

젖소의 乳房炎 檢診을 위한 Modified Whiteside Test 法과 California Mastitis Test 法の 比較試驗에 關하여

趙斗衍 · 鄭昌國

서울大學校 農科大學

緒 言

近年 우리나라에 乳牛頭數가 점차 증가함에 따라 乳房炎 문제도 크게 대두되기 시작하였다.

Murphy^(5,6)와 Neave 등^(8,9)은 乳房內에 病原菌이 存在하더라도 보통 臨床症狀를 나타내지 않기 때문에看過해 버리는 準臨床的 乳房炎을 더 중요시 했고 이들은 乳量을 감소시키고 항상 健康牛에 대한 感染源이 될수 있기 때문에 이의 豫防과 治療의 緊要성을 강조하였다.

乳房炎의 檢診은 細菌學的 檢査가 가장 확실한 方法이나 時間과 經濟的 面에서 실제 臨床에는 많은 制約을 받게되며 臨床 檢診法으로는 modified Whiteside test 法과 californa mastitis test 法이 널리 利用되고 있다. 이 두 方法은 모두 炎症性 乳汁에 出現하는 白血球와의 反應에 依하여 乳汁中 白血球數를 推定하므로서 乳房炎의 進行程度를 診斷하는 間接的인 檢診法으로 使用되고 있다. 그러나 乳房炎 檢診에 있어서 以上 두 方法의 精確성이 比較調査된바 없고 실제 우리나라의 乳房炎 感染狀態와 炎症性 乳汁의 白血球 增加數가 밝혀져야 檢診液의 反應度에 依한 乳房炎 檢診의 精確성을 알수 있을 것이다.

따라서 本人들은 372 例의 乳汁에 이 두檢診液을 적용하여 그 反應도를 觀察하고 그 乳汁 1ml 中の 白血球數를 算定함과 아울러 細菌檢査를 實施하여 이 두檢診法中 어느쪽이 乳房炎을 精確하게 檢出하는가를 比較하기 위하여 本試驗을 實施하였다.

材料 및 方法

本 試驗은 水原近郊에 散在하는 6 個牧場에서 93 頭의 372 分房을 대상으로 하였으며 乾乳期의 乳牛및 分娩後 10 日 以內의 乳牛는 本 試驗에서 除外하였다.

供試乳의 採取: 乳汁 採取 直前に 乳頭와 乳頭孔을 알콜綿으로 充分히 消毒하고 처음 2~3ml 는 짜버린후

약 10ml 의 前乳를 乾熱滅菌한 고무栓瓶에 無菌的으로 採取하여 冷藏箱에 넣어 즉시 實驗室로 운반하였다.

細菌檢査: 採取된 乳汁이 실험실에 도착한 즉시 약 0.01ml 를 家兔血液寒天培地에 接種하여 37°C 에서 24 ~48 時間 培養하였다. 乳房炎 原因菌의 分離同定은 集落의 樣相, 溶血性 및 顯微鏡 所見에 의하여 菌屬까지만 同定하였고 Staphylococcus aureus 는 試驗管法 coagulase test 로, Streptococci 屬菌은 catalase test 로 同定하였다.

白血球數의 算定: 乳汁 1ml 中 白血球數의 算定은 美保健省의 "Standard Method for the Examination of Dairy Products (1960)"⁽¹⁸⁾에 의거하였다. 供試乳 0.01 ml 를 slide 上 1cm² 의 區劃內에 塗抹하고 Newmann 染色液으로 염색하여 970 倍의 현미경으로 50 視野씩 관찰하였다. 計算은 50 視野의 全白血球數에 作業係數 10,000 을 곱하여 算出하였고 이 과정은 2 回 반복 실시하여 그 平均値를 取하였다.⁽¹⁷⁾

modified Whiteside test(MWT)의 判定: 本 檢査法은 Murphy 와 Hanson⁽⁷⁾의 方法에 依하여 실시하였다. 黑色 bakelite 板에 冷乳 5 滴과 4% NaOH 용액 1 滴을 혼합하고 攪拌棒으로 약 20 秒 동안 세차게 攪拌하여 그 反應度에 따라 다음 5 等級으로 分類判定하였다.

(-) : 混合物이 不透明하고 凝固粒子가 나타나지 않는 狀態

(±) : 混合物은 不透明하나 分散된 微細한 粒子를 보이는 狀態

(+) : 攪拌中 少量의 粘稠物이 나타나나 攪拌棒에는 附着되지 않으며 各반을 계속하면 乳清과 粒子로 分離되는 狀態

(++) : 攪拌과 거의 同時에 混合物은 粘稠性을 띄고 凝固物은 攪拌棒에 附着되며 粒子樣物質이 乳清中에 纖維모양으로 凝結되는 狀態

(+++): 混合物은 즉시 凝固物을 형성하고 攪拌을 계속하면 乳清과 絲狀으로 凝結된 粒子樣物質로 分離되

거나 때로는 粘稠性이 강한 凝固物이 板上에 附着되는 狀態

california mastitis test(CMT)의 判定: 本 檢査法은 Schalm 등⁽¹⁴⁾의 方法에 의하여 실시하였다. 白色의 plastic paddle에 分房別로 약 3ml의 乳汁과 同量의 CMT 檢진액을 넣고 약 10 秒 동안 흔들어서 그 反應度에 따라 다음 5 等級으로 分類判定하였다.

(-): 凝集物이 나타나지 않고 乳汁에 檢診液을 加한 그대로의 均一한 狀態

(±): 若干의 凝集物이 나타났다가 계속흔들면 消滅되는 狀態.

(+): 明白한 凝集物을 보이나 膠樣性이 없는 狀態

(#): 若干의 膠樣性을 띤 凝集物을 볼수 있으며 혼합물의 중앙에 頂點이 형성되거나 멈추면 사라지는 狀態

(##): 강한 膠樣性을 띤 凝集物이 paddle 바닥에 附着하고 운동을 정지해도 그 中央에 형성된 頂點이 消滅되지 않는 狀態.

試驗結果

MWT 및 CMT 의 判定等級別 白血球數值의 比較:

乳汁에 대해 두 檢診液이 나타내는 반응도의 判定等級別 乳汁 1ml中 白血球數의 比較는 <表 1>에 기록된 바와 같다.

美保健省의 "Screening Test for the Detection of Abnormal Milk(1965)"⁽¹⁵⁾에 의하여 判定等級(-)에 백혈구수 0~20萬, (±)에 20萬~100萬, (+)에 40萬~160萬, (#)에 80萬~500萬, (##)에 300萬 以上으로 各各 그 範圍를 設定하고 이를 두 檢진법에 동일하게 적용하여 상호 比較해보면 백혈구수 0~20萬 사이에서 (-)반응을 나타내는 것이 MWT 로는 114例(53.5%), CMT 로는 123例(76.4%)였으며, 백혈구수 21萬~100萬이며 (±)반응을 나타내는 예가 MWT 로는 49例(59.0%), CMT 로는 87例(88.8%)였고, 백혈구수 41萬~160萬이며, (+)반응을 나타내는 예가 MWT 로는 29例(78.4%), CMT 로는 60例(87%), (#)반응의 경우는 MWT 로 1例가 백혈구수 501萬 以上이었고, CMT 로는 모두 백혈구수 81萬~500萬의 範圍內에 포함되었다. (##)반응에서는 두방법 各 16例가 모두 백혈구수 300萬 以上이었다.

MWT 와 CMT 의 判定等級의 一致: 372 分房의 同一供試乳를 MWT 및 CMT 에 提供하여 그 反應의 一致度를 比較하였던 바 各 判定等級別 一致率은 <表 2>에 표시된 바와 같다. 判定等級(-)에서 132例(62.4%), (±)에서 30例(36.2%), (+)에서 17例(45.9%),

Table 1. Comparison of Ranges of Total Leukocyte Values and Degrees of Reaction Resulted from Modified Whiteside and California Mastitis Test for 372 Quarter Milk Samples.

No. of WBC/ml (0.000)	Degrees Methods	Degrees					Total
		-	±	+	#	##	
0~20	MWT/CMT	114/123	18/9				132
21~40	MWT/CMT	42/20	12/34	1/1			55
41~60	MWT/CMT	22/6	14/28	3/5			39
61~80	MWT/CMT	11/8	20/13	4/14			35
81~100	MWT/CMT	17/4	3/12	5/10	1/1		26
101~120	MWT/CMT	3/1	4/1	3/10	1/1		11
121~140	MWT/CMT	1/0	6/0	7/14	1/1		15
141~160	MWT/CMT	0/0	3/1	7/7	1/3		11
161~180	MWT/CMT	2/1	1/5	2/5	2/2		7
181~200	MWT/CMT	1/1	1/3	1/3	3/3		6
201~300	MWT/CMT		1/2	2/5	5/8		8
301~500	MWT/CMT			2/11	8/3	3/2	13
500 over	MWT/CMT				1/13	14/14	14
Total	MWT/CMT	213/161	83/98	37/69	23/28	16/16	372

(#)에서 17例(78.3%), (##)에서 14例(87.5%)로사 都合 210例(56.4%)가 一致하였다.

Table 2. Comparison of Modified Whiteside and California Mastitis Tests Showing Agreement. Figures at Junctions of Similar Ratings

		Modified Whiteside Test					Total
		-	±	+	#	##	
California Mastitis Test	-	132	26	3			161
	±	60	30	8			98
	#	21	27	17	4		69
	##			9	17	2	28
					2	14	16
Total		213	83	37	23	16	372

乳房炎 感染狀態와 乳汁의 白血球數와 CMT 判定:

372例의 乳汁에 대해 細菌檢査, 白血球數 算定 및 CMT 를 실시한 결과는 <表 3>에 표시한 바와 같다.

Table 3. Summary of the Bacteriological Culture and Total Leukocyte Count to C.M.T. Scores

CMT Scores	WBC + Bact +	WBC + Bact -	WBC - Bact +	WBC - Bact -	Total
Negative	2	0	48	209	259
Positive	51	32	8	22	113
Total	53	32	56	231	372

Note: CMT Negative:

Positive:

WBC :1 million/ml. in milk or more

:1 million/ml. in milk or less

Bact :Identification of Streptococci and Staphylococcus aureus.

:No Isolation of pathogens.

總試例 372 例中 109 例(29.3%)가 Staphylococcus aureus 와 Streptococci 屬菌을 保菌하고 있었으며 이 109 例中 53 例(48.6%)가 白血球數 100 萬以上이었다. 白血球數 100 萬 以上이고 病原菌이 檢出된 53 例中 CMT 判定 (+) 以上이 51 例(96.2%), (±) 以下가 2 例(3.8%)였으며 白血球數가 100 萬以下이고 病原菌이 檢出되지 않은 231 例中에서는 209 例(90.5%)가 CMT 判定이 (±) 以下였고, 22 例(9.5%)가 (+) 以上이었다. 乳房炎 感染狀態와 白血球 增加數值 및 CMT 判定이 完全一致되는 경우는 260 例(69.9%), 不完全一致는 88 例(23.6%), 完全不一致는 24 例(6.5%)였다.

考 察

本 試驗에서 372 分房乳汁을 대상으로 MWT 를 적용하고 白血球數를 算定한 결과는 <表 1>에 기록된 바와 같이 MWT 判定 (-)에서 유즙 1ml 중 백혈구수는 0~190 萬, (±)에서 2 萬~210 萬, (+)에서 23 萬~340 萬, (++)에서 50 萬~850 萬, (+++)에서 320 萬~1580 萬으로 밝혀졌다. Esterday 등⁽⁸⁾은 MWT 판정 (-)에서 유즙의 백혈구수는 0~170 萬, (±)에서 0~180 萬, (+)에서 22 萬~780 萬, (++)에서 45 萬~1080 萬, (+++)에서 150 萬~1580 萬이라고 보고하였다. 이에 비해 本人들의 성적에서 MWT 반응등급별 백혈구수의 幅이 약간 좁아졌다고는 하나 현격한 차이를 발견할 수는 없었다. 이와같이 MWT 의 판정등급별 백혈구수치의 범위가 넓었던 이유는 백혈구외에도 유즙중의 fibrin, fat 등의 물질과 유즙의 산성도 및 온도등이 MWT 의 반응에 영향을 미친다는 Petersen 등⁽¹⁰⁾, Schalm 등⁽¹³⁾의 주장이 타당하다고 생각된다.

CMT 判定에 關連되는 白血球數의 범위에 관해서 Schalm 등⁽¹⁴⁾, Schneider 등⁽¹⁶⁾은 乳汁 1ml 中 600 萬個

의 白血球가 포함되어 있는 CMT(##)반응 乳汁을 正常 乳汁으로 階段稀釋하고 CMT 를 실시하여 CMT 판정 (-)는 0~20 萬, (±)는 15 萬~50 萬, (+)는 40 萬~150 萬, (++)는 80 萬~500 萬, (+++)는 500 萬以上으로 乳汁 1ml 中의 白血球數를 標準化한바 있다. 이는 CMT 판정과 백혈구수 산정에 관한 本 試驗결과 <表 1>와는 약간의 차이를 보였으며 이러한 차이는 供試乳가 稀釋되지 않은 原乳이었고 試驗者에 따른 반응의 판정 및 백혈구수 산정의 차이등에서 起因되는 것이라고 생각된다.

서로 다른 供試乳로 실험한 Easterday 등⁽⁸⁾의 MWT 와 Schalm 등^(14,16)의 CMT 성적을 비교해 보거나 同一 乳汁에 의한 本人들의 시험 結果를 비교해 볼때 CMT 法에 의한 판정등급별 白血球數의 범위가 MWT 의 그것보다 월등하게 그 幅이 좁아져서 MWT 의 판정을 근거로하여 유즙의 백혈구수를 추정하고 유방염증의 진행정도를 판단하기는 상당히 곤란할 것이다. 特히 準臨床의 乳房炎의 초기라고 생각되는 반응도 (+) 以下에서 MWT 法과 CMT 法의 判定에 많은 차이를 보였는 이유는 CMT 는 白血球의 성분인 DNA 와 반응하지만⁽²⁾ MWT 는 乳汁의 Fibrin, Fat 등에 의하여 그 반응에 많은 영향을 받을 뿐 아니라 각 판정등급의 한계가 모호하기 때문인 것으로 추측된다.⁽⁴⁾

Aynsley 등⁽¹¹⁾은 538 分房乳汁을 대상으로 CMT 와 細菌檢査를 實施한 결과 97 例(18%)가 Staphylococcus aureus 와 Streptococci 屬菌을 保菌하고 있었고 Easterday 등⁽⁸⁾은 826 例중 139 例(16.8%)가 病原菌을 保菌하고 있었다고 보고한바 있다. 本 試驗에서는 372 分房例中 109 例(29.3%)가 Staphylococcus aureus 와 Streptococci 屬菌을 保菌하고 있었으며 Aynsley 등⁽¹¹⁾ 및 Esterday 등⁽⁸⁾의 그것과 비교할때 우리나라 유우分房의 感染率이 상당히 높아져 있었다.

또한 표 3 과같이 CMT 판정 (##) 以上을 陽性, (+) 以下를 陰性으로 하는한편 乳房炎의 治療對象이 되는 乳汁 1ml 中 白血球數 100 萬以上^(12,16)을 陽性, 100 萬 以下를 陰性으로 하였을때 乳汁의 白血球數值, 細菌檢査, CMT 判定이 完全一致하는 예가 69.9%, 不完全一致가 23.6%, 完全不一致되는 예가 6.5%로 나타났다. 細菌檢査에서 病原菌이 分離되었는데도 乳汁에 白血球가 증가되어 있지 않은 경우는 感染의 초기이거나 汚染等에 원인된 것으로 생각되며 乳汁中의 白血球數는 증가되어 있는데도 病原菌이 分離되지않는 경우는 많은 白血球에 의하여 細菌이 吞食되었거나 非傳染性 乳房炎일 것이라는 Schalm 등^(14,16)의 주장에 의거하여 생각할 수밖에 없을 것이다. 이와같이 CMT 판정과 病原

菌의 感染狀態 및 乳汁의 白血球數值가 不完全一致하는 88例에 대해서 백혈구 산정치의 판정에 따라 32예를 CMT 陽性, 48예를 CMT 陰性 판정에 포함시키던 CMT 반응에 의한 판정에 유즙中 白血球數值의 一致率은 93.5%라고 할 수 있을 것이다.

以上을 總括컨대 同一供試乳를 MWT와 CMT에 提供하여 그 反應度와 乳汁 1ml中 白血球數值를 比較하였던바 MWT로는 그 판정 (-)에서 백혈구수는 0~190萬, (±)에서 2萬~210萬, (+)에서 23萬~340萬, (++)에서 50萬~850萬, (+++)에서 320萬~1580萬이었고 CMT로는 판정 (-)에서 백혈구수는 0~100萬 (±)에서 10萬~150萬, (+)에서 40萬~190萬, (++)에서 120萬~500萬, (+++)에서 440萬~1580萬으로 나타나 CMT가 MWT보다 비교적 정확히 유즙의 백혈구수를 추정할 수 있었다.

結 論

젖소 乳房炎의 臨床檢診法으로 使用되고 있는 MWT의 診斷効率을 CMT와 比較하기 위하여 水原近郊의 6個牧場에서 採取한 372個 分房乳汁를 대상으로 두 乳房炎 檢診液의 反應度를 炎症性 乳汁에 出現하는 白血球數를 基礎로하여 比較觀察하였던 바 그 結果는 다음과 같다.

1. CMT가 MWT보다 그 반응도에 의한 乳汁中 白血球數의 推定이 더한층 정확하였다.

2. CMT와 MWT는 總試例中 56.4%에서 同一한 反應度를 보였고 反應度가 陽性쪽으로 강해짐에 따라 反應의 一致率도 상승하였으며 準臨床의 乳房炎의 檢診에서 더욱 CMT가 예민한 반응을 보였다.

3. CMT는 MWT에 비하여 反應度의 判定限界가 分明하고 操作과 判讀이 容易하였다.

4. CMT 판정, 乳汁의 白血球數 算定值 및 細菌檢査 結果가 完全히 一致하였던 예는 69.9%였으며 CMT와 乳汁中 白血球數 算定值와의 一致率은 93.5%였다.

References

1. Aynsley, L.H. and Jane M.B.: The Use of a Direct Test as an Indication of Sub-clinical Mastitis in Dairy Cattle. *Vet. Rec.*, 77, (1965): 379.
2. Carroll, E.J. and Schalm, O.W.: Effect of Deoxyribonuclease on the California Mastitis Test for Mastitis. *J. Dairy Sci.*, 45, (1962): 1094.
3. Easterday, B.C., Simon, J. and Hanson, R.P.: The Use of the Modified Whiteside Test as a Screen Test for Bovine Mastitis. *J.A.V.M.A.*, 133,

(1958): 470.

4. Frank, N. A. and Pounden, W.D.: A Comparison of the California and Whiteside Mastitis Test. *J.A.V.M.A.*, 132, (1958): 98.
5. Murphy, J.M.: Mastitis-The Struggle for Understanding. *J. Dairy Sci.*, 39, (1956): 1768.
6. Murphy, J.M.: The Invading Organisms and the Host in Bovine Mastitis. *Proc. 61st. U.S. Livestock Sainitary Assoc.*, (1957).
7. Murphy, J.M. and Hanson, J.J.: A Modified Whiteside Test for the Detection of Chronic Bovine Mastitis. *Cornell Vet.*, 31, (1941): 47.
8. Neave, F.K., Dodd, F.H., and Kingwill, R.G.: A Method of Controlling Udder Disease. *Vet. Rec.*, 78, (1966): 521.
9. Neave, F.K., Dodd, F.H., Kingwill, R.G. and Westgarth, D.R.: Control Mastitis in the Dairy Herd by Hygiene and Management. *J. Dairy Sci.*, 52, (1969): 696.
10. Petersen, W.E., Grimmell, J.F. and Schipper, I.A.: Factors involved in the Whiteside reaction. *J. Dairy Sci.*, 33, (1950): 37.
11. Schalm, O.W.: A Syllabus on the Bovine Mammary Glands in Health and Disease. University of California, Davis, Calif. (1962).
12. Schalm, O.W. and Gray, D.M.: Interpretation of the California Mastitis Results on Milk from Individual Mammary Quarters, Bucket Milk and Bulk Herd Milk. *J.A.V.M.A.*, 136, (1960): 195.
13. Schalm, O.W., Gray, D.M. and Noorlander, D.O.: Procedures for the Use of the Whiteside Test on Milk in the Laboratory or Barn. *North. Amer. Vet.*, 36, (1955): 1011.
14. Schalm, O.W. and Noorlander, D.O.: Experiments and Observation Leading to Development of the California Mastitis Test. *J.A.V.M.A.*, 130, (1957): 199.
15. Schalm, O.W., Lasmanis, J., and Carroll, E.J.: Significance of Leucocytic Infiltration into the Milk in Experimental *Streptococcus agalactiae* Mastitis in Cattle. *Am. J. vet. Res.*, 27, (1966): 1537.
16. Schneider, R. and Jasper, D.E.: Standardization of the California Mastitis Test. *Am. J. Vet. Res.*, 25, (1964): 1635.
17. Strynadka, N.J. and Thornton, N.R.: The Accuracy

- of the direct Microscopic(Breed) Count of Bacteria and Leucocytes in Milk. *J. Dairy Sci.*, 20, (1937): 685.
18. U.S. Department of Health, Education and Welfare: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 11th edition. (1960): 94.
19. U.S. Department of Health, Education and Welfare: Screening Tests for the Detection of Abnormal Milk. (1965).

Some Observations on the Comparison of the Modified Whiteside Test and the California Mastitis Test for the Detection of Bovine Mastitis

Doo Yeoun Cho, D.V.M., M.S., Chang Kook Cheong, D.V.M., M.S., Ph.D.
College of Agriculture, Seoul National University

The diagnostic effects of the Modified Whiteside Test (M.W.T.) and the California Mastitis Test (C.M.T.) for detection of bovine mastitis were studied using 372 quarter milk samples collected from six dairy herds in suburbs of Suwon city in order to compare the effectiveness of the two methods. The leucocyte count and bacteriological observation were also performed to support analysing the results. The results obtained were as follows;

1. The CMT showed more specificity than MWT for leucocytes in the abnormal milk.
2. When comparison was based on identical ratings, agreement was obtained in 56.4% of the samples. The stronger reaction had the higher agreement and the CMT was found to be more specific than MWT in detection of the sub-clinical mastitis.
3. The CMT reaction was instantaneous and sufficiently clear-cut.
4. The results of the CMT leucocyte count and bacteriological observation were completely agreed in 69.9% of the samples. When degrees of reaction and the leucocyte count were considered, the CMT showed agreement in 93.5% of the samples.