

乳牛 乳房炎 診斷에 있어서 N-acetyl- β -D-glucosaminidase 値와 分離 原因菌과의 關係

康炳奎 · 南香美 · 孫彰好

全南大學校 獸醫科大學

(1993년 4월 19일 접수)

Relationship between the N-acetyl- β -D-glucosaminidase levels and the presence of mastitis pathogens in bovine mastitis milk samples

Byong-kyu kang, Hyang-mi Nam, Chang-ho Son

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

(Received Apr 19, 1993)

Abstract : A study was carried out to define the relationship between the N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAGase) levels and isolated pathogenic bacteria in 379 quarter fore milk of mastitis suspected samples collected in this clinics. All samples were tested the NAGase, California mastitis test(CMT), Somatic cell count(SCC) and bacterial culture.

Except 111 from 379 samples, 268 bacteria-positive quarter fore milk samples were classified into the latent and mastitis infection group by SCC(500,000 cells per ml), and the mean NAGase levels(nmol/min/ml) of each isolated pathogen in mastitis infection group were *Staphylococcus aureus* 3.067, Coagulase-negative staphylococci 4.083, *Streptococcus agalactiae* 3.594, *Str. uberis* 3.513, *Str. dysgalactiae* 1.640, *E coli* 4.441 and gram negative rods 4.560, respectively. Most of the relationship between mean SCC and NAGase in each pathogen group were highly significant using a student t test($p < 0.05$).

When the mastitis pathogens were classified into minor(Coagulase-negative staphylococci, *Corynebacterium* sp.) and major pathogen group(*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*, gram negative rods), the NAGase levels were higher at major than minor pathogen group. On the other hand, when the mastitis milk samples were classified by SCC(500,000 cells per ml) and by the presence of pathogen(IDF scheme), the NAGase levels were also higher at the mastitis than latent infection. The possibility of combining SCC and NAGase data in order to give the more definitive diagnosis is discussed.

Key words : mastitis, NAGase, CMT, SCC, pathogenic bacteria.

서 론

젖소의 乳房炎 특히 潛在性 또는 準臨床型 乳房炎(su-

bcinical mastitis)¹은 우유생산량 감소에 따르는 막대한 경제적 손실을 초래하는 중요한 유방염의 하나이다. 최근 강조되는 유방염 대책은 잠재성 유방염의 早期發見

* 본 논문의 요지는 1991년도 제 35 차 대한수의학회에서 발표하였음.

과 早期對策이며, 수의사와 낙농가들은 畜牛群에 대한 체계적인 mastitis monitoring system에 따른 지속적인 검토가 수행되어야 한다는 지적이 있다.^{2,3}

유방염의 實驗室的 診斷方法⁴은 첫째 유방 또는 우유 중에 존재하는 病原性 細菌의 확인, 둘째 세균에 대한 宿主의 반응으로서 乳汁中 증가된 體細胞數의 측정, 셋째 병원성 세균의 증식에 따르는 乳房上皮細胞의 損傷을 반영하는 우유성분의 변화를 확인하는데 근거를 두고 있다. 즉, 우유 시료중의 직접적 진단방법인 細菌培養檢査와 간접적 진단방법인 우유중의 體細胞數測定, 우유중으로 누출되는 bovine serum albumin과 antitrypsin의 증명, 우유중에 細胞內 酵素인 N-acetyl-β-D-Glucosaminidase(이하 NAGase)의 증명 그리고 우유의 ion성 물질로써 Na⁺, K⁺, Cl⁻, pH, 電氣傳導度의 측정 또한 lactose, casein과 같은 乳房上皮에서의 우유 합성능력의 저하를 증명하는 방법 등이다.

NAGase는 炎症에 의하여 파괴된 乳房細胞의 lysosome 효소의 하나로서 乳房上皮細胞의 손상정도에 대한 지표가 된다.^{5,6} 이의 측정방법은 비교적 쉬워 유방염의 간접적 진단법으로서 실제 임상에 널리 응용되고 있는 실정이다.⁷⁻¹⁰

그런데 乳房炎이 細菌에 의한 感染의 결과라면 炎症에 따르는 변화를 파악하는 여러 간접적 진단의 결과들은 세균학적 검사결과와 관련하여 평가되어야 할 것이다. 이러한 의미에서 Kitchen 등¹⁰은 乳房炎 原因菌을 크게 minor 및 major pathogen으로 구분하여 각각의 NAGase치를 비교하였던 바 NAGase치의 변화는 病原菌의 존재와 깊은 관련이 있으며 또한 최근 Mattila 등⁶은 NAGase値가 細菌의 virulence 즉, 溶血素 產生菌과 관련이 있다고 보고하고 있다. 단 Kitchen 등¹⁰ 및 Mattila 등⁶의 보고는 주로 minor 및 major pathogen으로 크게 분류한 검토결과로써 NAGase치의 측정에서 얻어지는 여러 소견이 매우 중요함을 강조하고 있다.

따라서 본 연구에서는 젖소 유방염 진단을 위하여 임상적으로 유방염이 의심되어 검사의뢰된 分房乳를 대상으로 균종별에 따르는 NAGase値와 體細胞數의 상호 관련성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

對象動物 및 試料: 1990년 5월부터 약 1년간에 걸쳐 전남지역 목장에서 사육중인 젖소를 대상으로 임상적으로 유방염이 의심되거나 또는 본 대학 부속동물병원에 검사 의뢰되었던 分房乳 379개를 검사하였다.

試料의 採取: Brown 등¹¹의 방법에 준하여 오후 搾乳

時 分房 前乳를 2~3회 착유하여 버린 후 멸균된 병에 약 50ml 정도 무균적으로 채취하여 실험실까지 냉장보관 운반하였다.

細菌學的 檢査: 乳房炎 原因菌의 分離 및 同定은 주로 Brown 등¹¹ 및 Cowan과 Steel¹²의 방법에 준하여 실시하였다.

캘리포니아 乳房炎 檢査: (California Mastitis Test : CMT) : Schalm과 Noorlander¹³의 방법으로 시약은 P-L-tester(日本全藥工業 KK)를 사용하였다.

體細胞數 計算(Somatic Cell Count : SCC) : Prescott와 Breed¹⁴의 방법에 준하여 Broadhurst-Paley의 3段階 染色法으로 염색한 다음 直接檢鏡法으로 실시하였다.

NAGase値 測定: Kitchen⁸에 의해 기술된 방법 및 前報¹⁵에 준하여 基質液은 p-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminidase(Sigma)를 사용하였고, 反應液은 Sodium citrate, Citric acid, Sodium hydroxide 및 Chloroform(臨純藥工業株)을 사용하였으며, 反應停止液은 glycine(Sigma)을 사용하여 실시하였다.

결 과

原因菌의 分離: 분방유 379예의 세균학적 검사에 의한 菌種別 分離頻度는 Table 1과 같다. 29.29%인 111예에서는 菌分離가 되지 않았지만 나머지 268예는 균이 분리되었는데 이중 74.63%에서는 單獨感染, 25.37%에서는 複合感染이었다. 單獨으로 分離되었던 것과 複合

Table 1. The number of single and mixed infections, and the percentage prevalence of microorganisms in 379 quarter fore milk samples of mastitis suspected

Bacterial groups	Number of infections	
	n	%
No bacteria isolated	111	29.29
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	6.33(8.96)*
Coagulase-negative staphylococci	18	4.75(6.72)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	1.06(1.49)
<i>Streptococcus uberis</i>	8	2.11(2.99)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	7	1.85(2.61)
<i>Corynebacterium</i> sp.	7	1.85(2.61)
<i>Escherichia coli</i>	5	1.32(1.87)
Gram negative rods	34	8.97(12.69)
Gram positive bacilli	71	18.73(26.49)
Gram positive cocci	22	5.80(8.21)
<i>Staph. aureus</i> +others	22	5.80(8.21)
Coagulase-negative staph+others	13	5.01(7.09)
Streptococci+others	19	3.43(4.85)
Gram negative rods+others	10	2.64(3.73)
Others	4	1.06(1.49)

* Value in parenthesis is the percentage of bacteria isolated.

Table 2. Comparison between N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAGase) levels and somatic cell count (SCC) to the isolated microorganisms from 379 quarter fore milk samples of mastitis suspected

Bacterial groups	n=	NAGase levels (mean \pm s.e.m)	SCC($\times 10^3$ /ml) (mean \pm s.e.m)
No bacteria isolated	111	1.439 \pm 0.215**	1,965 \pm 304
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	1.836 \pm 0.376**	6,061 \pm 1,893
Coagulase-negative staphylococci	18	1.806 \pm 0.511*	4,860 \pm 2,172
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	4.263 \pm 2.616	7,488 \pm 2,903
<i>Str. uberis</i>	8	1.992 \pm 1.434*	587 \pm 271
<i>Str. dysgalactiae</i>	7	1.017 \pm 0.251*	797 \pm 346
<i>Corynebacterium</i> sp.	7	1.229 \pm 0.440	5,788 \pm 3,510
<i>E coli</i>	5	3.616 \pm 2.132*	11,231 \pm 5,430
Gram negative rods	34	2.348 \pm 0.543**	4,993 \pm 1,910
Gram positive bacilli	71	3.397 \pm 0.433**	7,233 \pm 1,243
Gram positive cocci	22	2.268 \pm 0.797**	1,867 \pm 648
<i>Sta. aureus</i> + others	22	1.720 \pm 0.447**	7,187 \pm 3,342
Coagulase-negative sta. + others	13	1.419 \pm 0.509**	4,424 \pm 2,399
Streptococci + others	19	3.574 \pm 0.795**	12,591 \pm 4,893
Gram negative rods + others	10	3.094 \pm 1.131*	9,814 \pm 4,485
Others	4	6.173 \pm 1.647	9,551 \pm 2,689

* The NAGase levels increased according to SCC increasing(p<0.05).

** The NAGase levels increased according to SCC increasing(p<0.01).

Table 3. Means of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) levels of each microorganisms in latent and mastitis infection from 268 quarter fore milk samples of mastitis suspected

Bacterial groups	NAGase levels	
	Latent ^a (mean \pm s.e.m)	Mastitis ^b (mean \pm s.e.m)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.380 \pm 0.063**	3.067 \pm 0.472
Coagulase-negative staphylococci	0.307 \pm 0.054	4.083 \pm 0.547
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0.520	3.594 \pm 2.760
<i>Str. uberis</i>	0.471 \pm 0.094	3.513 \pm 2.835**
<i>Str. dysgalactiae</i>	0.549 \pm 0.200	1.640 \pm 0.144
<i>Corynebacterium</i> sp.	0.308 \pm 0.064	1.920 \pm 0.552
<i>E coli</i>	0.315 \pm 0.001	4.441 \pm 2.538
Gram negative rods	0.393 \pm 0.050	4.560 \pm 0.871
Gram positive bacilli	0.682 \pm 0.203*	3.847 \pm 0.371**
Gram positive cocci	0.432 \pm 0.054	4.919 \pm 1.608
<i>Sta. aureus</i> + others	0.360 \pm 0.049**	2.853 \pm 0.665*
Coagulase-negative sta. + others	0.388 \pm 0.059	3.069 \pm 0.955
Streptococci + others	0.414 \pm 0.063	4.167 \pm 0.867**
Gram negative rods + others	0.287 \pm 0.039	4.298 \pm 1.391

* The NAGase levels increased according to SCC increasing(p<0.05).

** The NAGase levels increased according to SCC increasing(p<0.01).

a : The latent infection is below 500,000 of SCCs but pathogens presents.

b : The mastitis is above 500,000 of SCCs and pathogens present.

의으로 분리되었던 것을 합하여 보면 staphylococci가 전체의 30.98%를 차지하여 가장 많은 분리율을 보였으며 streptococci는 11.35%의 분리율을 나타냈다.

한편 菌種別 분리頻度を單獨感染에서 보면 *Staphylococcus(Sta.) aureus*가 8.96%, Coagulase-negative staphylococci가 6.72%, *streptococcus(Str.) agalactiae* 1.49%, *Str. uberis* 2.99%, *Str. dysgalactiae* 2.61%, *Corynebacterium* sp. 2.61%, *E coli* 1.87% 등이었으며 분리율이 가장 높았던 것은 gram 양성桿菌으로 26.49%였고, 未同定 gram 음성桿菌도 12.69%로서 두번째로 높은 분리율을 보였다.

菌種別 NAGase値와 體細胞數 및 CMT値와의 비교 : 菌種別에 대한 平均 NAGase値(nmol/min/ml, 이하 단 위생략)와 體細胞數는 Table 2에 나타난 바와 같다. 菌分離가 되지 않았던 111例에서의 NAGase値는 1.439 \pm 0.215 이었고 그리고 *Sta. aureus*가 1.836 \pm 0.376, Coagulase-negative staphylococci가 1.806 \pm 0.511, *Str. agalactiae*가 4.263 \pm 2.616, *Str. uberis*는 1.992 \pm 1.434, *Str. dysgalactiae*는 1.017 \pm 0.251, *Corynebacterium* sp.는 1.229 \pm 0.440, *E coli*는 3.616 \pm 2.132 이었다. 또한 未同定된 gram 음성桿菌, gram 양성桿菌 및 gram 양성球菌은 각각 2.348 \pm 0.543, 3.397 \pm 0.433, 2.268 \pm 0.797 이었다.

細菌이 분리되었던 268個 分房乳에 대해 體細胞數 50 만을 기준으로 하여 潛在性感染(latent)과 乳房炎 陽性(mastitis)으로 分類해서 菌種別로 NAGase値를 비교한 결과는 Table 3과 같다. 乳房炎 陽性例에서의 NAGase値를 세균이 單獨分離된 菌種에서 보면 *Sta. aureus*가 3.067 \pm 0.472, *Str. agalactiae*가 3.594 \pm 2.760, *Str. uberis*가 3.513 \pm 2.835, *Str. dysgalactiae*가 1.640 \pm 0.144, *Corynebacterium* sp.가 1.920 \pm 0.552, *E coli*가 4.441 \pm 2.538 이었다.

Table 4. Means of somatic cell count (SCC) and N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAGase) levels according to CMT scores in 379 quarter fore milk samples of mastitis suspected

CMT	n=379	SCC($\times 10^3$ /ml)		NAGase levels	
		Mean \pm s.e.m.	c.v.(%) [*]	Mean \pm s.e.m.	c.v.(%) [*]
-	162	203 \pm 15	98	0.364 \pm 0.229	48
±	61	2,181 \pm 471	162	1.158 \pm 0.111	74
+	52	5,325 \pm 900	121	3.035 \pm 0.224	53
++	70	12,053 \pm 1,511	104	4.532 \pm 0.365	67
+++	34	17,923 \pm 2,865	93	7.083 \pm 0.529	43

* C.V. : Coefficients of variation ($\frac{S.D.}{Mean} \times 100$) %

Table 5. The number and percentage of infections in minor and major pathogens from 213 quarter fore milk samples of mastitis suspected

Microorganisms [*]	n=213	%
No bacteria isolated	111	52.11
Minor pathogens	25	11.74
Coagulase-negative staphylococci	18	8.45
<i>Corynebacterium</i> sp.	7	3.29
Major pathogens	77	36.15
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	11.27(31.17)**
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	1.88(5.19)
<i>Str. uberis</i> + <i>Str. dysgalactiae</i>	15	7.04(19.48)
Gram negative rods	34	15.96(44.16)

* : These were classified by Kitchen et al¹⁰ as follows :

Major pathogens : *Staphylococcus aureus*,
Streptococcus agalactiae,
Str. uberis,
Str. dysgalactiae and
 Gram negative rods

Minor pathogens : Coagulase-negative staphylococci and
Corynebacterium sp.

** : Value in parenthesis is the percentage of all major pathogens.

terium sp. 는 1.920 \pm 0.552 이었다. 또 gram 양성球菌이 4.919 \pm 1.608 로서 가장 높은 수치를 보였고 未同定 gram 음성桿菌은 4.560 \pm 0.871, *E. coli* 가 4.441 \pm 2.538 이었다. NAGase 치와 體細胞數와의 相關은 *Str. agalactiae* 와 *Corynebacterium* sp. 를 제외한 대부분의 菌種에서 유의성이 인정되었다(p < 0.05). 潛在性 感染으로 分類된 例에서의 NAGase 値는 모든 菌種에서 0.7 이하로서 陽性 基準値(2.3~11.6)에 훨씬 못 미치는 수준이었다.

CMT 등급별 NAGase 치와 體細胞數를 Table 4에 나타냈다. CMT 値가 증가함에 따라 NAGase 値와 體細胞數도 증가하였으며 그 變異係數는 體細胞數가 NAGase 보다 더 높게 나타났다.

Kitchen 등¹⁰의 乳房炎 原因菌 分類法에 따른 主要 菌種別 分離頻度 및 NAGase 치의 비교 : Kitchen 등¹⁰의 乳房炎 主要 原因菌 分類法에 따라 分離菌들을 minor 및 major pathogen group으로 分類해서 그 分離頻度を 檢討한 結果는 Table 5와 같다.

全體 213例中 11.74%인 25例에서 minor pathogen group이 分離되었고, 36.15%인 77例에서 major pathogen group이 分離되었다. Major pathogen group중에서 가장 많이 分離된 것은 gram 음성桿菌으로 44.16%를 차지했으며 *Sta. aureus*는 31.17%로서 두번째로 높은 分離頻度を 보였다. *Str. agalactiae*는 5.19%, 다른 Streptococci (*Str. uberis* & *dysgalactiae*)는 19.48%의 分離頻度を 나타냈다. Minor pathogen group에 속하는 Coagulase-negative staphylococci와 *Corynebacterium* sp. 는 全體 分離頻度の 각각 8.45%와 3.29%를 나타냈다.

Minor 및 Major pathogen group에 대한 平均 NAGase 値와 體細胞數와의 關聯性을 檢討한 結果는 Table 6에 나타났다. 두 group을 비교해보면 體細胞數는 minor pathogen group에서 약간 더 높게 나타났으나 NAGase 値는 major pathogen group이 2.916 \pm 0.334로서 minor pathogen group의 1.914 \pm 0.407 보다 더 높았다.

體細胞數 50만/ml를 基準으로 潛在性 感染 및 乳房炎 感染으로 分類해서 minor와 major pathogen group간의 NAGase 値를 비교한 結果는 Table 7과 같다. 잠재성 감염예의 NAGase 치는 minor 및 major pathogen group 모두에서 NAGase 양성기준치 이하였고, 유방염 감염예에서는 同 기준치 이상을 나타내었으며 minor 및 major pathogen group 간에 그 平均치는 큰 차이를 인정할 수 없었으나 major pathogen group이 약간 높은 경향을 나타내었다.

Tolle¹⁶의 IDF 乳房炎 分類法에 따른 NAGase 치와 SCC 치의 비교 : Tolle¹⁶의 IDF scheme에 따른 分類 즉, 體細胞數 50만/ml 基準과 病原性 細菌의 存在有無로서 乳房乳를 4가지 形態로 分類하여 그때의 NAGase 値와 體細胞數를 비교해 본 結果는 Table 8과 같다.

體細胞數 50만/ml 이상으로서 病原性 細菌의 分離有無에 따라 mastitis와 non-specific mastitis로 分類되었던 두 group에서의 NAGase 値는 각각 3.886 \pm 0.240, 2.944 \pm 0.419 이었고 그 體細胞數는 각각 10,019 \pm 1,014, 4,962 \pm 626 ($\times 10^3$ /ml) 이었다. 全體의 27.18%인 latent infection의 NAGase 치는 0.437 이었다.

Table 6. Comparison between N- acetyl- β -D-glucosaminidase(NAGase) levels and somatic cell count(SCC) in minor and major pathogens from 213 quarter fore milk samples of mastitis suspected

Quarter classification **	n=213	NAGase levels		SCC($\times 10^3$ /ml)	
		mean \pm s.e.m.	c.v.(%)***	mean \pm s.e.m.	c.v.(%)***
No bacteria isolated					
Healthy	64	0.337 \pm 0.019	45	123 \pm 18	44
Others	47	2.944 \pm 0.419*	97	4,962 \pm 626	97
Minor pathogens	25	1.914 \pm 0.407*	106	5,117 \pm 1,810	176
Major pathogens	77	2.916 \pm 0.334*	132	4,668 \pm 1,052	197

* : The NAGase levels increased according to SCC increasing($p < 0.05$).

** : Classified by Kitchen et al¹⁰ ; Healthy was below 500,000 of SCCs and pathogen absent. Others were above 500,000 of SCCs but pathogen absent.

*** : C.V. : Coefficient of variation($\frac{S.D.}{Mean} \times 100$)%

Table 7. Means of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) levels between minor and major pathogens in latent and mastitis infections classified by the somatic cell count(SCC) from 50 quarter fore milk samples of mastitis suspected

Quarter classification	NAGase levels			
	n=50	latent** (mean \pm s.e.m.)	n=51	mastitis*** (mean \pm s.e.m.)
Minor pathogens	12	0.307 \pm 0.042	13	3.417 \pm 0.495
Major pathogens	38	0.417 \pm 0.036	39	3.803 \pm 0.530*

* : Significantly higher than others($p < 0.05$).

** : The latent infection is below 500,000 of SCCs but pathogens present.

*** : The mastitis is over 500,000 of SCCs and pathogens present.

Table 8. Comparison between N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAGase) levels and somatic cell count(SCC) to the quarter fore milk samples of mastitis suspected using the IDF scheme^a

Classification	SCC ($\times 10^3$ /ml)	Pathogen present ^b	n=379	%	NAGase levels (mean \pm s.e.m.)	SCC($\times 10^3$ /ml) (mean \pm s.e.m.)
Non-specific mastitis	>500	-	47	12.40	2.944 \pm 0.419	4,962 \pm 626
Latent infection	<500	+	103	27.18	0.437 \pm 0.036	192 \pm 14
Mastitis	>500	+	165	43.54	3.886 \pm 0.240*	10,019 \pm 1,014**

* : Significantly higher than others($p < 0.05$).

** : Significantly higher than others($p < 0.01$).

a : IDF scheme was classified according to the Tolle¹⁶

b : Quarters were considered as pathogen-positive if any pathogens were present.

고 찰

乳房炎 診斷에 있어 NAGase值 測定의 有用性は 體細胞數와 NAGase치의 관계^{9, 10, 15, 17}, bovine serum albumin이나 milk antitrypsin과 같은 牛乳成分과 NAGase值와의 關係^{18, 19} 등이 여러가지로 검토되고된 바 있다.^{5, 8-10, 15} 그러나 乳房炎 原因菌과 NAGase值와의 關係에 대한 보고는 Kitchen 등¹⁰의 보고외에는 거의 없는 실정이다. 즉, Kitchen 등¹⁰은 乳房炎의 原因菌을 minor pathogen(Coagulase-negative staphylococci, *Corynebacterium* sp.)과 major pathogen(*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*, Gram negative rods)의 두 group으로 分類하여 NAGase值와의 關係를 보

았던 바 牛乳중에 minor pathogen이 존재할 때 NAGase值와 體細胞數의 증가는 경미하였으나 major pathogen이 존재했을 때는 NAGase值와 體細胞數의 증가가 현저하여 따라서 牛乳중의 NAGase值는 細菌種과 관련이 있음을 시사한 바 있다. 그러나 菌種에 따른 NAGase值와의 상세한 相關성에 대해서는 아직 그 知見이 확립되어 있지 않은 실정이다. 본 연구에서는 CMT와 體細胞數 및 NAGase值에 대한 菌種別 相關性을 보다 상세히 검토하고자 하였다.

乳房炎 原因菌의 分離頻度(Table 1)를 보면 單獨 또는 混合感染을 합쳐 가장 많은 分離率을 차지했던 菌種은 *Staphylococcus* sp.로서 전체의 30.98%이었다. 이것은 乳房炎의 原因菌에는 *Staphylococcus* sp.가 가장 많았다고

한 연구자들의 보고^{20,21}와 일치했다. 그러나 *Streptococcus* sp. 는 gram 陰性桿菌(12.6%)보다 더 낮은 11.94%에 불과하여 國內 다른 報告에서의 26.7%²¹, 37%²² 등 *Staphylococcus* sp. 다음으로 높은 頻度率을 보였던 것과는 差異가 있었다. 또한 單獨感染에서 분리된 菌은 gram 陽性桿菌이 26.49%로서 *Staphylococcus* sp. 의 15.68%나 *Streptococcus* sp. 의 7.09%보다 훨씬 높아 역시 다른 報告^{20,21}들과 차이를 나타내었다. 그런데 이와같은 차이는 地域性 등의 요인도 생각할 수 있으나 본 검토의 시료가 실제 야외에서 임상적으로 유방염 감염이 의심되거나 또는 유방염 진단목적으로 의뢰된 가검체이기 때문에 그간 치료약제의 사용 등으로 인한 원인균의 균교대현상의 존재가 의심된다. 이 사실은 뒤에 언급하겠지만 Kitchen 등¹⁰의 minor 및 major pathogen 분리빈도의 차이 및 본 검토에서는 gram 陰性 및 陽性桿菌의 분리가 높았다는 사실이 이를 뒷받침한다.

菌種別 平菌 NAGase值(Table 2)는 未同定 gram 陽性桿菌이 3.397 ± 0.433 로서 가장 높게 나타났으며 *Str. agalactiae*와 *E. coli*의 경우는 그 例數가 작고 표준오차가 높게 나타나 이 수치만으로 斷定짓기는 어려우나 각각 4.263 ± 2.616 , 3.616 ± 2.132 로 높은 數值를 보였다. 또한 感染時 대체로 乳汁內 體細胞數가 낮은 경향이 있는 *St. aureus*의 NAGase 치는 1.836 ± 0.376 으로서 Coagulase-negative staphylococci의 1.806 ± 0.511 과 별 差異가 없었던 반면 *Str. agalactiae*는 같은 *Streptococcus* sp. 인 *Str. uberis*와 *Str. dysgalactiae*의 1.992 ± 1.434 , 1.017 ± 0.255 와는 심한 差異를 보였는데 이는 感染時 다른 細菌에 비해 乳腺細胞에 더 강한 刺戟을 줌으로서 통상 높은 體細胞數를 유지하는 *Str. agalactiae*의 特性에 기인하는 것이 아닌가 여겨진다. 한편 壞疽性 乳房炎의 原因菌인 *E. coli*의 경우 그 NAGase치는 3.616 ± 2.132 로서 *Str. agalactiae*의 4.263 ± 2.616 에 이어 높은 NAGase치를 나타내고 있는 바 최근 동물의 *E. coli* 감염증에 毒素原性 菌株의 출현이 재평가되어지고 있는 시점에 유방염 감염에서 분리되는 *E. coli*에 대해서 이 측면의 검토가 요망된다.

Kitchen 등¹⁰의 minor와 major pathogen group별 분리빈도는 각각 46%, 12.5%였다고 보고하고 있는데 본 실험에서는 11.74%와 36.15%의 分離率을 보임으로서 오히려 반대의 傾向으로 나타났다(Table 5). 또 major pathogen group 중 가장 많은 比率를 차지했던 菌種이 Kitchen 등¹⁰의 報告에서는 *St. aureus* (37%)인데 비해 본 연구의 결과에서는 gram 陰性桿菌이 44.16%로서 가장 많이 분리되었고 *St. aureus*는 31.17%로서 두번째로 높은 分離率을 보였다. gram 陰性桿菌의 乳房炎 原因菌으로서의 重要性은 우리 나라에서도 보고된 바 있으며²²,

臨床型 乳房炎牛의 乳房組織에서 직접 細菌을 분리했던 李 등¹⁸도 gram 陰性桿菌이 33.3%의 높은 檢出率을 보였다고 했다. 한편 minor와 major pathogen의 두 group으로 분류하여 NAGase值를 검토한 결과(Table 6, 7)는 minor pathogen group에서 보다 major pathogen group에서의 NAGase值가 더 높게 나타나 Kitchen 등¹⁰의 보고와 거의 일치하는 결과를 얻었다. 그러나 Kitchen 등¹⁰이 보고했던 만큼 minor와 major pathogen group간의 NAGase值와 體細胞數에서의 현저한 차이는 인정하기 어려웠는데 이같은 결과는 여러가지 요인이 있을 수 있겠지만 Kitchen 등¹⁰의 대상재료는 健康牛群을 포함하는 정기검진에에서의 검토인 반면 본 실험의 供試牛는 앞서 지적했던 바와 같이 주로 乳房炎 또는 유방염 진단을 위해 검사되었던 시료를 대상으로 하였던 점에 기인되는 것이라고 생각된다.

IDF scheme에 따른 分房乳의 分類 結果 4가지 type別 NAGase值와 體細胞數는 Kitchen 등¹⁰과 매우 類似하게 나타났다(Table 8). 그런데 non-specific mastitis의 경우와 같이 細菌의 分離가 음성임에도 體細胞數 및 NAGase值가 높았음을 볼 때 原因菌의 分離확인인 乳房炎 診斷에 이용될 수 있지만 정확한 진단을 위해서는 완전히 타당한 방법이 아니며⁶ 따라서 NAGase值나 體細胞數와 並行하여 실시하는 것이 필요하리라고 생각된다.

이상의 檢討結果 NAGase值는 分離菌種別로 차이를 나타내고 있으며 體細胞數와의 相關度^{5,8~10,15,17}도 거의 대부분의 菌種에서 유의성이 있었다($p < 0.05$). 그러나 이러한 結果가 菌種 자체의 特性에 의한 것인지는 試料의 採取가 주로 야외에서 이루어졌기 때문에 感染時期나 疾病의 經過 등에 있어서도 차이가 있을 수 있어 NAGase值와 菌種과의 關聯性을 明確히 규정짓기는 어려운 점이 없지 않다. 이러한 점은 앞으로 균종별에 따르는 實驗의 感染 등을 통해 보다 많은 검토가 수행되어져야 하리라 생각된다.

결 론

乳腺組織 損傷의 指標가 되는 NAGase值와 分離細菌과의 관련성을 검토할 目的으로 379例의 乳房炎 診斷 依賴 分房乳에 대하여 NAGase, CMT, SCC 및 細菌分離를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

총 379例중 111例를 제외한 원인균 분리 양성 268例에 대해 SCC 50만을 기준으로 潛在性 感染과 乳房炎 感染으로 분류하였던 바 乳房炎 感染例의 菌種別 NAGase值(nmol/min/ml)는 *Staphylococcus aureus*가 3.067, Coagulase-negative staphylococci가 4.083, *Streptococcus agalactiae*

가 3.594, *Str uberis*가 3.513, *Str dysgalactiae*가 1.640, *E coli*가 4.441 그리고 Gram negative rods는 4.560 이었으며 각 菌種別 NAGase치와 SCC와의 相關은 대부분 유의성이 인정되었다($p < 0.05$).

乳房炎 原因菌을 minor (Coagulase-negative staphylococci, *Corynebacterium* sp.) 및 major pathogen group (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Str uberis*, *Str dysgalactiae*, Gram negative rods)으로 分類했을 때 菌種別 NAGase値는 major pathogen group에서 더 높았으며, SCC 50만과 病原性 細菌의 存在有無를 기준 (IDF scheme)으로 乳房炎을 분류했을 때 역시 평균 NAGase値는 SCC가 50만 이상인 乳房炎에서 더 높은 數値를 보임으로서 SCC와의 관련에서 NAGase치의 측정은 유방염 진단에 유효하게 응용됨이 확인되었다.

參 考 文 獻

- Kirk JH. Programmable calculator program for linear somatic cell scores to estimate mastitis yield losses. *J Dairy Sci* 1984 ; 67 : 441~443.
- Blowey RW. Mastitis monitoring in general practice. *Vet Rec* 1984 ; 114 : 259~261.
- David GP, Jackson G. The collection and interpretation of herd mastitis data. *Br Vet J* 1984 ; 140 : 107~114.
- Kitchen BJ. Review of the progress of dairy science bovine mastitis ; Compositional changes and related diagnostic tests. *J Dairy Res* 1981 ; 48 : 167~188.
- Kitchen BJ, Middleton G, Durward IG, et al. Mastitis diagnostic tests to estimate mammary gland epithelial cell damage. *J Dairy Sci* 1980 ; 63 : 978~983.
- Mattila T, Syväjärvi J, Jenson NE, et al. N-acetyl- β -D-glucosaminidase and antitrypsin in subclinically infected quarter milk samples : Effect of bacteria and hemolysis, lactation stage and lactation number. *Am J Vet Res* 1986 ; 47 : 139~142.
- Kitchen BJ, Middleton G, Salmon M. Bovine milk N-acetyl- β -D-glucosaminidase and its significance in the detection of abnormal udder secretions. *J Dairy Res* 1978 ; 45 : 15~20.
- Kitchen BJ. Enzymic methods for estimation of the somatic cell count in bovine milk. I. Development of assay techniques and a study of their usefulness in evaluating the somatic cell count of milk. *J Dairy Res* 1976 ; 43 : 251~258.
- Kitchen BJ, Middleton G. Enzymic methods for estimation of the somatic cell count in bovine milk. II. N-acetyl- β -D-glucosaminidase test for routine estimation of the somatic cell count in milk. *J Dairy Res* 1976 ; 43 : 491~494.
- Kitchen BJ, Kwee WS, Middleton G, et al. Relationship between the level of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in bovine milk and the presence of mastitis pathogens. *J Dairy Res* 1984 ; 51 : 11~16.
- Brown RW, Morse GE, Newbould FHS, et al. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis. Washington D.C. ; National Mastitis Council. 1969 ; 4~5.
- Cowan ST, Steel KJ. Manual for the identification of medicine bacteria. *Cambridge University Press* 1966.
- Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the california mastitis test. *JAVMA* 1957 ; 130 : 199~207.
- Prescott SC, Breed RS. The determination of the number of body cells in milks by a direct method. *J Infectious Disease* 1970 ; 7 : 632~640.
- 康炳奎, 梁建默, N-acetyl- β -D-glucosaminidase 活性値에 의한 젖소의 準臨床型 乳房炎의 診斷과 鹽酸 levamisole의 治療試驗. *韓國臨床獸醫學會誌* 1987 ; 5 : 23~30.
- Tolle A. A monograph on bovine mastitis-part 1. *Int Dai Fed Ann Bul* 1971 ; 2 : 3.
- Obara Y, Komatsu M. Relationship between N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity and cell count, lactose, chloride, or lactoferrin in cow milk. *J Dairy Sci* 1984 ; 67 : 1043~1046.
- 李採瑢, 康炳奎, 朴永堧 등. 淘汰乳牛에 있어서의 乳房炎에 關한 研究. *大韓獸醫學會誌* 1980 ; 20 : 119~122.
- Mattila T, Syväjärvi J, Sandholm M. Milk antitrypsin, NAGase, plasmin and bacterial replication rate in whey. *U. S. Copyright Clearance Center Code Statement* 1986 : 462~470.
- Neave FK. Diagnosis of mastitis by bacteriological methods alone. *Int Dai Fed Ann Bul Doc* 1975 ; 85 : 19~36.
- 羅鎮洙, 康炳奎. 全南地域 乳牛乳房炎의 疫學的 調查研究. 1. 原乳中の 細菌數 및 乳房炎 檢診. *大韓獸醫學會誌* 1975 ; 15 : 83~89.
- 박정규. 젖소 유방염의 유래 gram 음성 간균의 약제 감수성. *대한수의학회지* 1980 ; 20 : 53~58.