Vet. Rec.*, 130 : 54-55.

Trees, D.L., Iandolo, J.J., 1988. Identification of a *staphylococcus aureus* Transposon (Tn4291) that carries the methicillin Resistance Gene(s). *J. Bacteriol.*, 170(1) : 149-154.

Thims, L.L., Schultz, L.H., 1987. Dydamics and significance of coagulase negative *Staphylococcus* intramamary infections. *J. Dairy Sci.*, 70 : 2648-2657.

Wilton, J.W., Van Vleck, L.D., Everett, R.W., Guthrie, R.S. and Roberts, S.J., 1972. Genetic and environmental aspects of udder infections. *J. Dairy Sci.*, 55 : 183-193.

김두, 1988, 유우의 임상형 유방염 원인균과 항생제 감수성의 변화양상, 대한수의학회지, 28(2) : 397-404.

김신, 1998, 유방염 우유의 포도상구균 감염상 및 항생제내성, 안동대학교대학원 석사논문.

김종만, 정석찬, 이지연, 서옥석, 박정문, 1992, 젖소의 유방염 원인균 및 항생제 감수

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

성의 변화양상조사. 한국수의공중보건학회지. 16(1) : 7-13.

김종염, 주이석, 문진산, 임숙경, 장금찬, 류태선, 박하종, 이재진, 1998, 유방염관리를 통한 고품질 우유생산 기본전략, 농림부 국립수의과학검역원, pp.94~95.

김혜레나, 1989, 경기지역 젖소 유즙유래의 *Staphylococci*에 관하여, 경북대학교 대학원 석사논문.

고광수, 김두, 1991, 강원지역의 젖소 유방염 감염율 및 원인균에 관한 연구, 한국임상수의학회지 8(1) : 47-51.

라진주, 강병규, 1975, 전남지역 유우 유방염의 역학적 조사연구. 1. 원유중의 세균수 및 유방염진단. 대한수의학회지, 15(1) : 83-91.

박청규, 1984, 젖소유방유래포도구균에 관한연구Ⅲ, 분리균주에 대한 penicillins 및 Gentamicin의 항균효과. 대한수의학회지, 24(2) : 163-168.

박청규, 1980, 젖소 유방염유래 gram 음성간균의 약제감수성, 대한수의학회지. 20(1) : 53.

손봉환, 1994, 유방염 감염조사 및 예방대책에 관한 연구(최근 3년간('91-'93) 유방염 발생실태에 관한 최종 보고서). 한국가축위생학회 단행본, 189pp.

손봉환, 최진영, 배도권, 정충일, 1997, 유질 개선을 통한 낙농가 소득증대, 한국가축위생학회지, 20(3) : 261-279.

손봉환, 1982, 젖소 유방염 원인균의 치료제 내성에 관한 연구, 건국대학교대학원 농학박사학위논문.

신현성, 1988, 최신 일반 미생물학 실습, 고려의학 출판사, 서울, 407pp..

이채용, 1980, 도태 유우에 있어서의 유방염에 관한 세균학적 연구, 전남대학교대학원 수의학석사학위논문.

임헌길, 강헌, 한유진, 김수영, 강연숙, 육동인, 이경원, 정윤섭, 박기호, 김의종, 이형환. 1997. Polymerase Chain Reaction 에 의한 Methicillin-Resistant *staphylococcus* mecA유전자의 신속동정과 클로닝, 대한 미생물학회지, 32(1) : 135-150.

장현규, 1988, *Staphylococcus aureus*의 항생제 내성에 관하여, 조선대학교 대학원 석사논문.

정창국, 한홍율, 정길택, 1970, 우리 나라 젖소 유방염 원인균의 역학적 조사 및 치료에 관한 연구, 대한수의학회지, 10 : 39-45.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY