

젖염소 분방유즙에서 체세포에 대한 연구

김혜라* · 이정치** · 정지영* · 이윤경 · 신성식 · 이채용¹

전남대학교 수의과대학, *전라남도 축산기술연구소
**서정대학 애완동물과

(게재승인: 2007년 6월 11일)

A Study on the Somatic Cells in Half Milk Samples of Dairy Goats

Hye-ra Kim*, Jeong-chi Lee**, Ji-young Jeong*, Youn-kyung Lee, Sung-shik Shin and Chai-yong Lee¹

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju, Korea, *Chonnam Livestock Research Institute, Gwangju, Korea, **Department of Veterinary Nurse and Pets Sciences, Seojeong College, Yangju, Korea

Abstract : In the present study, a total of 547 half milk samples were collected from 274 dairy goats to perform somatic cell counts (SCC) and California mastitis test (CMT). Milk smear was stained with Pyronin Y-Methyl Green stain were classified into either epithelial or blood cells, etc. Of the 547 halves the percentage of CMT negative milk samples were 86%. Among these, 58.2% were CMT negative with SCC < 500,000/ml, while 27.8% were CMT negative with SCC > 500,000 ml. As expected, CMT score increased with the increase of SCC. The number of epithelial cells decreased with the increasing number of somatic cells, while the opposite was observed with the number of blood cells. These results indicate that the critical point in milk quality & CMT should be considered on the false (pseudo-SCC) in dairy goat.

Key words : somatic cell, CMT, Dairy goat, False SCC.

서 론

원유중의 체세포는 상피세포, 호중구, 림프구, 단핵구와 그 외의 세포 등으로 구성되며 크게 혈액세포와 유선상피 세포로 분류된다. 정상 상태의 젖염소 유즙에는 상피세포가 많지만 유선조직에 감염성 인자가 침입하면 세포들의 구성과 숫자에 변화를 일으킨다(1).

원유 중 체세포수 변화에 대한 원인은 유방염 원인균의 증식(3), 생리적으로 착유단계(4)와 발정기(10) 등과 관련이 있으며, 감염성 인자가 원인인 경우 주로 호중구수가 증가한다(8). 비유기 및 연령의 증가와 관련된 체세포수 변화는 $500 \times 10^3/ml$ 이하까지 체세포수의 증가가 인정되나 혈액유래의 호중구, 림프구, 대식구는 높은 비율로 감소한다(3).

유우에서 체세포수 측정은 신속한 유질 평가와 잠재성 유방염의 진단법으로 이용되고 있으며 체세포수가 증가할수록 California Mastitis Test(CMT)도 강한 반응을 보이는 것으로 잘 알려져 있다. 그러나 젖염소 유즙에서는 플라스마 편, 지방응고물, 단백질 등이 체세포로 계산되어 실제 체세포수보다 많게 측정된다(5). 이러한 실정을 감안하여 이 연구에

서는 젖염소 유즙에서 총체세포수를 측정할 다음 상피세포와 혈액세포로 감별하여 그 변화를 관찰하였으며, 체세포수에 따른 세균수 및 유질 그리고 CMT와의 상관성을 조사하여 유대지급 기준 및 유방염검사법으로의 검토를 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재료의 채취

2004년 9월에서 2005년 9월까지 전남지역 9개 농가에서 사육되는 젖염소(자아넨종) 274두, 547 분방을 대상으로 착유 때 유두를 알콜로 소독한 다음 처음 2~3 줄기는 짜버린 후 멸균된 용기에 받아 아이스박스에 넣어 실험실로 운반하여 실험에 이용하였다.

세균수측정

분방유즙의 세균수는 BactoScan FC(Foss Electric Co., Denmark) 기기를 이용하여 측정하였다.

총 체세포수 검사

분방유즙의 체세포수는 Fossomatic 5000(Foss Electric Co.,

¹Corresponding author.
E-mail : cylee@chonnam.ac.kr

Denmark) 기기를 이용하여 측정하였다.

유성분분석

분방유즙의 유성분 분석은 MilkoScan FT6000(Foss Electric Co., Denmark) 기기를 이용하였다.

CMT검사

CMT검사는 분방유즙 2m/와 CMT 시약 2m/를 백색 검사판에 혼합하여 그 반응 정도를 기준표에 의거 판정하였다.

체세포의 형태 검사

가검유를 충분히 교반시킨 다음 0.01 ml/ micropipet으로 흡입하고 거즈로 피펫 외부에 묻어있는 유즙을 닦아낸 다음 slide glass 밑에 가로, 세로 1 cm의 정사각형을 2개 그린 밀종이를 대고 분방유즙을 그 위에 붙고 도포침으로 밀그림 정사각형 안에 균질 도달한 후 건조시킨 다음 methanol에 담가 고정시켰다. 건조한 다음 xylene에 1-2분 담가 청정시킨 후 건조시켰다.

도말표본의 염색은 Methyl-Green-Pyronin stain(6)의 방법(Fig 1)을 약간 변형하여 Pyronin Y-Methyl Green Stain, 즉 Carnoy's fixative는 60 ml chloroform, 20 ml glacial acetic acid, 120 ml 100% ethyl alcohol을 혼합하였고, Pyronin Y-methyl green stain 용액은 1.0 g pyronin Y, 0.56 g methyl green, 196 ml water를 혼합하여 갈색병에 보관, 사용하기 전에

Whatman No. 1 filter paper로 여과하여 사용하였고, Newman-Lempert stain(Methylene blue를 이용한 염색)은(12) Fig 2와 같이 실시하였다. 용액제조는 tetrachlorethane 40 m/과 ethyl alcohol 54 m/을 잘 섞은 다음 70도까지 가온하고 methylene blue 1.0-1.2 g을 섞어 강하게 진탕하면서 완전히 용해시킨 다음 냉장시키고 나서 acetic acid 6 m/를 서서히 가하고, 여과한 다음, 뚜껑을 닫고, 냉장소에 보관하면서 사용하였다.

체세포의 감별은 Maisi(5)와 Schalm 등(9)의 방법에 준하여 Fig 1과 같이 상피세포와 혈액세포로 분류하였다.

통계

총체세포수 증감에 따른 상피세포와 혈액세포수 대비, 유성분과 세균수의 증감, California mastitis test 정도와 총체세포수의 증감에 따른 유의성을 알아보기 위하여 Student's t-test와 분산분석(ANOVA)을 실시하였다.

결 과

총체세포수에 따른 분방비율과 혈액세포와 상피세포의 비율은 Table 1과 같다. 총체세포수가 $500 \times 10^3/m/$ 이하의 분방은 212분방으로 38.75%, $1,000 \times 10^3/m/$ 이하의 분방은 292분방으로 53.38%였으며, 혈액세포의 비율은 총체세포수가 $500 \times 10^3/m/$ 이하는 34.93%까지, $1,000 \times 10^3/m/$ 이하는 51.49%

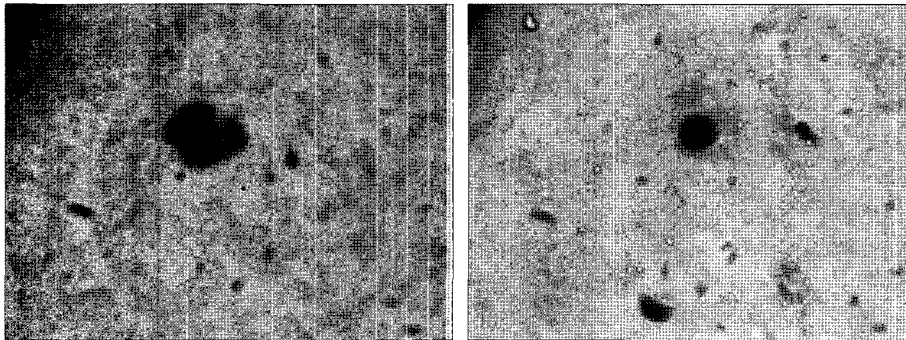


Fig 1. Pyronin Y-Methyl Green stain. Epithelial cell (left) and blood cell (right). $\times 1000$.

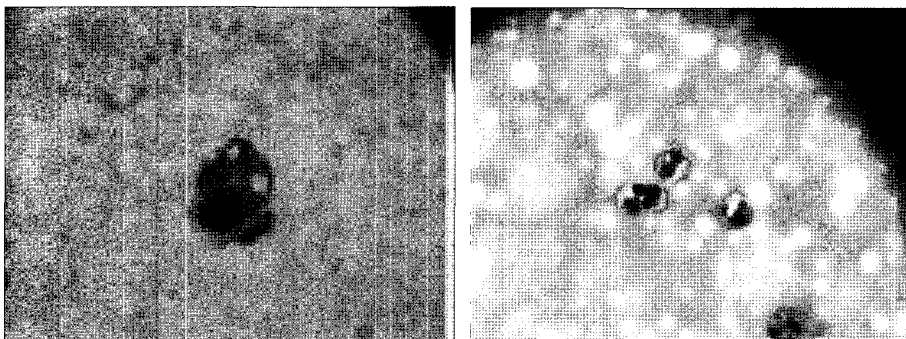


Fig 2. Newman stain. Epithelial cell (left) and blood cell (right). $\times 1000$.

까지 증가하다가 $1,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이상부터는 56.27%증가하여 $3,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이하까지는 74.98%까지 급증하였다.

체세포수에 따른 세균수와 유질은 Table 2에 나타내었다. 체세포수가 $1,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이하에서는 유단백과 무지고형분이 감소하였고, 체세포수가 $1,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이상에서는 유단백과 무지고형분이 증가하였다. 세균수는 체세포수가 $500 \times 10^3/\text{ml}$ 까지 증가하였다.

체세포수에 따른 California mastitis test(CMT)의 상관관계는 Table 3에 나타내었다. 전체 분방 중 CMT가 음성인 경우는 86.1%로 이중 체세포수가 $500 \times 10^3/\text{ml}$ 이하는 58.2%, $1,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이하는 66.2%였으며 $1,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이상에서 CMT 음성은 19.8%였다. CMT 양성은 주로 $500 \times 10^3/\text{ml}$ 이상에서 나타났으며, CMT 1+와 2+는 각각 7.7%와 4.7%로 나타났고, CMT 3+는 $3,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이상에서만 관찰되었고 그 비율은 1.5%였다.

고 찰

고도의 산업사회화는 급속한 경제성장을 이루게 하였고, 그 결과 소비자들의 식생활수준이 높아져 감에 따라 보다 다양한 식품을 소비자들은 원하게 되었다. 이러한 식생활의 변화는 젖염소유에 대한 기호로 이어지고 웰빙 또는 기능성식품으로 소비 또한 증가하고 있는 실정이다(11). 이런 현실에 맞추어 이 연구에서는 젖염소유의 식품 안정성에 대한 검토의 일환으로 체세포수와 California Mastitis Test(CMT)와의 상관성을 알아보고, 젖염소에서 유대지급의 기초가 되는 유질평가 및 유방염 진단법으로서 CMT가 이용 가능한지의 여부를 알아보려고 하였다.

이 연구에서 체세포수가 $1,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이상일 때부터 혈액세포수가 확실하게 증가하기 시작하였고, $3,000 \times 10^3/\text{ml}$ 이상이면 혈액세포가 약 5배로 급격히 증가하였다. 원유증의

Table 1. Percentage of epithelial and blood cells depending on somatic cell count (SCC) in 547 half milk samples of 274 dairy goats

SCC ($\times 10^3/\text{ml}$)	No. of halves(%)	Epithelial cell (%)	Blood cell (%)
< 100	62 (11.33)	84.84 \pm 14.20	15.16 \pm 14.20
100-200	62 (11.33)	72.18 \pm 12.00	27.82 \pm 12.60
200-500	88 (16.09)	65.07 \pm 13.10	34.93 \pm 13.10
500-1,000	80 (14.63)	48.51 \pm 11.81	51.49 \pm 12.10
1,000-1,500	67 (12.25)	43.73 \pm 11.90	56.27 \pm 12.60
1,500-2,000	36 (6.59)	46.10 \pm 12.80	53.90 \pm 12.80
2,000-3,000	47 (8.59)	48.06 \pm 14.20	51.94 \pm 14.20
> 3,000	105 (19.19)	25.02 \pm 12.90	74.98 \pm 12.80
Total	547 (100.00)	54.19 \pm 12.86	45.81 \pm 13.05

Up to 1,000,000 cells/ml, the number of blood cells was greater than that of epithelial cells ($p < 0.05$).

Table 2. Number of bacteria and milk quality in dairy goat in relation to somatic cell

SCC ($\times 10^3/$)	Number of bacteria ($\times 10^3/$)	Components of milk				
		Fat(B)	Prot(T)	Lact(T)	SNF	TS
< 100	69.13	4.77	3.58	4.89	9.24	14.02
(\pm SD)	(61.23)	(1.37)	(0.77)	(0.86)	(1.24)	(2.42)
100-200	96.51	5.46	3.47	5.02	9.14	14.60
(\pm SD)	(132.81)	(1.65)	(0.46)	(0.31)	(0.61)	(2.07)
200-500	129.74	4.64	3.24	4.73	8.65	13.29
(\pm SD)	(181.59)	(1.91)	(0.68)	(0.45)	(0.98)	(2.75)
500-1,000	98.59	4.23	3.19	4.60	8.49	12.72
(\pm SD)	(127.54)	(1.57)	(0.73)	(0.35)	(0.91)	(2.35)
1,000-1,500	121.98	4.40	3.24	4.42	8.38	12.78
(\pm SD)	(146.72)	(1.80)	(0.77)*	(0.31)*	(0.84)*	(2.51)
1,500-2,000	59.28	4.51	3.42	4.40	8.44	12.94
(\pm SD)	(48.94)	(2.04)	(0.88)*	(0.40)*	(0.96)*	(2.85)
> 3,000	135.22	4.08	3.64	4.30	8.63	12.71
(\pm SD)	(173.20)	(1.53)	(0.97)*	(0.47)*	(1.07)*	(2.46)

SCC, somatic cell counts; Prot, protein; Lact, lactate; SNF, solid non fat; TS, total solid; \pm SD, \pm standard deviation; * $p < 0.05$.

Table 3. Relationship between somatic cell count (SCC) and California Mastitis Test (CMT) in half milk samples of dairy goats

SCC($\times 10^3$)	CMT				No. of halves (%)
	- (%)	+ (%)	++ (%)	+++ (%)	
< 100	102(18.6)	0	0	0	102(18.6)
100-200	103(18.8)	0	0	0	103(18.8)
200-500	114(20.8)	0	0	0	114(20.8)
500-1,000	44(8.0)	16(2.9)	3(0.5)	0	63(11.5)
1,000-1,500	19(3.5)	12(2.2)	5(0.9)	0	36(6.6)
1,500-2,000	49(9.0)	2(0.4)	0	0	51(9.4)
2,000-3,000	31(5.7)	7(1.3)	0	0	38(7.0)
> 3,000	9(1.6)	5(0.9)	18(3.3)	8(1.5)	40(7.3)
Total	471(86.1)	42(7.7)	26(4.7)	8(1.5)	547(100)

SCC was directly proportional to CMT score ($p < 0.05$).

체세포수의 변화 원인으로는 유방염 원인균의 증식, 생리적인 착유단계, 산차와 발정기 등이 있지만 감염성 인자가 원인일 경우에는 정상 호중구 비율은 40에서 79%로 상승하고, 대식세포 역시 15에서 38%로 상승하여 그 결과 총체세포수 역시 증가 한다(8). 유방염에 감염되지 않은 젖소의 총 체세포수는 젖소보다 많고 감염으로 인한 체세포수의 변화는 젖소보다 훨씬 크다(2). 실제보다 체세포수가 더 많이 계산되는 이유는 원유 중의 플라즈마 편, 지방응고물, 단백질 등이 체세포수와 함께 계산되어 지기 때문이다(5). 이 결과는 국내 연구가 없어 비교할 수 없지만, 외국의 경우, 평균 체세포수 $1,000 \times 10^3/m$ 은 안전한 합격유라 주장하는 보고(7)도 있다. 이러한 이유에서 젖소유질평가 기준설정에서 체세포수에 대한 검토가 요망되어진다.

이 연구에서 체세포수가 상승함에 따라 혈액세포의 비율이 많아지고 CMT 양성의 정도도 심해졌다. 체세포수가 $500 \times 10^3/m$ 이하까지는 혈액세포수가 점차 증가하여 34.93%의 비율을 보이면서 CMT는 음성을 나타내었으나 체세포수가 $500 \times 10^3/m$ 이상에서부터 CMT 양성이 시작하여 1+ 비율이 7.7%, 2+는 4.7%, 3+는 $3,000 \times 10^3/m$ 이상에서만 1.5%로 나타났다. Haenlein의 연구에 따르면 CMT와 체세포수와의 상관관계에서는 높은 특이도 (79%)와 보통의 민감도 (47%)를 나타내어 CMT 0과 1+가 비감염성의 역치라 하여 비감염성 유즙으로 지정하자고 제안하였고, 체세포 측정기구의 종류에 따른 젖소의 체세포수 연구 결과에서는 CMT score 0일 때 $320 (\pm 273) \times 10^3/m$, CMT 1+일 때는 $730 (\pm 407) \times 10^3/m$, CMT 2+일 때는 $2,647 (\pm 2,539) \times 10^3/m$, CMT 3+일 때는 $6,518 (\pm 4,086) \times 10^3/m$ 를 나타내었다(Haenlein 2002). 그러나 본 연구에서는 체세포수가 $500 \times 10^3/m$ 이상에서 CMT 음성이 27.8%, $1,000 \times 10^3/m$ 이상에서는 CMT 음성이 19.8%로 나타났는데 이 결과는 체세포가 아닌 물질(Maisi, 1990)이 체세포로 계산된 수치의 비율로 생각된다. 그래서 젖소유 체세포 기준은 총체세포수에서 적게는 19.8%에서 많게는 27.8%를 제외하고 $1,000 \times 10^3/m$ 이상부터 양성으로 판정하는 기준의 검토가 필요하다고 생각된다.

종합적으로 이 결과는 유방염유 판정 및 유질 평가의 기초자료로 활용할 수 있음을 암시하지만, 사육규모 그리고 사양 및 위생관리에 따라 유질에 영향을 줄 수 있으므로 전국 규모의 더 다양한 재료의 분석이 요구된다.

결론

2003년 1월부터 2004년 12월에 걸쳐 전남지역 9개 농장에서 사육되는 젖소 274두(547 분방)의 유즙을 분석하였다. 도말유즙은 Pyronin Y-Methyl Green으로 염색하여 상피세포와 혈액세포 등으로 분류하였다.

체세포수에 관계없이 CMT 음성인 경우는 86%로 이 중 체세포수가 $500 \times 10^3/m$ 이하에서 58.2%, $500 \times 10^3/m$ 이상에서 27.8%였다. CMT 1+양성은 $500 \times 10^3/m$ 이상에서 나타나 $1,000 \times 10^3/m$ 까지 2.9%로 나타났으며, 총분방유즙의 7.7%였다. 체세포수가 증가할수록 CMT 성적도 증가하였다. 총체세포 중 혈액세포의 비율은 총체세포수가 $1,000 \times 10^3/m$ 이상에서 확실히 증가함을 보였고, $3,000 \times 10^3/m$ 이상일 때 혈액세포수가 급격히 증가하였다. 체세포수가 $1,000 \times 10^3/m$ 이하에서는 유단백과 무지고형분이 감소하였고, 체세포수가 $1,000 \times 10^3/m$ 이상에서는 유단백과 무지고형분이 증가하였다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 정상 젖소유질의 총체세포수를 $500 \times 10^3/m$ 으로 기준을 설정할 경우 CMT 음성임에도 27.8%가 더 많게 體細胞로 계산되며, $1,000 \times 10^3/m$ 을 기준으로 설정할 경우 19.8%가 더 많게 體細胞로 계산된다. 이 결과들은 체세포수와 CMT는 젖소의 유질평가에서, 그리고 체세포수를 유방염 간접검사법으로 이용할 경우 고려되어야 함을 제시한 것이다.

감사의 글

이 연구는 전남대학교 교수연구년 지원계획에 의하여 수행되었음.

참 고 문 헌

1. Adkinson RW, Ingawa KH, Blouin DC, Nickerson SC. Distribution of clinical mastitis among quarters of bovine udder. *J Dairy Sci* 1993; 76: 3453-3459.
2. Contreras A, Paape MJ, Miller RH, Rainard P. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual goats. *Small Rumin Res* 1997; 80: 1113-1118.
3. Haenlein GFW. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. *Small Rumin Res* 2002; 45: 63-178.
4. Haenlein GFW, Hinckley L. Goat milk somatic cell count situation in USA. *Int J Anim Sci* 1995; 10: 305-310.
5. Maisi P. Analysis of physiological changes in caprine milk with CMT, NAGase and antitrypsin. *Small Rumin Res* 1990; 3: 485-492.
6. Perry S. and Reynolds J. Methyl-Green-Pyronin as a differential nucleic acid stain for peripheral blood smear. *Blood* 1956; 11: 1132-1139.
7. Poutrel B, Lerondelle C. Cell content of goat milk: California mastitistest, coulter counter, Fossomatic for predicting half infection. *J Dairy Sci* 1983; 66: 2575-2579.
8. Rota AM, Gonzalo C, Rodriguez PL, Rojas AI, Martin L, Tovar JJ. Somatic cell types in goat milk in relation to total cell count, stage and number of lactation. *Small Rumin Res* 1993; 12: 89-98.
9. Schalm OW, Carroll ES, Jain NC. Bovine mastitis. 1st ed. Philadelphia: Lea and Febiger. 1971: 1-19.
10. Wilson DJ, Stewart KN, Sears PM. 1995. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Rumin Res* 1995; 16: 165-169.
11. 윤준철, 이정치, 김상기, 박영석, 김종택, 이정길, 이채용. 2004 젖염소 분방유즙에서 분리한 세균 및 항균제 감수성 조사. *대한수의학회지*. 2004; 44: 151-157.
12. 한홍률, 이정길, 이창우. 1990 수의임상병리 4판. 서울: 기전연구소. 1990; 353.