

乳牛乳房源 *Staphylococcus aureus* 의 각종 化學療法劑에 대한 感受性試驗

韓 弘 栗·鄭 吉 澤

서울대학교 農科大學

緒 論

젖소의 乳房炎 치료에 각종 化學療法劑중 특히 抗生物質이 사용된 이래 유방염 원인균의 하나인 *Staphylococcus aureus*는 耐藥性을 띠우게 되는 것이 많아졌다. 이 사실은 유방염 치료에 있어서 중요한 문제점으로 대두되고 있다. (6) 이와 같은 耐性細菌의 점진적인 증가 원인은 첫째, 抗生物質을 널리 이용하게 되었고 (2,8,12) 둘째는 세균의 episomal resistance transfer factor가 증가하는데 있다. (1)

*Staphylococcus aureus*는 耐藥性 이외에도 치료 약제가 침투키 어려운 견고한 조직방벽층의 病巢를 형성하는 準臨床狀態의 慣性乳房炎을 유발한다. 따라서 *Staphylococcus aureus*에 의한 만성유방염은 치료가 곤란하게 될 뿐더러 다른 동물에 대한 感染源이 된다. (10,13)

McKay 등 (8)은 Canada에서 penicillin에 耐性을 가진 乳房源 *Staphylococcus aureus*의 현저한 증가현상을 보고한 바 있다. 즉, 1956~1957년에는 6.0%였든 것이 1963~64년에는 19%로 증가하였다고 보고 하였다. 또한 Wilson (18)은 영국의 경우 1958년의 62.0%에서 1961년에 70.6%로 penicillin 耐性細菌이 증가하였다고 했다. 그러나 Madson (7)에 의하면 Denmark에서는 penicillin 耐性細菌의 증가추세는 별로 없었다고 한다. 우리 나라에 있어서 李동 (22)은 penicillin 2 IU/ml에서 14.8%의 세균이 발육하였고, tetracycline 10µg/ml에서는 9%가 그리고 streptomycin 10µg/ml에서는 61%가 발육하였다고 보고하였다. 한편 石동 (21)은 Penicillin에서 32%가, tetracycline에서는 9%가 그리고 streptomycin에서는 11.7%가 발육하였다고 보고하였다. 또한 鄭동 (23)은 penicillin 5 IU/ml과 tetracycline 5µg/ml에서 *Staphylococcus aureus*는 발육치 못하였음을 보고하였다. 이상과 같은 성적은 disc 方法에 의한 것이어서 材料와 方法에 차이가 있을 것으로 믿어 본 실험에서는 우리나라에서 분리한 乳房源 *Staphylococcus aureus* 菌株에 대한 여러 化學療法劑의 最小發育抑制濃度(Minimum

Inhibitory Concentration)를 측정하였다.

材料 및 方法

供試細菌 : 1970년에서 1971년 사이에 경기도 일대 및 서울 근교에서 사육중인 젖소의 乳房에서 분리한 총 126株의 *Staphylococcus aureus*를 대상으로 하였다. 細菌의 分離 同定은 Cowan과 Steel (4)의 “Manual for the Identification of Medical Bacteria”에 준하였다. Coagulase test는 신선한 rabbit-plasma를 사용하였고 시험관법으로 행하였다.

供試藥劑 : Chas. Pfizer & Co., Inc.의 感受性 측정용 國際標準濃度인 sodium penicillin (1662IU/per ml)을 비롯하여 dihydrostreptomycin (765µg/ml), tetracycline hydrochloride (997µg/ml), oxytetracycline hydrochloride (927µg/ml) 그리고 furazolidone 등 5種을 사용하였다. 각종 시험약제의 標準原液 製造 및 희석 방법 그리고 농도별 약제와 寒天培地의 혼합 방법은 Ericsson과 Sherris (5)의 “Report of an International Collaborative Study on Antibiotic Sensitivity Testing”에 준하였다.

感受性試驗 : 藥劑의 희석제로는 멸균증류수를 사용하였고 furazolidone의 경우에는 먼저 50mg의 furazolidone을 10ml의 dimethyl formamide에 용해시킨 다음에 멸균 증류수에 희석하였다. 각종 試驗藥劑의 각 농도별 용액과 한천배지의 혼합비율은 1 : 9로 하였으며 고무 섞고나서 직경 9cm의 사체에 25ml씩을 분注하여 각종 시험약제의 농도별 混合培地를 만들었다. 이 培地를 세균 접종 직전에 37°C에서 약 30分間 뚜껑을 반쯤 열어서 배지표면을 건조하여 接種後 10分 이내에 접종균액이 흡수되도록 하였다. 각 세균은 37°C에서 18시간 nutrient broth에 배양한 후에 pH 7.2의 멸균된 phosphate buffered (0.2M) saline으로 1000배 희석하여 multiple surface-inoculating machine (3)으로 접종균액 0.01ml씩 접종하였다.

접종된 배지는 37°C에서 48시간 배양하였으며 결과

의 관정은 배양후 24시간과 48시간에 각각 2회에 걸쳐 하였다. 48시간 배양후 육안적으로 발육흔적이 인정될 경우에는 그 농도에서 성장능력이 있다고 판정하였으며 最小發育抑制濃度는 48시간 배양후 완전히 발육이 억제된 最小濃度로 표시하였다.

耐藥性 判定基準 : 1971 년도에 Ericsson 과 Sherris⁽⁶⁾ 가 보고한 "Recommendation Key" 에 준하였다. 즉 penicillin 0.1 μ g/ml, streptomycin 64 μ g/ml, tetramycin

32 μ g/ml 그리고 oxytetracycline 32 μ g/ml 이상의 농도에서 발육이 억제되지 않는 細菌은 耐性菌株로 판정하였다.

結 果

供試細菌 126 株의 *Staphylococcus aureus* 에 대한 다섯 가지 化學療法劑의 最小發育抑制濃度(MIC)를 측정하였던 바 그 성적은 제 1 표와 같다.

Table 1. Minimal Inhibitory Concentrations of Various Chemotherapeutic Agents for 126 Strains of *Staphylococcus aureus*

MIC (μ g/ml)	No. of strains of St. aureus showing inhibition of growth				
	Penicillin	Streptomycin	Tetracycline	Oxytetracycline	Furazolidone
0.015	0	0	0	0	0
0.03	20	0	0	0	0
0.06	17	2	1	0	1
0.12	10	3	0	0	0
0.25	20	7	7	0	2
0.50	37	29	62	0	6
1	13	52	25	2	18
2	2	4	1	1	72
4	2	2	1	60	21
8	0	4	5	29	5
16	2	2	5	7	0
32	3	2	9	1	1
64	0	10	7	3	0
128	0	8	2	3	0
256	0	0	0	17	0
512	0	0	0	2	0
>512	0	1	1	1	0

Penicillin의 MIC는 0.03 μ g/ml에서 32 μ g/ml에 이르렀으며 92.8%의 균주는 1.0 μ g/ml이나 그 이하의 농도에서 발육이 억제되었다. 供試菌 1株를 제외한 125 株에 대한 streptomycin과 tetramycin의 MIC는 모두 0.06~128 μ g/ml였다. 앞에서 제외된 1株의 MIC는 본 실험에서 적용한 최고농도인 512 μ g/ml에서도 발육이 억제되지 않았다.

Oxytetracycline의 MIC는 1.0~512 μ g/ml였다. Streptomycin과 tetracycline에서 처럼 1株는 최고농도인 512 μ g/ml에서도 발육이 억제되지 않았으나 균주 대부분의 발육을 억제하는 데에 필요한 농도는 streptomycin과 tetracycline보다 현저히 높았다.

Furazolidone의 MIC는 0.06~32 μ g/ml였으며 이는 앞서 서술한 4個의 抗生物質보다 월등히 분포범위가 좁았다. 다만 低濃度에서 발육억제 효과가 penicillin보

다 낮았으나 그 밖의 항생물질 보다는 현저히 좋았다. 각 抗生物質에 대한 供試菌의 耐藥性を 조사한 성적은 제 2 표와 같다.

Table 2. Number of Strains Resistant to Various Antibiotics Among 126 Strains of *Staphylococcus aureus*

Antibiotic*	Resistant strains	
	Number	Percentage(%)
Penicillin	89	70.6
Streptomycin	9	7.1
Tetracycline	10	7.9
Oxytetracycline	26	20.6

* Furazolidone was not included.

Penicillin에 대한 耐性菌은 89株(70.6%)로서 耐性頻도가 가장 높았고 그 다음으로는 oxytetracycline의 耐性菌인 26株(20.6%)였다. streptomycin과 tetracycline에 대한 耐性菌은 각각 9株(7.1%)와 10株(7.9%)로서 비교적 耐性頻도가 낮았다. 2개 이상의 약제에 대하여 동시에 耐性を 가지는 複合耐性菌株는 28株로서 전체 耐性菌株의 29.2%를 차지하였다. 즉 15株가 penicillin과 oxytetracycline에, 2株가 penicillin과 Streptomycin에 耐性を 가졌으며 3~4개 藥劑에 대하여 複合耐性인 것은 11菌株이었다.

考 察

젖소의 乳房源 *Staphylococcus aureus*의 각종 항생물질에 대한 耐性 획득에 관하여는 많은 보고가 있다. (5, 6, 7, 12, 13, 20) Wilson⁽¹⁸⁾은 抗生物質의 합리적인 관리 여부가 내성균주 출현에 미치는 영향이 크다고 하였다. 즉 항생물질의 관리가 철저한 Denmark에서는 penicillin 내성균이 7~9%인데 비하여 비교적 완화된 관리하에 있는 英國은 70%이고 우리나라에서처럼 일반 농민이 자유자재로 항생물질을 구입하여 사용할 수 있는 Northern Ireland에서는 耐性頻도가 90% 이상이었다고 한다.

抗生物質의 관리가 철저하지 못한 우리나라와 이를 비교하여 볼때 본 실험에서 penicillin 耐性菌이 70.6%의 높은 頻도를 나타낸 것은 충분히 납득할 수 있다. 또한 Ziv⁽²⁰⁾은 Israel에서는 penicillin, streptomycin, tetracycline에 대하여 각각 70%, 40%, 15~20%가 耐性菌이었으며 이 耐性菌의 90%가 複合耐性菌이었으며 그 대부분이 penicillin, streptomycin 그리고 neomycin에 대하여 複合耐性を 가졌다고 한다. Koiranen⁽⁹⁾에 의하면 약품관리가 철저한 Finland의 경우는 penicillin, streptomycin, tetracycline에 대하여 각각 10.3%, 4.8%, 2.0%가 耐性菌株였으며 penicillin과 streptomycin에 대한 同時耐性균주에 2.6%이었다고 발표하였다. 그러나 이와 같은 보고는 감수성 측정방법과 실험결과의 판정기준에 따라서 매우 유동적임을 지적하고 있다. (6, 11, 15)

Oxytetracycline에 대한 耐性頻도가 tetracycline의 것보다 높은 이유는 우리나라에서 乳房炎 치료에 oxytetracycline (terramycin)을 tetracycline보다 널리 사용하기 때문일 것으로 생각된다. 그러나 우리나라에서 흔히 penicillin과 streptomycin의 混合製劑가 유방염 치료에 널리 사용되고 있음에도 불구하고 penicillin에 비하여 streptomycin의 耐性頻도가 일등히 낮은 이유는 Walter와 Heilmeyer⁽¹⁴⁾가 밝힌 바와같이 供試菌 자체

가 急性 感染狀態의 유방에서 분리된 것이 아닌데도 하나의 원인이 있다고 믿어진다.

Furazolidone에 대한 耐性は 抗生物質에서처럼 문제되지 않는다. Philpot⁽¹²⁾는 furaltadone(30 μ g/ml)과 nitrofurazone (100 μ g/ml)에 대하여 각각 1%의 耐性頻도를 보고한 바 있으나 disc法에 의한 비교적 관찰이며 MIC 측정의 기준이 명확히 정해져 있지 않기 때문에 본 실험에서 furazolidone의 耐성에 관하여는 추측하지 않았다. 젖소의 乳房源 病原性 *Staphylococci*가 人體에 미치는 영향에 관하여는 잘 알려져 있다. (9, 16, 17) 특히 Zinn⁽¹⁹⁾ 등은 牛乳源 耐藥性菌株가 사람의 임상면에서 크게 문제가 되고 있는 항생물질 내성균주의 출현에 부가적인 원인이 되고 있다고 하였다. 이는 곧 耐性菌株의 出現現象이 사람과 동물에서 相關關係가 있음을 의미하는 것으로서 보다 더 광범위한 疫學的인 調查檢討가 필요하다고 생각된다.

結 論

각종 化學療法劑에 대한 젖소의 乳房源 *Staphylococcus aureus* 126株의 感受性を 측정하였던 바 얻어진 결론은 다음과 같다.

1. 最小發育抑制濃度は penicillin, streptomycin, tetracycline, oxytetracycline 그리고 furazolidone에 대하여 각각 0.03~32 μ g/ml, 0.06~128 μ g/ml, 0.06~128 μ g/ml, 1.0~512 μ g/ml, 0.06~32 μ g/ml 이었으며 가장 頻도가 높은 最小發育抑制濃度は 상기 順의 藥劑에 대하여 각각 0.5 μ g/ml, 1.0 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 4.0 μ g/ml, 2.0 μ g/ml 이었다.

2. 耐性頻度は penicillin, streptomycin, tetracycline, oxytetracycline에 대하여 각각 70.6%, 7.1%, 7.9%, 20.6%이었으며 二個 以上の 藥劑에 대하여 同時に 耐性を 가지는 菌株는 29.2%(28/96)이었으며 이를 複合耐性菌株는 모두가 penicillin에 耐性이었다.

謝 辭: 본 실험을 수행하는 데에 적극적인 협조를 해주신 가축위생연구소 석호봉, 강영배 그리고 이현수 선생님께서 감사함을 드립니다.

參 考 文 獻

- Bernard, D.D., Renato, D., Hermann, N.E., Harold, S.G., and Wood, W.B.: Microbiology. 1st Ed., Hoeber Medical Division, New York, 1970. p. 1113.
- Brander, G.C.: The use of antibiotics in the veterinary field. Vet. Rec., 1970. 79: Clin. Suppl., No. 4.

3. Chung, G.T., and Frost, A.J.: Sensitivity of salmonella organisms to various chemotherapeutic agents. *Aust. vet. J.*, 1969. 45 : 354.
4. Cowan, S.T., and Steel, K.J.: *Manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge University Press, 1966.
5. Ericsson, H.M., and Sherris, J.C.: Antibiotic sensitivity testing-Report of an international collaborative study. *Acta path. microbiol., scand.*, 1971. Suppl. 217.
6. Leo Koiranen: Studies on staphylococci isolated from bovine milk samples. *State Vet. Med. Inst., Helsinki*, 1969. V. Medica, 142.
7. Madson, J.A.: Staphylococcus pyogenes-penicillin resistant. *Nord. Vet. Med.* 1968. 20 : 471.
8. McKay, K.A., Ruhnke, H.L., and Barnum, D.A.: The results of sensitivity tests on animal pathogens conducted over the period 1956-1963. *Can. vet. J.*, 1965. 6 : 103. Cited from *Vet. Bull.*, 1965. 35 : 4359.
9. Munch-Petersen, E.: Food-bone epidemics due to staphylococci. *Aust. J. Dairy Techn.*, 1960. 15 : 25
10. Pattison, I.H.: The progressive pathology of bacterial mastitis. *Vet. Rec.*, 1958. 70 : 114.
11. Petersdorf, R.G.: The usefulness of in vitro sensitivity tests in antibiotic therapy. *Ann. Rev. Medicine*, 1963. 14 : 41.
12. Philpot, W.N.: Modern mastitis management. *Vet. Scope*, 1970. 15.
13. Platonow, I., and Blobel, H.: Therapeutic failures in chronic staphylococcal mastitis. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1963. 142 : 1097.
14. Walter, A.M., and Heilmeyer, L.: *Antibiotica Fibel, Antibiotika und Chemotherapie*. Zweite Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1965.
15. WHO: Standardization of methods for conducting microbic sensitivity tests. Second report of the Expert Committee on Antibiotics. *Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser.*, 1961. 210.
16. WHO: Streptococcal and staphylococcal infections. Report of a WHO Expert Committee. *Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser.*, 1968. 394.
17. WHO: Microbiological aspects of food hygiene. Report of a WHO Expert Committee with the participation of FAO. *Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser.*, 1968. 399.
18. Wilson, C.D.: The mastitis problem. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1964. 17 : 142.
19. Zinn, R.D., Anderson, G.R., and Skaggs, J.W.: Staphylococcal infections in cattle. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1961. 138 : 382.
20. Ziv, G.: Antibiotic sensitivity of Staphylococcus aureus strains isolated from bovine udders in Israel. *Refuah Vet.*, 26 : 104. Cited from *Vet. Bull.*, 1970. 40(4): 1528.
21. 석호봉, 전경희, 강영배, 이현수 : 젖소의 유방염 유래 포도상구균의 phage typing에 관한 연구. 1971 가축위생연구소 시험연구보고서.
22. 이상만, 조관수, 석호봉, 정길택 : 유방염 원인균 조사, 1970 가축위생연구소 시험연구보고서.
23. 정창국, 한홍율, 정길택 : 우리나라 젖소의 乳房炎 原因菌의 疫學的 調査 및 치료에 관한 研究. 大韓 獸醫學會誌, 1970. 10(1) : 39.

Sensitivity of Staphylococcus aureus Isolated From Bovine Udders to Various Chemotherapeutic Agents

H.R. Han, D.V.M., M.P.H. and G.T. Chung, D.V.M., M.S., Ph.D.
College of Agriculture, Seoul National University

Abstract

The minimum inhibitory concentration (MIC) of five chemotherapeutic agents (penicillin, streptomycin, tetracycline, oxytetracycline and furazolidone) was measured for 126 strains of Staphylococcus aureus isolated from the udder of dairy cattle.

The results obtained were as follows:

1. The MIC of penicillin, streptomycin, tetracycline, oxytetracycline and furazolidone ranged from 0.03 to 32 ug/ml, 0.06 to 128 ug/ml, 0.06 to 128 ug/ml, 1.0 to 512 ug/ml, and 0.06 to 32 ug/ml, respectively. The most frequent MIC of the above drugs were; penicillin 0.5ug/ml, streptomycin 1.0ug/ml, tetracycline 0.5ug/ml, oxytetracycline 4.0ug/ml, and furazolidone 2.0ug/ml.
2. The number of strains resistant to penicillin, streptomycin, tetracycline and oxytetracycline were 89(70.6), 9(7.1%), 10(7.9%), and 26(20.6%), respectively. Twenty-eight (29.2%) strains showed multiple resistance to more than two antibiotics tested.