大韓獸醫學會誌 (2014) 第 54 卷 第 1 號
Korean J Vet Res(2014) 54(1) : 49~52
http://dx.doi.org/10.14405/kjvr.2014.54.1.49

<단 보>

일반목장과 로봇착유 목장에서 분리한 세균과 *Staphylococcus aureus*의 항생제 감수성 비교

이성환 · 김 두*

강원대학교 수의과대학 동물의학종합연구소

(접수: 2013년 6월 18일, 수정: 2014년 1월 24일, 게재승인: 2014년 2월 5일)

Comparison of pathogens and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from conventional and robotic milking herds

Sung-Hwan Lee, Doo Kim*

College of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

(Received: June 18, 2013; Revised: January 24, 2014; Accepted: February 5, 2014)

Abstract : This study was conducted to compare the patterns of mastitic pathogens and the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* from conventional milking (CM) and robotic milking (RM) dairy herds. To accomplish this, the minimum inhibitory concentrations of 14 antimicrobial agents were tested against *S. aureus* by the microdilution method. Regardless of the milking system, *S. aureus,* coagulase negative staphylococcus, and *Streptococcus uberis* were isolated. Additionally, significant differences in the antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolates between RM and CM farms were only observed in response to tetracycline.

Keywords : antimicrobial susceptibility, robot milking, *Staphylococcus aureus*

로봇착유 시스템은 중앙컴퓨터, 로봇 팔, 착유장비와 소들의 이동이 원활하도록 기타 추가 장비를 이용하여 젖소들이 자발적으로 착유 칸에 들어가 착유하도록 고안한 장비이다. 로봇착유 시스템이 유방염에 미치는 영향에 대하여 Bijl 등 [2]은 로봇착유 시스템에서 유방염 발생이 감소할 수 있다고 보고하였지만 Kruip 등 [7]은 로봇착유 시스템에서 유방염을 의심할 수 있는 높은 체세포 수 증가를 관찰하였다고 보고하였다. 국내에서는 로봇착유 시스템이 최근에 도입되어 목장에서 젖소의 유방염 관리 프로그램에 대한 명확한 기준이 없는 상태이며 로봇착유 시스템이 유방염에 미치는 영향에 대한 연구도 이루어지지 않은 실정이다.

전 세계적으로 젖소의 유방염으로부터 분리된 *Staphylococcus* (*S.*) *aureus*와 coagulase-음성 staphylococci(CNS)의 내성 증가가 보고되고 있으며 [1, 3], 항생제의 오용이나 남용은 다양한 세균 사이에 내성의 발현을 유도하고 축산물에 잔류문제를 야기하며 동물과 사람의 건강에 영향을 미칠 수 있다 [5]. 본 연구에서는 로봇착유 목장과 일반착유 목장의 유즙에서 유방염 원인균을 분리하여 각 목장의 유방염 관리 상태에 따른 원인균의 분포상태를 확인하고, 분리 동정한 *S. aureus*의 항생제 감수성 검사를 통하여 착유 방식의 차이에 따른 항생제 내성에 차이가 있는지를 조사하였다.

본 연구를 수행하기 최소 1년 전부터 로봇착유 시스템을 사용한 목장 8곳을 실험 목장으로 선정하였고 각 로봇착유 목장 인근의 일반착유 목장을 대조군으로 선정하였다. 2009년 7월부터 9월까지 각 목장의 집합유 냉각기 4곳에서 유즙을 무균적으로 채취하였으며 NMC의 표준배양방법 [10]과 Sato 등 [11]의 방법에 의하여 배양을 실시하였다.

S. aureus 분리주의 항생제 감수성 검사는 총 14종의 항생제(ampicillin, bacitracin, cephalothin, chloramphenicol, norfloxaxin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, oxacillin, penicillin, streptomycin, sulphamethoxazole, tetracycline, vancomycin)를 이용하여 실시하였으며, 검사방법은 National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)의 기준에 따라 최소억제농도(minimum inhibitory concentration,

*Corresponding author
Tel: +82-33-250-8655, Fax: +82-33-244-2367
E-mail: kimdoo@kangwon.ac.kr

Table 1. Bacterial isolation of 8 robotic and 8 conventional milking herds

Farm type	Farm	Number of isolates			Problems
		SA	CNS	SU	
Robotic	A	5	6	2	Dipping & washing
	B	3	4	1	Dipping
	C	0	4	8	Washing
	D	7	5	1	Dipping
	E	2	3	4	Washing
	F	4	7	2	Dipping
	G	5	6	3	Dipping
	H	0	4	0	Good
Subtotal		26	39	21	
Conventional	I	4	7	6	Dipping & washing
	J	0	3	4	Washing
	K	6	4	2	Dipping
	L	1	3	1	Dipping
	M	3	5	5	Dipping & washing
	N	0	2	1	Good
	O	0	4	3	Washing
	P	5	6	3	Dipping & washing
Subtotal		19	35	25	
Total		45	74	46	

SA: *Staphylococcus aureus,* CNS: coagulase negative *Staphylococcus*, SU: *Streptococcus uberis.*

MIC)를 파악할 수 있는 미량희석법(microdilution method)을 사용하였다 [3, 4]. 그리고 배양 후 *S. aureus*의 증식을 억제하는 가장 낮은 항생제 농도를 MIC로 판정하였다 [4]. 로봇착유 목장과 일반착유 목장에서 분리된 *S. aureus*의 각 항생제에 대한 감수성을 비교하기 위하여, NCCLS의 해석기준과 구분점을 사용하였으며 모든 분리균의 각 항생제에 대한 MIC_{90}(분리된 균주의 90%가 나타내는 MIC 농도)은 감수성을 구분하는 구분점으로 사용하였다 [11]. 착유 유형에 따른 각 항생제에 대한 *S. aureus*의 감수성의 차이는 logistic regression analysis로 분석하였다.

각 목장의 유방염 원인균의 분리 상태를 확인하기 위하여 유방염 원인균을 분리 동정한 결과, Table 1과 같이 로봇착유목장에서는 *S. aureus* 26주, CNS 39주와 *Streptococcus* (*Str.*) *uberis* 21주가 분리되었다. 일반착유 목장에서는 *S. aureus* 19주, CNS 35주와 *Str. uberis* 25주가 분리되었다. 분리된 유방염 원인균은 착유방식과 관계없이 *S. aureus*와 CNS는 착유 전과 착유 후 유두침지 소독이 불충분한 목장에서 주로 분리되었으며 *Str. uberis*는 유방세척이 불충분한 목장에서 주로 분리되었다.

일반착유 목장에서 분리된 *S. aureus* 19주의 각 항생제에 대한 MIC_{90}은 ampicillin 0.5 μg/mL, bacitracin 128 μg/mL, cephalothin 8 μg/mL, chloramphenicol 4 μg/mL, norfloxaxin 1 μg/mL, erythromycin 0.25 μg/mL, gentamicin 2 μg/mL, kanamycin 16 μg/mL, oxacillin 8 μg/mL, penicillin 8 μg/mL, streptomycin 64 μg/mL, sulphamethoxazole 512 μg/mL, tetracycline 1 μg/mL, vancomycin 0.25 μg/mL이었다. 로봇착유 목장에서 분리된 *S. aureus* 26주의 각 항생제에 대한 MIC_{90}은 ampicillin 1 μg/mL, bacitracin 64 μg/mL, cephalothin 2 μg/mL, chloramphenicol 4 μg/mL, norfloxaxin 1 μg/mL, erythromycin 0.25 μg/mL, gentamicin 1 μg/mL, kanamycin 8 μg/mL, oxacillin 2 μg/mL, penicillin 2 μg/mL, streptomycin 16 μg/mL, sulphamethoxazole 1,024 μg/mL, tetracycline 16 μg/mL, vancomycin 0.5 μg/mL이었다. 일반착유 목장에서 분리된 세균의 일부는 ampicillin(15.8%), bacitracin(10.6%), norfloxacin(5.3%), oxacillin(10.5%), penicillin (31.7%), streptomycin(15.8%), sulphamethoxazole(63.1%)에 대해 내성을 나타내었고 로봇착유 목장에서 분리된 세균의 일부도 ampicillin(26.8%), bacitracin(3.8%), norfloxacin(7.6%), oxacillin(3.8%), penicillin(26.7%), streptomycin(7.6%), sulphamethoxazole(50.0%), tetracycline(19.2%)에 대해 내성을 나타내었으며, 로봇착유 목장과 일반착유 목장에서 분리된 *S. aureus* 사이에 항생제에 대한 내성의 차이는 tetracycline에서만 관찰되었다($p < 0.05$, Table 2).

본 연구에서 로봇착유 목장과 일반착유 목장에서 채취된 유즙 샘플에서 분리 동정된 주요한 원인균들은 *S. aureus*, CNS, 그리고 *Str. uberis*로 나타났다. 분리 동정된 원인균들의 종은 착유 시스템의 차이보다는 유두침지 소독이나 유방세척과 같은 기본적인 유방염 관리 절차의 정확한 이행 여부에 영향을 받는 것으로 나타났다. 일부의 로봇착유 목장과 일반착유 목장에서는 임상형 유방염의 발생과 함께 체세포수의 증가도 관찰되었다. 따라서 유두침지 소독이나 유방세척과 같은 기본적인 유방염 관리 절차의 필요성이 인식되고 있으며 이에 대한 주의 깊은 관찰이 필요한 것으로 여겨진다.

본 연구에서 분리된 *S. aureus*는 ampicillin, bacitracin, norfloxaxin, oxacillin, penicillin, streptomycin, sulphamethoxazole, tetracycline에 대하여 내성을 나타내었으며 각 항생제의 내성률은 국내에서 보고된 논문에서보다 대체로 낮게 나타났다 [6, 8, 9]. Sato 등 [11]이 조사한 덴마크와 미국의 유기농 목장과 일반 목장에서 분리된 *S. aureus*는 oxacillin과 tetracycline에 대해 항생제 내성을 나타내지 않았지만 본 연구에서는 두 항생제에 대해 내성을 나타내었으며, Gianneechini 등 [4]이 조사한 우루과이 지역 젖소목장에서 분리된 *S. aureus*의 항생제 감수성 결과에서는 oxacillin과 sulphamethoxazole에 대한 내성을 나타내지 않았지만 본 연구에서는 내성을 나타냈다.

본 연구의 로봇착유 목장과 일반착유 목장에서 분리된 대부분의 *S. aureus*가 각 항생제에 대한 MIC_{90}이 비슷한 수준을 보였으나 tetracycline의 경우에는 두 착유 시스템의 MIC_{90}에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. Tetracycline에 대한 이러한 유의한 차이는 착유 시스템의 차이가 원인이라기보다는 각 목장 별로 사용하는 항생제의 선호도 차이가 원

Table 2. Antimicrobial susceptibility to 14 drugs in 45 *Straphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk samples collected from conventional (n = 19) and robotic (n = 26) milking dairy farms

Antimicrobial agents	Farm type	Percent of isolates at each indicated MIC (μg/mL)															
		<0.06	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	≦1024
Ampicillin	CM	57.9	10.5	15.8		10.5		5.3									
	RM	26.9	23.1	15.4	7.7	7.7	11.5	3.8		3.8							
Bacitracin	CM										10.5	63.2	15.8	5.3	5.3		
	RM				3.8	3.8	7.7	7.7	7.7	3.8	11.5	26.9	23.1	3.8			
Cephalothin	CM		52.6	15.8	10.5	5.3				10.5	5.3						
	RM		42.3	19.2	15.4	11.5		7.7	3.8								
Chloramphenicol	CM							26.3	68.4	5.3							
	RM						3.8	50.0	38.5	3.8	3.8						
Norfloxacin	CM				68.4	15.8	10.5	5.3									
	RM		7.7	19.2	7.7	42.3	15.4	3.8	3.8								
Erythromicin	CM		10.5	5.3	84.2												
	RM		7.7	50.0	38.5	3.8											
Gentamicin	CM		10.5		5.3	36.8	31.6	10.5	5.3								
	RM		61.5	11.5	7.7	3.8	7.7	3.8		3.8							
Kanamycin	CM						10.5	47.4	10.5	15.8	10.5	5.3					
	RM			30.8	19.2	7.7	15.4	15.4		7.7		3.8					
Oxacillin	CM		26.3		26.3	21.1	10.5	5.3		10.5							
	RM		19.2	23.1	15.4	30.8		7.7	3.8								
Penicillin	CM		31.6	36.8	10.5	5.3			5.3	5.3		5.3					
	RM		53.8	19.2	11.5	3.8		3.8		3.8			3.8				
Streptomycin	CM							10.5	15.8	52.6	5.3		15.8				
	RM			3.8	3.8	19.2	26.9	23.1	11.5		3.8			3.8	3.8		
Sulphametho-xazole	CM											5.3	15.8	10.5	5.3	57.8	5.3
	RM									3.8	7.7	7.7	7.7	11.5	11.5	30.8	19.2
Tetracycline	CM			15.8	21.1	47.4	10.5		5.3								
	RM		19.2	26.9	11.5	3.8	3.8	7.7	3.8	3.8	11.5	7.7					
Vancomycin	CM			47.4	47.4	5.3											
	RM			3.8	57.7	38.5											

MIC_{90} of each antibiotic was shown as an underline. Interpretive criteria (resistant) are shown as vertical borders. Interpretive standards are based on NCCLS M31-A2. CM: conventional milking farms, RM: robotic milking farms.

인인 것으로 판단되며 일부 항생제에 대한 감수성의 차이는 본 연구의 표본 크기가 16개의 목장으로 크지 않았기 때문에 본 연구에서 샘플을 채취한 목장의 특성으로 판단하여야 할 것이다.

결론적으로, 로봇착유 목장과 일반착유 목장의 유즙에서 분리된 세균의 종은 착유 시스템의 차이보다는 유방세척과 유두침지 소독과 같은 유방염 관리대책의 영향을 받았으며, 로봇착유 목장과 일반착유 목장의 유즙에서 분리된 세균의 항생제에 대한 감수성에는 약간의 차이가 인정되었다.

감사의 글

본 연구는 강원대학교 동물의학공동연구소의 부분적인 지원으로 수행되었습니다.

References

1. **Aarestrup FM, Jensen NE.** Development of penicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Denmark and other countries. Microb Drug Resist 1998, **4**, 247-256.
2. **Bijl R, Kooistra SR, Hogeveen H.** The profitability of automatic milking on Dutch dairy farms. J Dairy Sci 2007, **90**, 239-248.
3. **Gentilini E, Denamiel G, Llorente P, Godaly S, Rebuelto M, DeGregorio O.** Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. J Dairy Sci 2000, **83**, 1224-1227.
4. **Gianneechini RE, Choncha C. Franklin A.** Antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy herds in the west littoral region of Uruguay. Acta Vet Scand 2002, **43**,

31-41.
5. **Grave K, Lingaas E, Bangen M, Rønning M.** Surveillance of the overall consumption of antibacterial drugs in humans, domestic animals and farmed fish in Norway in 1992 and 1996. J Antimicrob Chemother 1999, **43**, 243-252.
6. **Kang HJ, Kim IC, Kim JH, Son WG, Lee DS.** Identification and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from bovine mastitic milk. Korean J Vet Res 2001, **41**, 511-521.
7. **Kruip TAM, Morice H, Robert M, Ouweltjes W.** Robotic milking and its effect on fertility and cell counts. J Dairy Sci 2002, **85**, 2576-2581.
8. **Lee JC, Lee CY, Kim SK, Lee CG, Suh GH.** Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from quarter milk samples of Holstein cows. J Vet Clin 2003, **20**, 166-171.
9. **Lim SK, Lim JH, Joo YS, Moon JS, Lee AR, Koh HB.** Antimicrobial effects of β-lactamase inhibitor/β-lactam antibiotics on Staphylococcal mastitis. Korean J Vet Res 2003, **43**, 113-120.
10. **National Mastitis Council.** Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis. The National Mastitis Council, Verona, 2002.
11. **Sato K, Bennedsgaard TW, Bartlett PC, Erskine RJ, Kaneene JB.** Comparison of antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk in organic and conventional dairy herds in the midwestern United States and Denmark. J Food Prot 2004, **67**, 1104-1110.