

乳牛乳汁内の *Candida* sp. 에 관한 研究

崔 源 弼

金 鳳 煥 · 崔 尚 龍

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

慶尚大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

近來 抗菌性藥劑의 사용이 많아짐에 따라서 眞菌性疾病의 發生이 많아지고 있으며, 動物의 疾病에 關여하고 있는 眞菌중에서 *Candida* 屬은 各種 動物의 皮膚, 粘膜, 呼吸器, 循環器, 腦膜 및 泌尿器 등에 주로 感染病을 일으킬 뿐만 아니라 사람에도 感染症을 일으키고 있는 主要한 原因體로 주목되고 있다.

乳牛의 乳房炎에 있어서는 1934年 Rolle¹⁰⁾ 에 의하여 眞菌性乳房炎이 처음 報告된 以來로 世界各地에서 眞菌性乳房炎에 대하여 많은 研究가 進行되어 왔으며,^{5, 9, 12, 13, 22)} 臨床型, 潛在性乳房炎 및 正常乳汁에서 分離되고 있는 眞菌중에 *Candida* 屬菌이 大部分을 이루고 있다.^{1, 8, 19, 20)}

우리나라에서는 乳房炎의 乳汁으로부터 酵母樣眞菌이 分離되고 있음이 報告되고 있으나^{16, 19)} ^{20, 21)} 菌種이 同定되지 않았고 단지 呂와 筆者에 의한 慶北地方의 臨床型, 潛在性乳房炎 및 正常分房으로부터 酵母樣眞菌의 分離同定 및 疫學的인 研究가 報告되어 있을 뿐이다.

한편 *Candida* 屬菌은 乳牛乳房炎의 起炎菌으로서 토양중에 널리 分布되어 있으며, 이들에 의한 乳房炎은 慢性 또는 潛在性的인 것이 많아서

이로인한 乳質의 低下, 乳量減少와 抗菌性藥劑에 대하여 感受性이 없으므로 그 被害가 더욱 심화되어 가고 있어서 이들菌에 의한 乳房炎의 予防 및 治療에 대한 더 많은 研究가 要求되고 있다.

本 研究에서는 晉州地方의 乳牛牧場을 대상으로 하여, 乳房炎에 罹患된 分房乳汁 및 正常分房乳汁으로부터 *Candida* sp.의 分布와 菌種의 同定, 乳房炎에 關與狀態 등 疫學的인 調査를 하였다.

材料 및 方法

供試材料 : Holstein種 乳牛로서 晉州近郊 6 個牧場 56頭 166分房을 대상으로 하여 臨床型乳房炎에 罹患된 分房으로부터 膿, 凝塊 등을 포함한 乳汁과 外觀上 健康한 牛에 대하여는 Schalm 등¹¹⁾의 方法에 따라 各 分房乳汁에 대한 California Mastitis Test(CMT)를 實施하고, 各 5 ml以上の 乳汁을 滅菌用器에 無菌的으로 取한 후 즉시 供試하였다.

菌分離 : 酵母樣眞菌의 分離는 Farnsworth 및 Sorensen⁴⁾과 Buxton 및 Fraser²⁾의 方法에 準하여 各 分房乳汁을 penicillin (20unit/ml)과 str-

eptomycin (100ug/ml)을 가한 Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) 平板培地에 0.1ml를塗抹하고, 37°C, 3~5日間培養한 후 形成된 集落에 대하여 同一性狀의 集落을 5個以上 取하여, Gram染色 후 鏡檢하여 酵母樣真菌임을 확인하고 SDA斜面培地에 純粹培養하였다. 細菌과 混合感染 有無를 알기 위하여 上記材料를 脫纖綿羊血液寒天平板培地에 培養하였다.

菌同定: 酵母樣真菌의 同定은 Larone,⁶⁾ Wolf¹⁵⁾ 및 Lodder 등⁷⁾의 方法에 準하여 分離菌을 形態學的, 生物學的인 性狀檢査 및 Candida 抗血清 (Candida check, 三光純藥, 日本) 으로 血清學的 檢査를 실시하였고, 分離된 細菌의 菌種同定은 하지 않았다.

成 績

Candida屬菌에 起因하는 乳牛의 臨床型乳房炎, 潛在性乳房炎의 發生狀況과 正常分房乳汁에의 汚染狀況 및 菌種同定을 위하여 晉州近郊의 乳

牛 56頭 166分房 乳汁에 대하여 調査한 結果는 다음과 같은 成績을 얻었다.

乳汁으로 부터 分離된 酵母樣真菌 42株의 菌種을 同定하기 위하여, 分離菌의 SDA平板培地에서의 肉眼的인 集落의 形態, cornmeal寒天平板培地에서의 顯微鏡的形態所見, SDB (SD Broth) 培地에서의 發育狀態, 牛血清에서의 germ-tube形成檢査 및 dextrose, maltose, sucrose, lactose, galactose에 대한 糖分解試驗 등에 의한 生物化學的 및 形態學的의 性狀 檢査와 Candida check에 의한 血清學的 檢査를 실시하였던 結果 分離菌의 性狀은 Table 1에서와 같다. 酵母樣真菌은 4種 42株(總 分房의 25.3%) 로서 Candida krusei (C. krusei) 26株 (61.9%), Candida albicans (C. albicans) 6株 (14.8%), Candida pseudotropicalis (C. pseudotropicalis) 4株 (9.5%) 이었고, Torulopsis glabrata (T. glabrata), 6株 (14.8%) 로 同定되었다. Candida屬은 3種 30株(總 分房의

[Table 1] Characteristics of yeast-like Fungi Isolated from Milk

Species	Macroscopic morphology on SDA	Microscopic morphology on cornmeal agar	Growth in SDB	Fermentation					Germ tube	Antigenic formular	Number of strain
				D	M	S	L	G			
Candida albicans	Creamy, Pasty, Smooth	Pseudohyphae with chlamyospores, clusters of blastospores	n. s. g	AG	AG	A	-	AG	+	1,4,5,6	6 (14.8%)
Candida Krusei	Flat dry dull, mycelial fringe	Pseudohyphae with elongate blastospores	Wide surface film	AG	-	-	-	-	-	1,11	26 (61.9%)
Candida pseudotropicalis	Creamy, Smooth	Pseudohyphae with elongate blastospores appeared logs in a stream	n. s. g	AG	-	AG	AG	AG	-	1,8	4 (9.5%)
Torulopsis glabrata	Small, Pasty, Smooth	No pseudohyphae, single yeast cells with terminal budding	n. s. g	AG	-	-	-	-	-	1,4,34	6 (14.8%)
Total(166 samples)											42 (25.3%)

n. s. g; no surface growth, D; dextrose, M; maltose, S; sucrose, L; lactose, G; galactose, AG; acid and gas, A; acid, SDA; Sabouraud's dextrose agar, SDB; Sabouraud's dextrose broth.

[Table 2] Distribution of yeast-like Fungi in Milk of Clinical Mastitis and Normal Quarters.

Species	Clinical mastitis		Subclinical mastitis		Normal	
	No. of strains isolated	Herd	No. of strains isolated	Herd	No. of strains isolated	Herd
<i>Candida albicans</i>			6	E		
<i>Candida Krusei</i>	4	A	12	A, E	10	E
<i>Candida pseudo-tropicalis</i>	4	F				
<i>Torulopsis glabrata</i>	6	F				
Total	14		18		10	

18.1%)이며, 이중 *C. krusei*가 20株(*Candida*屬의 66.7%)로서 分離率이 가장 높았다.

乳牛乳房内の *Candida*屬의 感染狀況과 正常分房에서의 汚染狀況 및 細菌과의 混合感染 狀態를 알기 위하여, 臨床症勢를 나타내고 있는 分房, CMT反應 陽性인 潛在性 乳房炎의 分房 및 正常分房에서의 菌分離 結果는 Table 2 와같이, 臨床型乳房炎 罹患分房은 14分房이며, 이들 중 8分房은 抗菌性藥劑로서 治療한 經歷을 가진 個體의 것으로 *C. pseudotropicalis*와 *T. glabrata*가 各各 4分房에서 分離되었고, 抗菌性藥劑의 治療經歷이 없었던 6分房에서는 *C. krusei*가 4分房, *T. glabrata*가 2分房에서 分離되었다. 臨床症狀이 없었으나 CMT陽性反應을 나타내었던 潛在性乳房炎의 32分房 중, 細菌만이 分離된 14分房을 제외한 18分房 중에서 *C. albicans*가 6分房, *C. krusei*가 12分房에서 分離되었다. 120個 正常分房에서는 10分房이 *C. krusei*에 汚染되어 있었다. 乳汁에서의 *Candida*屬菌의 感染 및 汚染狀況은 6個 牧場 중 3牧場(A, E, F)에 分布되어 있었다. 乳汁중의 真菌數는 臨床型乳房炎에서는 14例의 全分房에서 乳汁 0.1ml당 集落數가 100個 以上이었고, 潛在性乳房炎에서는 *Candida*屬이 分離된 18分房 중 2個分房에서 乳汁 0.1ml당 集落數가 50個 以下이었고, 16分房은 100個 以上이었으며,

正常分房에서는 全例에서 50個 以下の 集落이 認定되었다.

考 察

乳牛乳房炎의 發生率이 諸 外國에서는 20~50%로서 이로인한 經濟的인 損失이 10억불에 이르고 있으며,^{5,11,14)} 우리나라에서는 40~70%를 나타내고 있으므로^{16,17,20,21)} 그 被害도 막대하다고 생각된다.

乳房炎의 原因體로서는 數種의 細菌과 真菌 및 Virus 등이 알려져 있으며, 이들 病原體와 動物體의 抵抗力의 減退 및 여러가지 物理化學的인 要因 등의 복합적인 상관관계에 의하여 乳房炎이 發生되고 있다. 真菌性乳房炎은 細菌性乳房炎의 治療에 있어서 抗菌性藥劑와 steroid hormone을 많이 사용하게된 1950年 以來로 그 發生이 增加되고 있으며, 이에 따라서 世界各處에서 많은 研究가 進行되고 있다.^{5,13)} 現今까지 酵母樣真菌이 乳房炎의 原因體로서 알려진 것은 *Candida*屬, *Cryptococcus*屬, *Trichosporon*屬, *Torulopsis glabrata*, *Saccharomyces*屬, *Hansenula*屬, *Pichia*屬 및 *Rhodotorula*屬 등이며, 이들 중에서도 *Candida*屬이 真菌性乳房炎의 60~85%을 차지하고 있음이 알려져 있다.^{4,5,7,13,22)} 우리나라에서는 乳房炎의 乳汁으로

부터 菌種은 同定하지 않았으나 酵母樣眞菌을 分離한 報告^{16,17,20,21}와 呂 및 筆者^{18,19}에 의하여 大邱近郊의 乳牛로 부터 酵母樣眞菌에 起因하는 乳房炎의 發生狀況과 正常分房에서의 汚染狀況, 菌種同定, 病原性檢査, 抗眞菌性藥劑에 대한 感受性 및 治療試驗 등 疫學的인 研究가 이루어져 있다.

본 研究에서는 晋州近郊의 Holstein種 乳牛 56頭 166分房을 대상으로 하여 酵母樣眞菌의 乳房炎에의 關與狀況 및 菌種의 分布狀態를 알기 위하여 이들 乳汁을 檢査하였으며 分離된 酵母樣眞菌 42株에 대하여 形態學的, 生物化學的 및 血清學的檢査에서 *C. Nrusei* 26株, *C. albicans* 6株, *C. pseudotropicalis* 4株 및 *T. glabrata* 6株로 同定되었으며, 이들의 性狀檢査成績은 先人^{6,7}들의 所見과 一致되었다. 한편 酵母樣眞菌의 分離率은 總 分房의 25.3%로서, Farnsworth 및 Sorensen⁴이 正常牛의 分房에서 3.2%, Monga 및 Kalra⁸가 乳房炎罹患牛 및 正常牛의 分房으로 부터 2.2%, 大邱近郊에서 臨床型 및 潛在性乳房炎과 正常牛의 分房에서 4.3%와¹⁹ 比較하면 본 調査에서의 分離率이 높은 것은 檢査分房數가 적은데에 기인된 것으로 생각된다.

臨床型乳房炎의 14例중 8例는 抗菌性藥劑로서 治療를 받았으나 治癒가 되지 않았던 分房由來의 것으로 酵母樣眞菌이 1次的 또는 二次的인 感染인지 확실하지 않으나, 기타 6分房의 例와 潛在性乳房炎 18例는 抗菌性藥劑의 投與 經歷이 없는 分房由來의 것으로, 細菌은 分離되지 않고 酵母樣眞菌만이 分離된 점으로 보아 酵母樣眞菌에 의한 一次的인 乳房炎임을 알 수 있었다. 본 檢査에서 分離된 *Candida*屬의 3種과 *T. glabrata*는 先人들의 報告^{4, 5, 7, 13, 18, 19, 22}에서도 乳房炎의 起炎菌임이 認定되고 있으며, *C. krusei*가 眞菌性乳房炎의 乳汁으로 부터 分離率이 가장 높은 점은 Farnsworth 및 Sorensen⁴, 兩宮 등²³과 우리나라의 大邱近郊¹⁹에서의 報告와 一致되고 있어서 *C. krusei*에 의한 乳房炎의 發生이 많을 것이라 生覺되며, 우리나라의 다른 地域에도 이들 眞菌性乳房炎의 發生이 많을 것이라 豫상된다. 따라서 앞으로 이

에 대한 더 많은 研究가 이루어져야 할 것으로 思料된다.

結 論

眞菌性乳房炎의 本態를 알기 위하여 晋州近郊의 6個牧場 58頭 166分房을 대상으로 臨床型乳房炎, 潛在性乳房炎 및 正常分房의 乳汁에서의 酵母樣眞菌의 感染 및 汚染狀態를 調査研究하였다.

酵母樣眞菌이 分離된 것은 3個牧場 42分房(25.3%) 42株이었고, *Candida*屬 36株(85.7%)와 *Torulopsis glabrata* 6株(14.3%)로 同定되었으며, *Candida*屬의 菌種은 *Candida krusei* 26株, *Candida albicans* 6株, *Candida pseudotropicalis* 4株이었다. 이들 *Candida*屬은 臨床型 및 潛在性乳房炎에 關與하고 있었고, 正常分房의 乳汁에도 汚染되고 있었다.

이상에서와 같이 *Candida*屬菌은 우리나라의 乳牛牧場에 널리 分布되어 있고, 乳房炎에도 關與되고 있으므로 이에 대한 더 많은 研究와 治療預防 對策이 강구되어야 겠다.

[附記] 이 研究는 1981年度 文敎部 學術研究助成費에 의하여 이루어진 것임.

〈參考文獻〉

1. Biancardi, G., Binaghi, C., Giorgi, G. C., Milani, R., Morganti, L. and Bandini, U.: Mastite micotica bovina; contributo terapeutico. Atti, della, Societa, Italiana di Buiatria. (1976) 8:158.
2. Buxton, A. and Fraser, G.: Animal Microbiology. Vol. 1, Blackwell Scientific Publication Ltd, London (1977)
3. Dobbin, C. N.: Mastitis losses. J. Amer. Vet. Med. Ass. (1977) 170:1129.
4. Farnsworth, R. J. and Sorensen, D. K.: Prevalence and species distribution of yeast in mammary glands of dairy cows in Minnesota. Canad. J. Comp. Med. (1972) 36:329
5. Galli, G.: Observations and research on bovine mycotic mastitis. Vet. Ital. (1954) 5:587.
6. Larone, D. H.: Medically important fung. Harper and Row Publishers, New York (1975).
7. Lodder, J.: The yeast. A taxonomic study. 2nd ed., North-Holland Publishing Co., Amsterdam (1971) p. 35.

8. Monga, D.P. and Kalra, D.S.:Prevalence of mycotic mastitis among animals in Harma, Indian J. Anim. Sci. (1971) 41:813.
9. Prasad, L.B.M. and Prasad, S.:Bovine mastitis caused by a yeast. Vet. Rec. (1966) 78:809.
10. Rolle, M.:Dtsch. Tierarztl. Wschr. (1934) 42:385.
11. Schalm, O.W., Coroll, E.J. and Jain, N.C.:Bovine mastitis, Lea and Febiger Co., Philadelphia(1961).
12. Sinha, V.K., Sinha, B.K., Mishra, S.S.:Fungal mastitis;Its diagnosis and treatment, Indian Vet. J. (1974) 51:647.
13. Stuart, R.:An outbreak of bovine mastitis from which yeasts were isolated and attempts to reproduce the condition experimentally. Vet. Rec. (1951) 63:314.
14. Wilson, C.D.:The microbiology of bovine mastitis in Great Britain, Bull. Off. Int. Epiz. (1963) 60:533.
15. Wolf, P.L., Russell, B. and Schimoda, A.:Practical clinical microbiology and mycology;techniques and interpretation, John Willy and Son Co., New York(1975) p.318.
16. 羅鎮洙, 康炳奎:全南地域乳牛乳房炎의 疫學的 調查研究, 大韓獸醫學會誌(1975) 15:83.
17. 石湖峰, 李光源, 吳成龍:成歡地域의 乳牛乳房炎에 관한 研究. I. 乳房炎의 發生實態와 그 原因調查, 大韓獸醫學會誌(1981) 21:161.
18. 呂相建, 崔源弼:Candida krusei에 의한 乳牛乳房炎. 大韓獸醫學會誌(1980) 20:39.
19. 呂相建, 崔源弼:乳牛乳房炎에 關여하는 酵母樣眞菌에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌(1981) 21:5.
20. 鄭昌國, 韓弘栗, 鄭吉沢:우리나라 젖소 乳房炎 原因菌의 疫學的 調查 및 治療에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌. (1970) 10:39.
21. 卓鍊斌, 金永洪, 金和植:慶北地方 乳牛乳房炎의 疫學的 調查 및 治療對策에 關한 研究. 韓國獸醫公衆保健學會誌 (1980) 4:41.
22. 黑田正彦, 宮崎秋之:牛の乳房炎起炎菌に關する研究. I, yeast likefungil に因ると 考えられる 乳房炎. 長崎縣 衛研報告(1961) 3:10.
23. 兩宮淳三, 田代哲之:鹿兒島における乳牛の乳並びに 糞よりの 酵母の 分離について. 鹿兒島大學 農学部 學術報告(1978) 28:113.

Studies on the *Candida* sp. in the Quarter Milk from Dairy Cows

Won Pil Choi, D. V. M., M. S., Ph. D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongbuk National University

Bong Hwan Kim, D. V. M., M. S., Ph. D.
and Sang Yong Choe, D. V. M., M. S.

Department of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University.

Abstract

The present study was conducted in order to investigate *Candida* sp. associated with bovine mastitis epidemiologically in the Jinju district.

A total of 42 strains of yeast-like fungi isolated from 166 quarter milk were identified as 26 strains of *Candida krusei*, 6 strains of *Candida albicans*, 4 strains of *Candida pseudotropicalis* and 6 strains of *Torulopsis glabrata*.

Candida krusei, *Candida pseudotropicalis* and *Torulopsis glabrata* were isolated as the causative agents from 14 quarters with clinical mastitis, *Candida krusei* and *Candida albicans* were isolated as the causative agents from 18 quarters with subclinical mastitis, *Candida krusei* were isolated as the contaminants from 10 normal quarters.