

젖소乳房炎由來 Staphylococcus群의 抗菌性製劑에 대한 感受性試驗

金 教 準

忠南大學 校農科大學獸醫學科

李 洙 基

忠南大學 校大學院

I. 緒 論

酪農經營에 있어 문제시되고 있는 乳房炎은 現今에도 그 發生頻도가 좀처럼 줄어들지 않고 있다. 發生원인에 관해서는 많은 요인이 관여하고 있으나 微生物, 특히 細菌類가 주종을 이루고 있음은 周知의 사실이다. 이에 대하여 抗菌性物質(抗生劑, Sulfa劑, Furazolidone 誘導體, 등)이 사용되어 왔으나¹⁾ 長期에 걸쳐 濫用과 誤用으로 이것이 乳汁內에 이행, 殘留하게 되어, 人畜의 보건 위생상 많은 장애를 주었고 치료법의 잘못으로 만성화되는 등 막대한 경제적 손실을 가져 왔었다. 이에 대하여 여러學者, 임상가들이 많은 노력을 경주하여 해결책을 강구하고 있으나 적절한 방안을 수립하지 못하고, 임의로 선택하여 사용한 抗菌性物質에 의하여 細菌의 내성만 助長하고 있는 실정이다.¹²⁾

치료에 있어 原因菌의 감수성시험을 통하여 가장 민감한 약제를 선택해야함은 너무나 명백한 일이지만 그 術技가 어려워 널리 보편화하기에는 무리한 점이 없지 않다.^{13, 14, 15)}

지금까지의 보고에 의하면 抗生物質에 대한 感受性^{5, 13-15)} 또는 耐性試驗^{4, 9)}에 관해서는 많은 발표가 있었으나, 이들은 단지 單一製劑에 대한 시험이 대부분이었고 실제로 사용되고 있는 처방된 抗菌製劑에 대한 試驗報告는 별로 없는 것으로 알고 있다. 필자들은 이점에 着眼하여 여

기에 대한 기술을 습득하고 방법을 간편하게 함은 물론, 보다 개선된 방법을 제시하여 啓蒙指導할 목적으로 乳房炎由來 Staphylococcus 群의 市販抗菌性製劑에 대한 감수성 시험을 실시하였던 바 이 결과를 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

가. 材 料

A. 試驗對象牛: 1981년 7월 2일부터 同年 10월 31일 사이에 大田市 近郊 18개의 목장에서 搾乳牛 167두를 대상으로 C.M.T法¹¹⁾에 의해 乳房炎診斷을 실시하고 양성우 86頭の 151分房으로부터 乳汁을 無菌의으로 채취하여 실시하였다.

B. 供試抗菌性製劑: 處方된 治療製劑를 成分과 含量別로 分類하여 사용하였으며,

C. 培地: Nutrient Agar (Fisher Scientific co., U. S. A.)를 사용하였으며 그 조성은 Table 2.와 같다.

Table 2. Composition of Nutrient Agar

Composition	Contents (g/liter)
Peptone	5.0
Beef Extract	3.0
Agar	15.0

D. Paper Disc : 직경 8mm, 두께 1.2mm의 것을 사용하였다. (Toyo Roshi co., LTD, JAPAN)

나. 방법

A. 菌의 分離 : Nutrient Agar 23g를 蒸溜水 1,000ml에 녹여 멸균시켜 만든 平板培地에 乳汁 0.2ml를 均등하게 塗抹 한 다음 37°C에서 24시간 배양하였으며, 集落의 形状과 Gram染色의 性狀에 따라 葡萄状球菌 7株를 純粹分離하여 斜面培地에서 1晝夜 培養하였으며 이를 冷蔵庫에 보관하면서 실험에 供하였다.

B. 感受性 試驗 : Petri dish에 Nutrient Agar培地를 約 10ml 넣어 平板基礎培地를 만든 다음 Broth液에 培養한 種菌浮遊液(菌液)을 0.2 ml씩 가한 種菌增殖培地를 平板基礎培地위에 重層으로 被覆하여 굳힌 다음 Disc法³⁾ (慣行法에 準함)에 의하여 18~20시간 培養하였다. 이때 發育抑制環의 直徑을 측정하여 Table 3.과 같은 기준에 의하여 判定하였다.

Legends for Figures

Comparison of Inhibitory Zones in the Sensitivity Test of Staph. aureus for Antibacterial Agents. (On Nutrient Agar, at 37°C, for 18 hours)

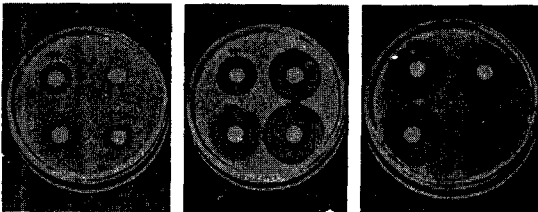


Table 3. Detection Criteria of Sensitivity Test.

Item	Reaction of Sensitivity Test				
	Negative	Suspect	Positive		
Diameter of Inhibitory Zone (mm)	0	8 - 9	10 - 15	16 - 25	26 -
Degree	-	±	+	++	+++

III. 結 果

Staphylococcus群 7株(Gram陰性 5株, 陽性 2株)에 대한 감수성 시험성적은 Table 4에 나타낸 바와 같이 全藥劑에 대해 감수성을 보인 것은 3株(No. 3, 5, 7)였고, 그 다음으로 2株(No. 1, 6)는 14個製劑, 1株(No. 2)는 13, 나머지 1株(No. 4)는 4個製劑에 대해 감수성을 보였다.

Staphylococcus Gram陰性인 5株에 대한 感受性試驗 결과는 Table 5.에서 보는 바와 같이 No. 4株를 제외한 4株가 Masti Ointment 등 9個製劑에 대해 +以上の 感受性을 나타내었고, No. 4株는 Rifamastene, 1個製劑에 대해서만 감수성을 보였다.

Staphylococcus群의 Gram陽性인 2株에 대한 感受性 試驗結果는 Table 6.에서 나타낸 바와 같이 No. 6, 7株 모두 Neomasti Ointment 등 8個製劑에 걸쳐 ++내지 +++의 銳敏한 感受性을 보였다.

Staphylococcus群 7株에 共히 銳敏한 反應을 한 抗菌性製劑는 Table 7.에 나타난 바와 같으며, No. 1, 2, 3株는 Neomasti 등 6個製劑에 대해 +내지 ++의 감수성을 나타냈고, No. 5, 6, 7株는 上記 6個製劑에 대해 ++내지 +++의 강한 感受性을 보였다. 그러나 No. 4株는 Rifamastene에만 ++의 감수성을 나타냈을뿐 다른 약제에 대해서는 微弱한 反應을 나타냈다.

IV. 考 察

乳房炎 原因에 관련있는 菌種은 현재까지 많

Table 4. Sensitivity Test of Staphylococcus group for Antibacterial Agents

Antibacterial Agents (Ointment))	Reaction of Sensitivity Test						
	Staphylococcus group						
	Gram - Negative					Gram - Positive	
	1	2	3	4	5	6	7
Masti	+	++	++	±	++	±	++
Neo-Masti	+	+	++	±	+++	++	++
Premy	++	+	+	±	+++	++	++
Combisee	++	++	+++	+	+++	+	++
Tardomyocel-L	+	++	+	+	++	+++	+++
Mastalone	++	++	++	+	++	++	++
Spira-Masti	++	++	++	±	++	+	++
Gentamicin	+	+	+	±	+	+	+
Olbenin-DC	+	+	+	-	+	+	++
Olbenin-QR	+	+	+	±	+	+	+++
Super Cryozol	+	±	+	±	++	+	++
Neo-Cillin	+	+	++	±	+	++	++
Rifamastene	+	+	++	++	++	++	++
Abimastin-100	±	±	+	±	+	++	++
Special Formula	++	++	++	±	++	++	+++

Table 5. Results of Sensitivity Test in Gram-Negative Staph group

Antibacterial Agents (Ointment)	Reaction of Sensitivity Test				
	Strains				
	1	2	3	4	5
Masti	+	++	++	±	++
Neo-Masti	+	+	++	±	+++
Premy	++	+	+	±	+++
Combisee	++	++	+++	+	+++
Tardomyocel-L	+	++	+	+	++
Mastalone	++	++	++	+	++
Spira-Masti	++	++	++	±	++
Rifamastene	+	+	++	+++	++
Special Formula	++	++	++	±	++

이 알려져 있으며,^{6,7,8,15)} 連鎖狀球菌을 위시해서 大腸菌 등은 抗菌性 物質에 敏感한 感受性を 나타내고 있지만, Staphylococcus菌은 감수성이 銳敏한 反面에 쉽게 耐性を 獲得하는 傾向이 있어 問題로 대두되고 있음이 보고되고 있다.^{7,8,15)}

필자 등은 이 점에 착안하여 Staphylococcus

群 7株의 현재 시판하고 抗菌製劑에 대한 感受性試驗을 실시하였던 바 Table 4.에 나타난 것과 같이 No.1株는 Premy의 4個製劑에 대해, No. 2株는 Masti의 5製劑, No.3株는 Combisee의 7製劑, No.5株는 Neomasti의 9製劑, No. 6株는 Tardomyocel-L의 7製劑, No.7株는

Table 6. Results of Sensitivity Test in Gram-Positive Staph group

Antibacterial Agents (Ointment)	Reaction of Sensitivity Test	
	Strains	
	6	7
Neo-Masti	++	++
Premy	++	++
Tardomyocel-L	+++	+++
Mastalone	++	++
Neo-Cillin	++	++
Rifamastene	++	+++
Abimasten-100	++	++
Special Formula	++	+++
Masti	+	++
Olbenin-QR	+	+++

Special Formula의 13個製劑에 대해 ++ 이상의 예민한 感受性を 나타냈으며 No.4株는 Rifamatene 1個製劑에 대해서만 銳敏한 反應을 보였고, 나머지 製劑에는 陰性 및 微弱한 陽性 反應을 나타내었다. 乳房炎 治療에 있어서 적어도 ++이상의 陽性反應을 나타내는 抗菌性製劑를 사용하고, +이하의 것은 바람직하지 못하다. 陰性 또는 微弱한(+이하) 反應을 나타낸 菌株는 이미 抗菌製劑의 洗禮를 받아 耐性이 생겼거나 遺傳的으로 抵抗力이 강한 菌株라 생각되며, 이런 점으로 미루어 보아 치료에 앞서 感受性 내지 耐性試驗을 통하여 綿密히 檢討한 후 실시하는 것이 바람직하다고 생각된다.

Table 5.에서 보는 바와 같이 5菌株들은 모두 Gram染色法에 의하여 陰性이었고 鏡檢所見에서 제각기 다른 形狀을 보였으며 感受性에서도 서로 다른 結果를 나타내고 있다. Staphylococcus는 元來가 Gram陽性菌으로 알고 있으나, 本試驗에서는 意外로 陰性인 菌株가 많은 것은 Buxton. A 등이 말하는 바와 같이 陳舊한 培養株에는 쉽게 脫色하고 陰性으로 되는 傾向이 있다고 하였다. 이점에 대하여는 앞으로 究明해 볼 일이라 생각된다.

그리고 筆者들은 供試菌株가 由來된 牧場을 對象으로 抗菌製劑의 사용여부에 관하여 追跡調査한 結果, 乳汁를 採取하러 가기 전부터 많은 製劑를 사용하였음을 알게 되었고 그 頻度가 많을수록 感受성이 低下되고 耐性이 강해진다는 것을 指摘할 수 있었다. 특히 No.4株의 경우는 그 심한 예라 할 수 있다. 이런 점으로 미루어 볼 때 感受性試驗을 先行하는 것이 合理的이지만¹⁰⁾ 이 試驗方法이 어려워 一般化되지 못하였기 때문에 過去로부터의 盲目的인 方法에만 의존하여 抗菌製劑를 濫用 또는 誤用하였고, 또 同一製劑를 持續的으로 사용하여 原因菌에 대하여 耐性を 더욱 助長시킨 것으로 생각된다.

堂本은⁴⁾ 耐性に 있어서 同一菌種이라 하더라도 地域에 따라 또는 牧場, 環境 등 衛生條件에 따라 耐性獲得에도 많은 차이가 있다고 하였다. 그리고 孫 등¹³⁾에 따르면 耐성이 생기는 機轉으

Table 7. Results of Sensitivity Test in Gram-Negative and Positive Staphylococcus group

Antibacterial Agents (Ointment)	Reaction of Sensitivity Test						
	Strains						
	Gram-Negative					Gram-Positive	
	1	2	3	4	5	6	7
Neo-Masti	+	+	++	±	+++	++	++
Premy	++	+	+	±	+++	++	++
Tardomyocel-L	+	++	+	+	++	+++	+++
Mastalone	++	++	++	+	++	++	++
Rifamastene	+	+	++	++	++	++	+++
Special Formula	++	++	++	±	++	++	+++

로서 penicillin, chloramphenicol 처럼 penicillinase 와 같은 酵素에 의해 抗菌性物質이 변질하거나, Erythromycin 등과 같이 菌이 ribosome의 변화에 의하여 抗菌性物質의 蛋白質合成阻害作用을 받지 않게 되거나, tetracycline 등과 같이 細菌膜의 透過性 減少에 의하여 耐性이 생기는 것 등이 있다고 하였다.

Table 6.에서 보는 바와같이 No. 6, No. 7株가 共に 예민한 反應을 보여 恰似 同一菌株로 볼 수도 있으나, Masti와, Olbenin-QR에서 각각 다른 反應을 나타냈으며 또한 顯微鏡的 所見도 뚜렷한 差異가 있어, 兩株는 別個의 菌株임을 알게 되었다. 前述한 Gram陰性株에서와 마찬가지로 対象牧場을 追跡調査한 結果, 이들은 多年間의 經驗으로 乳房炎이 發生하면 우선 大學이나 研究所 등에 의뢰하여 感受性 또는 耐性試驗을 거쳐 합리적인 治療를 실시하여 왔으며, 이에 대하여 깊은 관심을 가지고 있는 목장임을 알게 되었다. 본 Gram陽性菌群에서는 없었지만 耐性菌株나 抵抗株가 감염하였을 경우는 감수성 시험을 통하여 아직 영향을 받은 바 없는 강한 抗菌性物質을 선택하여 수일 간격으로 交替, 使用하는 것이 합리적인 治療방법이라 생각된다.

V. 要 約

大田市 近郊의 18個 牧場에서 搾乳牛 167頭를 対象으로 C. M. T.法에 의해 乳房炎檢査를 실시하여 陽性牛의 乳汁로부터 Staphylococcus 7株를 分離하였다. 이를 乳房炎治療에 있어 보다 改善된 対策을 講究하기 위하여 市販되고 있는 15種의 抗菌性製劑에 대한 感受性試驗을 실시한 바 그 成績을 다음과 같이 要約한다.

1. 分離된 Staphylococcus群에 있어 No. 3, 5, 7株는 全抗菌性製劑에, No. 1, 6株는 14製劑에, No. 2株는 13製劑에, No. 4株는 4製劑에 대해서 感受性を 나타냈다.

2. 같은 抗菌性製劑를 持續적으로 使用하거

나, 多數製劑를 使用할 경우 그 頻度가 잦을 수록 感受性이 弱해지는 동시에 耐性이 形成되었다.

3. 乳房炎 발생에 있어 抗菌性製劑에 대한 感受性試驗을 先行實施함으로서 治療法을 合理的으로 改善할 수 있을 것이다.

4. 抗菌性이 강한 製劑를 選定하여 자주 交替使用하는 方法을 勸奨하고자 한다.

《參考文獻》

1. Aronson, A. R.: The use, misuse and abuse of antibacterial agents. M. V. P. (1975) 56:383.
2. Buxton, A. and G. Fraser: Animal Microbiology, Black Well Scientific Publication, Oxford London, First Published 1977
3. Cheatele, E. L.: The single disk sensitivity test using a zone size chart. Am. J. Clin. Path. (1967) 48:603.
4. 堂本憲司, 浜田義雄, 久米常夫: 牛의 乳房炎乳汁 由来 Staphylococcus aureus의 藥製耐性, 家畜衛生試驗場 研究報告 (1976) 73:14.
5. 韓弘栗, 鄭吉澤: 乳牛乳房炎原 Staphylococcus aureus의 各種 化學療法劑에 대한 感受性試驗, 大韓獸醫學會誌 (1972) 12(1): 85.
6. 久米常夫: Enterobacteriaceae에 의한 牛의 乳房炎, 畜産의 研究(1977) 31: 15.
7. 鄭昌國, 韓弘栗, 鄭吉澤: 우리나라 젖소 乳房炎原因菌의 疫學的 調査 및 治療에 關한 研究, 大韓獸醫學會誌(1970) 10(1): 39
8. 金鍾冕, 郭澤勳: 全北地方 젖소의 異常乳 發生狀況과 原因菌에 關한 研究, 大韓獸醫學會誌(1975) 15: 315.
9. 金鍾冕, 宋熹鍾, 郭澤勳: 生乳에서 分離된 葡萄球菌의 藥劑耐性, 大韓獸醫學會誌(1979) 15: 143.
10. 金敎準: Micrococcus pyogenes Var aureus에 의한 乳山羊의 壞疽性乳房炎에 關한 臨床學的 研究, 忠南大學校 農業技術研究報告(1976) 3(1): 85.
11. 清水龜平次, 小野齊: 乳牛의 乳房炎, 明文書房, 東京 (1974) P. 103~104.
12. 손봉환, 김효민, 정응환, 김수장: 京畿道 地域의 乳牛乳房炎에 關한 調査(1), 大韓獸醫學會誌(1974) 15: 69.
13. 손봉환, 김효민, 한용주, 정응환, 김수장: 京畿道 地域의 乳牛乳房炎에 關한 調査(4), 大韓獸醫學會誌(1975) 15: 101.
14. 孫奉煥: 京畿道 地域의 乳牛乳房炎에 關한 調査(5), 大韓獸醫學會誌(1976) 12: 109.
15. 石瑚峰, 李鉉洙: Lancefield grouping에 의한 乳房炎由來 Staphylococcus의 同定과 抗生物質에 대한 感受性調査, 大韓獸醫學會誌(1975) 15: 69

Sensitivity Test of Staphylococcus group in Dairy Cows for Antibacterial Agents.

Kyo Joon Kim, D. V. M., M. S., Ph. D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture,
Choong Nam National University

Soo Kee Lee, B. Agr.

Graduate School, Choong Nam National University

Abstract

The author carried out mastitis test by California Mastitis Test method (C. M. T.) for the milk from the 167 dairy cows in Tae Jeon suburbs, and then isolated 7 staphylococcus strains from C. M. T. positive milk.

Since the present studies were undertaken to improve treatment of mastitis, we performed sensitivity tests of staphylococcus for the 15 commercial agents.

The results obtained were summarized as follows;

1. While strain No. 3, 5 and 7 isolated were susceptible to the 15 antibacterial agents tested, strain No. 1 and 6 to 14 agents. Also strain No. 2 and 4 were sensitized to 13 agents and 4 agents respectively.
2. When one agent was used continuously, or various agents frequently, reduced susceptibility and consequently, resistance were resulted.
3. It would be reasonable that sensitivity tests be carried out for the antibacterial agents prior to treatment.
4. Therefore, the rotated usage of antibacterial agents more effective to the causative bacteria should be recommended.