Korean J. Vet. Res., Vol. 15, No. 1 (1975)

Lancefield Grouping에 의한 乳房炎由來 Streptococcus의 同定과 抗生物質에 대한 感受性調査

石 湖 峰 李 鉉 洙

農村振興廳 家畜衛生研究所

緒 論

連鎖球菌은 젖소의 主要 乳房炎 原因菌으로 여러 사람[1,2,6,8,13]에 의하여 그 分離 및 同定方法이 研究되어 왔다. 連鎖球菌은 여러가지 生化學的 및 血淸學的 試驗으로 分類되며 특히 Lancefield의 沈降反應과 血液培地에서의 溶血性馬尿酸과 糖分解試驗에 의한 生化學的 性狀調査로써 同定하고 있다.[7,18] 지금까지 알려진 Lancefield 血淸群은 A-H, K-Q의 15群으로 나누어져 있으며 이중 乳房炎에 起因되는 것으로는 6~7群으로 알려져 있다.[8,11,18] 國內報告에서 乳房炎由來 連鎖球菌屬은 36.3%(1970)[15], 76%(1970)[16], 35%(1973)[17]로 乳房炎原因菌中 가장 높은 比率을 나타내고 있고 이들 菌同定에 있어 대부분 生化學的 性狀調査에 의존하고 있다.

著者는 國內 乳房炎 原因菌中 가장 罹患率이 높은 連鎖球菌의 分布를 調査하기 위하여 주로 血淸反應에 의한 群決定과 기타 生化學的 試驗으로 菌을 同定하고 아울러 分離菌에 대한 治療劑感受性을 調査하여 그 成績을 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試菌株: 1974年 8月부터 11月까지 京畿道 漢水以南 地域의 35個 牧場의 젖소 536頭를 대상으로 California mastitis test 陽性을 나타내는 乳汁에서 분리된 連鎖球菌 173株를 使用하였다.

菌分離 및 同定: 連鎖球菌의 分離方法은 U.S. National Mastitis Council의 方法[7]에 準하였다. 無菌 채취된 乳汁을 즉시 5% 綿羊脫纖血液培地에 0.01 ml씩 接種하여 37°C에서 48時間동안 培養하였다. 連鎖球菌의 특이한 集落과 溶血性을 調査한후 菌을 선택 同定試驗에 利用하였다. 菌同定은 주로 Lancefield의 沈降反應에 의하여 群別을 決定하였고 最終確認試驗으로 CAMP test[1]와 aesdiuin 및 sodium hippurate 分解能을 調査하였다.

抗原製造(Lancefield grouping 用): 各分離菌에 대한 抗原製造는 Ranty 및 Randall[9]의 高壓處理法에 의거하였다. 40 ml trypticase soy broth (Difco)에 分離菌을 37°C에서 18時間 培養한후 遠沈하여 上層液은 내리고 침전물에 0.9% 食鹽水 0.5 ml를 가한 다음이 菌液을 再浮遊시켜 15 lbs.에서 15分間 高壓處理후 遠沈하여 上層液을 抗原으로 使用하였다.

血淸學的 同定: 分離菌에 대한 抗原과 A,B,C,D,E,F, 및 G의 Lancefield grouping 抗血淸 (BBC 製品)을 使用하여 small tube 法에 의하여 試驗하였다. 判定은 10~15分間 反應후 白色輪을 나타내는 것을 陽性으로 하였다[6].

抗生物質感受性試驗: 分離菌 151株에 대하여 disc 法을 使用하였다. Eiken의 sensitivity disc로서 低濃度와 中濃度에서 發育抑制되는 것을 感受性있는 것으로 判定하고 高濃度에서는 發育抑制되지만 低濃度 및 中濃度에서 抑制되지 않는 것은 抵抗性이 있는 것으로 判定하였다.

結 果

連鎖球菌의 同定: 京畿道 漢水以南 地域의 젖소에서 分離된 連鎖球菌 173株를 주로 Lancefield grouping 抗血淸 7種을 使用하여 沈降反應에 의한 菌同定을 實施하였던바 그 成績은 表 1과 같다.

供試菌 173種中 167株(96.5%)가 group 血淸 7種中 6種에 陽性反應을 나타내었고 1種(F群)은 陰性을 보였다.

Group 陽性株 167株中에서 *Str. agalactiae* (B群)는 56株, *Str. dysgalactiae* (C群)는 26株, *Str.*

Table 1. Results of Streptococcal Identification of 173 Species from 536 Cattle Causing Bovine Mastitis

Organisms	Lancefield Group	Hydrolysis of		No. of Positive	(%)
		Aesculin	Sodium Hippurate		
Str. agalactiae	B	−	+	56	(32.4)
Str. dysgalactiae	C	−	−	26	(15.0)
Str. uberis	E/Neg*	+	+	75	(43.4)
Str. pyogenes	A	±	−	5	(2.9)
Group-D Str.	D	+	±	2	(1.1)
Group-G Str.	G	±	−	3	(1.7)
Others (Not Grouped)		+	−	6	(3.5)

* Extracts of 12 strains of *Str. uberis* reacted with group E antisera but not induced group E antibodies

Table 2. Results of Sensitivity Test Conducted on 151 Strains of Identified Streptococci

Antibiotics	Concentration	*Str. agalactiae*		*Str. dysgalactiae*		*Str. uberis*		*Other Str.*	
		No. of Sensitive	%	No of Sensitive	%	No. of Sensitive	%	No. of Sensitive	%
Penicillin	2 U	47/48	97.9	18/20	90.0	62/70	87.3	11/13	84.6
Erythromycin	2 μg	48/48	100.0	20/20	100.0	67/70	94.4	12/13	92.3
Leucomycin	5 μg	48/48	100.0	20/20	100.0	69/70	97.2	13/13	100.0
Chloramphenicol	10 μg	47/48	97.9	19/20	95.0	66/70	93.0	11/13	84.6
Tetracycline	10 μg	46/48	95.8	13/20	65.0	62/70	87.3	9/13	69.2
Streptomycin	10 μg	17/48	35.4	2/20	10.0	25/70	35.7	5/13	38.5
Kanamycin	10 μg	19/48	39.6	3/20	15.0	29/70	60.4	5/13	38.5

uberis (E群)는 75株였고 기타 *Str. pyogenes* (A群) 5株, D群 2株, G群 3株의 分布를 보였다. 가장 높은 *Str. uberis* 중 12株가 E群抗血淸에 陰性反應을 보였으나 aesculin 과 sodium hippurate 分解試驗에서 陽性反應을 나타내어 이들은 U.S. National Mastitis Council 分類法에 의거 *Str. uberis*에 포함시켰다.

抗生物質感受性調査: 同定된 連鎖球菌 151株에 대하여 disc 法을 使用하여 各種抗生物質에 대한 感受性을 測定한 結果는 表 2와 같다.

거의 전부가 leucomycin 과 erythromycin에 感受性이 높았고 다음은 chloramphenicol, penicillin, tetracycline의 順序로 感受性이 점차로 減少되었고 kanamycin 과 streptomycin은 다른 抗生物質에 비하여 뚜렷하게 感受性이 낮았다. *Str. agalactiae*는 penicillin에서 97.9%로써 *Str. dysgalactiae*와 *Str. uberis*보다 높은 感受性을 보였다.

考　　察

連鎖球菌은 널리 사람과 動物에 分布되어 各種疾病을 일으키며 特히 젖소에 있어서 傳染性乳房炎의 主要原因菌으로 報告되고 있다.[8,18]

一般的으로 連鎖球菌의 同定은 Lancefield의 血淸沈降反應과 血液培地上에서의 溶血性狀, 特殊培地上의 生長試驗, 馬尿酸과 糖分解試驗 등을 주로한 生化學的試驗에 의거 同定되고 있다. Lancefield에 의한 群特異性, C 多糖體가 發見되기 以前에는 주로 간단한 生物學的試驗에 의하여 菌을 同定하였다.

Sherman은 連鎖球菌을 Lancefield 沈降反應과 生化學的反應을 並行하여 pyogenie, viridans, lactie, enterococcus의 4群으로 分類하였다. 그러나 現在에는 새로운 血淸群이 많이 發見되어 오히려 4群의 中間性狀을 나타내는 菌種이 많이 出現하여 沈降反應에 의한 血淸學的分類가 광범위하게 利用되고 있다.

乳房炎原因菌의 菌分離 同定法은 처음 病因學的意義로 溶血性連鎖球菌의 硏究에 치중하여 왔으나 그후 여러가지 生化學的 性狀調査와 Lancefield 群決定이 可能하여 사람과 動物의 疾病關係를 糾明할 수 있게 되었다[8].

乳房炎由來 連鎖球菌은 주로 *Str. agalactiae Str.*

Table 3. Comparision of Identification on Milk-origin Streptococci in National Reports

Isolates per Year / Organisms	1970 A (212)		1970 B (187)		1973 (518)		1974 (536)	
	Isolates	%	Isolates	%	Isolates	%	Isolates	%
Str. agalactiae	62	47.7	79	58.5	42	28.2	56	32.4
Str. dysgalactiae	12	9.2	25	18.5	13	8.7	26	15.0
Str. uberis	5	3.9	11	8.2	69	46.3	75	43.4
Other Str.	51	39.2	20	14.8	25	16.8	16	9.2
Total	130	100.0	135	100.0	149	100.0	173	100.0

( ) : Number of cattle examined

dysgalactiae, *Str. uberis* 대부분 알려져 있으며[4,13] 이에 대한 血淸學的反應과 生物學的性狀이 이미 잘 알려져 있다. Schalm 등[11]은 乳房炎由來 連鎖球菌에서 *Str. agalactiae*는 Lancefield B群에, *Str. dysgalactiae*는 C群에, *Str. uberis*는 群에, *Str. pyogenes*는 A群에 속한다고 하였다. 最近 Hoare 및 Barton[5]은 aesculin 과 CAMP 試驗에 의하여 菌을 同定하였고 Sharma 및 Packer[12]는 *Str. uberis* 의 同定에 CAMP, aesculin 試驗과 Lancefield grouping에 의한 試驗成績을 報告한 바 있다.

따라서 著者는 Lancefield의 血淸反應과 기타 生化學的性狀으로 溶血性 CAMP 反應, aesculin 과 馬尿酸分解能을 調査한 結果 96.5%의 菌同定이 可能하였으며 과거 國內에서 調査된 成績과 比較하면 表 3과 같다.

1970 A[15]와 1970 B[16]에서는 *Str. agalactiae*가 47.7%와 58.5%로 가장 높은 分布를 보였고 1973[17]과 1974의 成績에서는 *Str. agalactiae* 보다는 *Str. uberis*가 46.2%와 43.4%로 가장 높은 分布를 나타내었다. 本試驗成績(1974)이 다른 成績과 다른 것은 同定方法의 차이와 地域的 및 채취대상의 차이로 그 成績이 一致하지 않는 것으로 본다. 外國에서 *Str. uberis*는 *Str. agalactiae* 다음으로 높은 罹患率로 보고되고 있으며[4,12] 美國은 12.2%[13], 인도는 17.2%이며[12] 英國은 1947年에 9%, 1953年 12%, 1960年 18%, 1066年 20%로[3] 점차 높은 罹患率을 나타내었다. 外國의 成績이 대체로 낮은 理由는 全驗乳房炎 原因菌에 대한 分布率로 報告되어 있기 때문이다. Swiency[14]는 *Str. uberis*를 乳牛의 乳房炎皮膚에서 73%나 分離하였다고 報告하였으며 Sharma 및 Packer[12]는 *Str. uberis*의 菌分離는 泌乳初期에 가장 높았다가 泌乳中期나 末期에는 낮아지며 乾乳期에는 거의 나타나지 않는다고 하였고 가장 많이 分離되는 時期는 11月로써 주로 多節과 秋節이 가장 높았다고 보고하고 있어 本試驗에 사용된 材料의 採取時期를 比較할때 거의 一致된 成績을 나타내고 있다. *Str. agalactiae*와 *Str. dysgalactiae*는 32.4%와 15%의 分離率을 보여 호주[6], 일본[8], 미국[10]과 마찬가지로 높은 비중을 차지하고 있다.

Schalm 등[11]에 의하면 *Str. agalactiae*는 慢性乳房炎의 重要原因이 되며 初產以後에 感染率이 높고 주로 乳腺에서 서식되고 있으나 *Str. dysgalactiae*와 *Str. uberis*는 乳腺組織에만 存在하지 않고 動物體의 여러 部位에 存在하기 때문에 傳染原을 없애는 데는 근본적인 환경요인을 바꾸어야 한다고 주장하고 있다.

*Str. pyogens*는 주로 사람에 化濃性炎症, 猩紅熱 病因原으로 중요한 역할을 하나 드물게 젖소의 乳房內感染이 된다고 보고되고 있다[7,11]. 淸水[15]는 Lancefield D群에 속하는 *Str. faecalis*, durans, zymogenes 등이 간혹 乳房炎의 原因이 된다고 하였고 또 schalm 등[11]과 今泉[18]에 의하면 G群도 乳房炎의 原因이 된다고 보고하고 있다. 本試驗에서 D群에 속하는 2株와 기타 株에 대한 最終菌名까지 糾明치 못한 것은 遺憾으로 생각된다.

分菌離에 대한 抗生劑 感受性試驗結果 leucomycin 과 erythromycin이 가장 感受性이 높은 반면 streptomycin과 kanamycin은 현저히 낮은 것을 表 2에서 알 수 있었다.

흔히 사용되는 5種의 治療劑에 대하여 過去 國內成績을 比較하면(表 4) 1970 A[15]에는 penicillin 과 leucomycin이 1970 B[16]에는 leucomycin 과 tetracycline이 1973[17]에는 kanamycin 과 leucomycin이 80% 이상의 感受性을 보인 반면 streptomycin은 58% 이하로 感受性이 현저하게 낮았다. 分離菌中 *Str. agalactiae*가 penicillin에 感受性이 가장 높아 Robert 등[10]의 報告와 一致하였다.

지금까지의 成績으로 乳房炎由來 連鎖球菌은 leuco-

Table 4. Comparision of Sensitivity Test for Common Antibiotics on Milk-origin Streptococci in National Reports

Antibiotics	1970A			1970B			1973			1974		
	Conc.	No. of Sensitive	%	Conc.	No. of Sensitive	%	Conc.	No. of Sensitive	%	Conc.	No. of Sensitive	%
Penicillin	10 u	73/76	96.0	2 u	97/115	84	2 u	38/149	25.5	2 u	138/151	91.3
Streptomycin				10 μg	31/115	27	10 μg	86/149	57.7	10 μg	49/151	32.4
Tetracycline	5 μg	54/76	71.0	10 μg	107/115	93	10 μg	117/149	78.5	10 μg	130/151	86.1
Leucomycin	5 μg	65/76	85.6	5 μg	115/115	100				5 μg	150-151	99.3
Kanamycin	5 μg	39/76	51.3	10 μg	39/115	34	10 μg	138/149	92.7	10 μg	56/151	37.1

mycin에 가장 感受性이 높았으며 streptomycin과 kanamycin에는 낮은 것을 알 수 있었다.

結　　論

京畿道地域 젖소 536頭에서 分離된 連鎖球菌 173株를 lancefield 血清反應과 기타 生物學的性狀調査로 菌을 同定하고 아울러 抗生物質 感受性을 調査하였던바 그 結果는 다음과 같다.

1. 供試菌, 173株中 167株(96.5%)가 Lancefield A, B,C,D,E 및 G 血清群에 陽性反應을 보였다.

2. 群決定 167株中 *Str. uqeris* 75株, *Str. agalactiae* 56株, *Str. dysgalactiae* 26株로 가장 많았고 기타 *Str. pyogenes*, D群, G群의 連鎖球菌이 分離되었다.

3. 分離菌에 대한 感受性試驗結果 leucomycin과 Erythromycin이 感受性이 높았고 streptomycin과 kanamycin은 현저하게 낮았다.

謝　辭 : 本研究에 積極協助하여 주신 京畿道 家畜保健所 여러분에게 謝意를 表하는 바이다.

參 考 文 獻

1. Christic, R., Atkins, N.E. and Munch-Peterson, E.: A Note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci, Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. (1944) 22 : 197.
2. Edwards, S.J.: Studies on bovine mastitis. A selective medium for the diagnosis of Streptococcus mastitis. J. Comp. Path. Ther. (1933) 46 : 211.
3. Edwards, S.J. and Smith, G.S.: Epidemiology of mastitis in three dairy herds. J. Comp. Path. Ther. (1966) 76 : 231
4. Ferguson, J.: The distribution of mastitis streptococci in dairy herd. Cornell Vet. (1938) 28 : 211.
5. Hoare, R.J. T. and Barton, M.D.: Investigation in mastitis problem herds. I. Bacteriological examination. Aust. Vet. J. (1972) 48 : 657.
6. Lancefield, R.C.: A serological Differentiation of human and other groups of Streptococci. J. Exp. Med. (1933) 57 : 571
7. National Mastitis Council: Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis. (1969).
8. Ochi, Y., Ogata, M. and M. Kanoe: Studies on streptococci. I. on classification of streptococci. Jap. J. Vet. Sci. (1960) 22 : 353.
9. Rantz, L.A. and Randall, E.: use of autoclaved extracts of homolytic streptococci for serological grouping. Stanford Med. Bull. (1955) 13 : 290.
10. Robert, S.T., hodges, H.G., fincher, M.G., temple, H.C., Brown, H.L., Chency, J.B., Johnson, S.D., linquist, W.E., Reed, F.I. and Guthrie, R.S.: studies of the streptococcus agalactiae form of mastitis in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Ass. (1963) 143 : 1193.
11. Schalm, O.W., Carroll, E.J. and Jain, N.C.: Bovine mastitis. lea and febiger, phyladelphia (1971)
12. Sharma, R.M. and Packer, R.A.: occurrence and ecologic features of Streptococcus ubersis in the dairy Cow. Am. J. Vet. Res. (1970) 31 : 1197.
13. Stanetz, L.W. and Naghski, J.: Studies on Streptococci of bovine mastitis. J. Inf. Dis. (1940) 66 : 80.

14. Sweeney, E.J.: Observation on the epidemiology of mastitis due to Streptococci uberis in a laboratory herd during a complete lactation. Res. Vet. Sci. (1964) 5 : 483.
15. 정창국, 한홍률, 정길택 : 우리나라 젖소 乳房炎原因菌의 疫學的調査 및 治療에 관한 硏究. 大韓獸醫學會誌 (1970) 10 : 39.
16. 이상만, 조관수, 석호봉, 정길택 : 유방염 원인균 조사. 가축위생 시험연구 보고서 (1970) p. 118
17. 손봉환, 김효민, 정흥환, 김수장 : 경기도지역의 유우 유방염에 관한 조사 I. 유방염의 역학적조사. 大韓獸醫學會誌 (1974) 14 : 105.
18. 今泉 清 : レンサ球菌屬 (第1編 第2章). 平戶勝七編 獸醫微生物學. 養賢堂, 東京 (1971) p. 250.

Serological Identification of Mastitic Streptococci by Lancefield Grouping and Antibiotic Sensitivity Test

Ho Bong Seok D.V.M., M.S. and Hyun Soo Lee D.V.M., Ph.D.

Institute of Veterinary Research, Office of Rural Development

Abstract

A Total of 173 streptococci isolated from 536 dairy cattle in Gyeonggi Province identified by Lancefield serological reaction and other biological properties. Antibiotics sensitivity test was also examined and the results obtained were as follows:

1. A total of 173 isolates of 167 strains (96.5%) were reacted with group A,B,C,D,E and G antisera.

2. Of the 167 positive strains, 75 strains were identified to *Streptooccus uberis*, 56 to *Streptococcus agalactiage* and 26 to *Streptococcus dysgactiae*, respectively.

Also, *Sreptococcus pyogenes*, group D and group G streptococci were rarely isolated.

3. In results of antibiotic sensitivity tests, the most isolates were sensitive to leucomycin and erythromycin but less sensitive to streptomycin. and kanamycin.