P - 206

# 젖소의 환경성 유방염 원인체인 그람음성균 분포 및 *E. coli*의 혈청형 조사

이은실*, 강현미, 문진산, 장금찬, 이희수, 주이석, 정충일*
국립수의과학검역원 · *건국대학교 축산대학

## 서 론

유방염은 젖소 질병 중 가장 많이 발생하며, 우유 중 체세포수 증가 등으로 유질이 저하되고 유량이 감소하여 낙농가에게 막대한 경제적 손실을 초래하는 질병이다[1]. 최근 임상형 유방염은 지속적인 항균제 치료 등으로 유선 전염성 유방염 원인균의 발생빈도가 크게 감소하였으나, 환경성 병원성균에 의한 유선내 감염은 현저히 증가하고 있는 추세다[2]. 또한, 발생 유방염 원인체는 목장의 사양관리 방식 및 유방염 관리방법에 따라서 변화할 수 있기 때문에 유방염 원인체에 대한 주기적인 모니터링이 필요하고, 유방염 감염우의 경우 젖소의 건강과 고품질 우유 생산을 위해서는 유방염 원인체별로 효과적인 항생제를 선발하여 항생제 치료율을 높이고, 새로운 내성균주의 확산을 방지해야 한다. 따라서, 본 연구의 목적은 젖소 유방염유에서 환경성 유방염 원인체의 분포 및 주요 항생제에 대한 내성 실태를 조사하고, 유즙과 사람의 식중독과의 연관성을 조사하고자 유즙에서 분리한 *E. coli*에 대해 혈청형을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 공시 시료

2001년도에는 45개 젖소 목장의 유방염유로부터 100개의 그람음성균을 분리하였으며, 2003년도에는 19개 젖소 목장의 유방염유로부터 151개의 균주를 분리하였다.

### 체세포수 측정

체세포수는 Fossomatic series 4000(Foss Electronic Co., Denmark)을 이용하여 측정하였으며, 체세포수 200,000cells/ml의 시료에 대해 유방염 원인균 분리를 시도하였다.

### 균분리 및 동정

Blood agar(KOMED, KOREA)에 유즙을 접종하여 37℃에서 24시간 동안 배양한 다음, 그람음성균으로 의심되는 집락에 대해서 그람염색 및 생화학적 실험을 실시하였으며, Vitek System(bioMérieux, U.S.A)의 GNI+ card를 이용하여 균을 동정하였다.

### 항생제 감수성 조사

Kirby-Bauer(1996)의 디스크 확산법[3]에 따라 모든 균의 항생제 감수성을 조사하였다. 즉, 시료를 Muller-Hinton agar(Difco, USA)에 접종하고 항생제 디스크를 배지 위에 떨어뜨린 다음, 37℃에서 18시간 동안 배양하였다. 항생제 감수성 결과 판독은 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS, 2004)의 기준[4]을 따랐다.

### *E. coli*의 혈청형 조사

Group O-sera(Set 1), Group H-sera(Set2)와 Group O sera(Alternative)로 구성된 *Eschericia coli* antisera kit(DENKA SEIKEN, UK)를 이용하여 분리된 46주의 *E coli*에 대해 혈청형을 조사하였다. O-antigen type과 H-antigen type을 조사하기 위해 균을 불활화시키고 각각 slide aggultination method와 tube method를 이용하였다.

Table 1. Distribution of gram negative bacteria isolated from bovine mastitic milk in 2001 and 2003

| 2001 year | | 2003 year | |
|---|---|---|---|
| Bacterial genera | Distribution rate(%) | Bacterial genera | Distribution rate(%) |
| Coliforms | 52(52) | Coliforms | 83(55.0) |
| *Enterobacter* spp. | 30(30) | *Escherichia coli* | 48(31.8) |
| *Escherichia coli* | 9( 9) | *Klebsiella* spp. | 15( 9.9) |
| *Citrobacter* spp. | 8( 8) | *Citrobacter* spp. | 11( 7.3) |
| *Klebsiella* spp. | 5( 5) | *Enterobacter* spp. | 9( 6.0) |
| Noncoliforms | 41(41) | Noncoliforms | 63(41.7) |
| *Pseudomonas* spp. | 30(30) | *Sphingobacterium* spp. | 14( 9.3) |
| *Serratia* spp. | 4( 4) | *Serratia* spp. | 11( 7.3) |
| *Pasteurella* spp. | 2( 2) | *Acinetobacter* spp. | 10( 6.6) |
| *Acinetobacter* spp. | 2( 2) | *Pseudomonas* spp. | 8( 5.3) |
| Others | 3( 3) | Others | 20(13.2) |
| Unid | 7( 7) | Unid | 5( 3.3) |
| Total | 100(100) | Total | 151(100) |

Table 2. Distribution of gram negative bacteria according to the somatic cell counts in bovine mastitis milk (Unit : cell/ml)

| Years | Somatic cell count | | | |
|---|---|---|---|---|
| | < 1,000,000 | 1,000,000 ~2,000,000 | 2,000,000 ~3,000,000 | > 3,000,000 |
| 2001(n=100) | 49(49 %) | 30(30 %) | 9(9 %) | 12(12 %) |
| 2003(n=151) | 115(76.1%) | 18(11.9%) | 3(2.0%) | 15(10.0%) |
| Total(n=251) | 164(65.3%) | 48(19.1%) | 12(4.8%) | 27(10.8%) |

Table 3. Antibiotic Susceptibility of *E. coli* isolated from bovine mastitis milk

| Antimicrobial agents | Antibiotic Susceptibilities | | |
|---|---|---|---|
| | R (%) | I (%) | S (%) |
| GM | 4( 8.7) | 0(0) | 42(91.3) |
| TE | 16(34.8) | 7(15.2) | 23(50.0) |
| S | 11(23.9) | 7(15.2) | 28(60.9) |
| K | 9(19.6) | 6(13.0) | 31(67.4) |
| AM | 8(17.4) | 4( 8.7) | 34(73.9) |
| P | 46(100) | - | 0( 0) |
| CF | 35(76.1) | 8(17.4) | 3( 6.5) |
| CX | 46(100) | 0(0) | 0( 0) |
| AN | 0(0) | 0(0) | 46(100) |
| E | 24(52.2) | 22(47.8) | 0(0) |

* GE : Gentamicin(10㎍), TE : Tetracycline(30㎍), S : Streptomycin(10㎍), K :Kanamycin(30㎍), AM : Ampicillin(10㎍), P : Penicillin(10㎍), CF: Cephalothin(30㎍), CX : Cloxacillin(30㎍), AN : Amikacin(10㎍), E :Erythromycin(15㎍)

Table 4. Serotype of *E. coli* isolated from bovine mastitis milk

| *E. coli* serotye | Distribution rate(%) |
|---|---|
| O159 : H2 | 8(17.4) |
| O159 : H20 | 1( 2.2) |
| O159 : H21 | 1( 2.2) |
| O136 : H16 | 2( 4.3) |
| O6 : H4 | 1( 2.2) |
| O6 : H21 | 1( 2.2) |
| O18 : H21 | 1( 2.2) |
| O44 : H21 | 1( 2.2) |
| O119 : H2 | 1( 2.2) |
| Untypeable | 29( 63.5) |
| Total | 46(100) |

## 결과 및 고찰

2001년과 2003년 젖소 유방염유에서 그람음성균의 분포율을 조사한 바, 2001년에는 coliforms에서는 *Enterobacter* spp.가 30%로 가장 높았으며, nocoliforms으로는 *Pseudomonas* spp.가 41%로 높게 분포한 것으로 나타났으며, 2003년에는 *E. coli*가 31.8%로 가장 많이 분포하는 것으로 나타났다. 이와 같이 그람음성균의 주요 균종의 분포가 연도별 차이가 많이 나는 것은 계절별, 지역별, 목장별, 시료채취방법 등 다양한 요인에 의한 것으로 사료된다. 체세포수에 따른 그람음성균의 분포율에서는 1백만 cells/ml이하가 65.3%로 가장 높았으며, 체세포수 3백만 이상의 유즙에서 10.8%만이 분포하고 있는 것

으로 나타났다. 또한, 유즙의 항생제 내성과 사람 식중독의 연관성을 알아보기 위해 *E. coli*의 항생제 내성 양상과 혈청형을 조사한 결과 페니실린, 클록싸신, 세팔로틴은 70% 이상의 높은 내성을 나타내었고, 반면에 암피실린, 겐타마이신, 아미카신 등에 대해서는 내성율이 낮은 것으로 나타났다. *E. coli* 혈청형 조사에서는 O23, O111, O157과 같은 주요 장관출혈성 *E. coli* 식중독균은 분리되지 않았으나, O159 혈청형 10주가 분리되어 추후 PCR을 이용한 독소형 검출 시험등 유방염 원인체에 대한 지속적인 모니터링과 조사가 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 젖소 유방염의 환경성 원인체인 그람음성균의 분포와 *E. coli*의 항생제 내성 및 사람 식중독과의 연관성을 조사하기 위해 *E. coli* 혈청형에 대해 조사한 바, 2001년과 2003년 그람음성균의 주요 균 중 분포에서 많은 차이가 났으며, 2003년에는 *E. coli*가 31.8%로 가장 높은 것으로 나타났다. 체세포수에 따른 그람음성균의 분포율에서는 1백만 cells/ml 이하가 65.3%로 가장 높았으며, 체세포수 3백만 이상의 유즙에는 10.8%만이 분포하고 있는 것으로 나타났다. 또한, *E. coli*의 항생제 내성율 양상에서는 페니실린, 클록싸신, 세팔로틴등이 70%이상의 높은 내성율을 나타내었으며, *E. coli* 혈청형에서는 O23, O111, O157과 같은 주요 장관출혈성 *E. coli* 식중독균은 분리되지 않았다.

## 참고문헌

1. Schukken, Y.H., Kremer et al., 1989. *Escherichia coli*-matitis bij het rund. Tijdschr.. Diergenskd. 114, 829-838.
2. Hogan, J., K. Smith et al., 1989. Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *Journal of Dairy Science* 72, 1547~1556.
3. Bauer AW, Kirby MM, Sherries SC, et al.,1996. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J Clin Pathol.*, 45, 493~496.
4. NCCLS(NAtional Committee for Clinical Laboratory Standards), 2004. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Fourteenth Informational Supplement. M100-S14, Vol. 24 No.1.