

인공수정용 돼지 액상정액 세균오염도 조사 및 정액유래 주요 바이러스성 질병 감염률 조사

손병국* · 박호정 · 김은경 · 이종민 · 황보원 · 허정호

경상남도축산진흥연구소

(접수 2010. 8. 10, 게재승인 2010. 12. 30)

Investigations of bacterial contamination level and prevalence of major viral disease for fresh-extended porcine semen

Byeong-Guk Son*, Ho-Jung Park, Eun-Gyeong Kim, Jong-Min Lee,
Bo-Won Hwang, Jung-Ho Heo

Gyeongnam Livestock Veterinary Research Institute, Jinju 660-985, Korea

(Received 10 August 2010, accepted in revised form 30 December 2010)

Abstract

Bacteriospermia is a frequently finding in fresh raw and extended porcine semen and can results in detrimental effects on semen quality and longevity. This study aims to evaluate the type of bacterial contaminants in raw and extended porcine semen and the reducing effect of antibiotic test. To investigate bacterial contaminants, out of 387 sample (raw semen 201, extended semen 186) were collected from 6 artificial insemination centers in Gyeongsangnam-do, were inoculated onto blood agar and MacKonkey agar, respectively. Bacterial colonies were selected after culturing for 48 hours, at 37°C, followed by Gram staining, KOH test, oxidase test, catalase test and eventually identified using VITEK System. Total 15 genus and 24 species of bacteria were isolated from these semen sampls. In raw semen, the most prevalent contaminants were *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus auricularis*, *Delftia acidovorans*, *Acinetobacter lowffii*, *S. aureus* and others. And in extended porcine semen, *A. lowffii*, *S. aureus*, *S. auricularis* and other bacteria were identified. Most of them was G(-), which is nonpathogenic bacteria. It seems that bacterial contaminants in fresh raw and extended porcine semen originated from multiple sources at the farms/stud, and were from animal origin and non-animal origins. Whereas, the 7 virus which is known to be detected in porcine semen in 75 cases was not detected. This results showed that removal of bacterial contamination in raw and extended porcine semen is essential and farms were kept for biosecurity and individual hygienes.

Key words : Porcine semen, Extended semen, Bacterial contaminants

*Corresponding author : Byeong-Guk Son, Tel. +82-55-771-6652~5,
Fax. +82-55-771-6619, E-mail. bgs123@korea.kr

서 론

우리나라의 돼지인공수정은 1955년도부터 중앙축산기술원에서 시작되었으며 1994년도에 “정액등 처리업 허가(축산법 제20조)”에 의하여 농림부장관의 허가를 받은 AI센터 5개소가 공식정액을 판매하였고, 당시 판매한 정액의 수량으로 추정한 보급률은 약 3% 정도로 파악되었으나, 이후 AI센터와 보급률이 해마다 증가하여 1995년도 15개소(10%), 1996년 24개소(15%), 1997년도 35개소(30%), 1998년도 45개소(40%), 2000년도 46개소(50%), 2004년도 56개소(80%)로 급격히 증가하였고(김, 2006; 박 등, 2008), 2008년말 현재 전국적으로 AI센터수는 43개소, 보급률은 80%이상으로 추정된다.

돼지인공수정센터의 규모는 초창기 종모돈 10두 내외였으나, 평균 62두로 규모화, 전문화되었으며, 국립수의과학검역원의 조사를 따르면 2008년말 현재 전체 종모돈수는 2,492두인 것으로 알려졌다. 또한 종모돈의 품종별 비율은 두록종이 1998년도에 58%, 2004년도에 73%로 높은 비중을 차지하고 있으며 버크셔 종모돈의 수요도 날로 증가하는 추세에 있다(김, 2006).

인공수정은 일반적으로 사용의 편리성, 종모돈의 종부빈도를 감축시키는 시간절약, 노동력감소, 유전적으로 우수한 종모돈을 이용한 종축개량 향상에 도움을 주었고, 품질개발과 높은 수태율, 저비용과 고효율성의 높은 이점이 있다. 또한, 단순히 번식효율을 높이고 개량을 위한 수단뿐만 아니라 합리적인 양돈경영에서 규격돈 생산을 위한 중요한 수단으로서 이용되고 있다(이, 2004).

일반적으로 돼지정액내에 상당수의 세균이나 바이러스가 발견된다고 알려져 있다(Sone 등, 1982; Tamuli 등, 1984; Dagnall 등, 1986; Christopher-Hennings 등, 1998; 김 등, 2001; Althose와 Lu, 2005; 박 등, 2008).

정액 내 세균이 감염되면 정액의 보존기간이 짧아지며, 어떤 원인균은 정자의 활력을 저하하거나 유산을 일으키기도 하는데, 정액중에 상당수의 세균이 정액채취과정이나 희석 및 제조과정에서 들어가며 세균의 종류나 수는 동물종에 따라 다소 차이가 있으나 이들 세균은 생존과 증식을 위해서 대사가질을 사용한 후에 대사산물을 축적하여 정자의 생존기간을 단축할 뿐 아니라 인공수정을 통하여 자궁내에 들어가 생식기 질병을 유발할 수 있다(Sone, 1982; Sone 등, 1989; Althose

와 Lu, 2005).

돼지정액 내 흔히 발견되는 세균으로 *Enterococcus* spp. (20.5%), *Stenotrophomonas maltophilia* (15.4%), *Alcaligenes xylosoxidans* (10.3%), *Serratia marcescens* (10.3%), *Acinetobacter lowffii* (7.7%), *Escherichia coli* (6.4%), *Pseudomonas* spp.(6.4%) 및 기타세균(23.0%) 이 분리된다고 보고하였다(Althose 와 Lu, 2005).

또한, 돼지정액을 통하여 전염가능성이 있는 바이러스는 구제역바이러스, 돼지수포병바이러스, 돼지열병 바이러스, 레오바이러스, 생식기호흡기증후군바이러스, 싸이토메가로바이러스, 아데노바이러스, 아프리카 돼지콜레라바이러스, 엔테로바이러스, 오제스키바이러스, 일본뇌염바이러스, 전염성위장염바이러스, 파보바이러스, 전염성생식기유두종바이러스 등이며, 이러한 바이러스가 정액 내 검출되기도 하며, 일부는 정액을 통하여 전파된다고 알려졌다(Althose, 1997; Christopher-Hennings 등, 1998; 이, 2001).

인공수정시 희석액 사용은 정액의 양을 증가시켜 우수한 종모돈의 정액을 여러 마리의 암퇘지에 수정할 수 있으며, 체외에 사출된 정자의 불리한 환경을 개선 해주어 정자의 생존 가능성과 활력을 보존시켜 줌으로써 정액사용시간을 연장시키기 위한 목적으로 사용하고 있으며 농장에서 직접 정액을 채취하여 자가 인공수정할 때 분말형태로 만들어진 보존액을 구매하거나 액상농축희석액을 이용하면 제조단가(인건비)를 절감하면서도 손쉽게 이용할 수 있으며, 1주일 정도 정액을 보관할 수 있는 Modena 보존액과 10일 이상 보관할 수 있는 Androhep 보존액 등이 개발되어 있다. 이들 세균의 증식을 억제하거나 없애기 위해서 1950년대까지는 설파제가 사용되었으며 1990년대까지는 페니실린 및 스트렙토마이신이 주로 사용되었으나 항생제 내성에 따른 문제점 때문에 최근에는 새로운 종류의 다양한 항생제가 이용되고 있다(이, 2004).

희석액에 첨가되는 항생제로는 gentamicin, lincomycin, neomycin, polymixin B, spectinomycin 및 kanamycin 등이 있으며, 최근에는 amikacin, bacitracin, colistin, dibekacin, erythromycin, tylosin 및 sulfabiazin 등도 사용되어지고 있다(이, 2004).

그동안 경남 도내에 유통중인 돼지의 정액에 대한 세균 및 바이러스성 질병에 대한 연구가 부족한 실정이었으며 AI센터의 돼지정액을 통한 돼지질병의 전파 우려 때문에 2008년부터 AI센터의 정액에 대해 PRRS 검사가 의무화됨에 따라 연구의 필요성이 대두되었으

며, 경남지역내 소재한 6개소의 돼지인공수정센터의 정기검사용 정액 원액 및 액상정액을 분기별로 채취, 희석과정에서 오염가능한 유해세균이나 바이러스, 정액 내 유해미생물을 분석하여 세균오염을 저감할 수 있는 방법을 모색하는 등 방역대책 수립의 필요성 때문에 이 연구를 수행하게 되었다.

재료 및 방법

공시재료

2008년 1월에서 12월까지 경남지역 6개 시군에 소재한 돼지 인공수정센터 6개소를 대상으로 인공수정센터별 원정액 201건과 유통되는 액상정액 186건을 공시재료로 사용하였다.

원정액은 인공수정센터에서 수퇘지를 대상으로 채취한 원정액 10ml을 50ml conical tube로 수송하여 냉장보관하여 사용하였고, 액상정액은 인공수정센터에서 양돈농가에 판매하기 전의 50ml conical tube 또는 pack 상태로 이동하여 냉장보관하여 실험에 사용하였다.

총세균수(SPC) 측정

채취한 원정액과 액상정액 시료를 PBS로 $10^1 \sim 10^3$ 으로 계단희석하여 plate counting agar에 접종하여 37°C 호기성 조건으로 24시간 배양 후 총세균수를 측정하였다.

세균분리 및 동정

10배 희석한 원정액을 5% 양혈액이 첨가된 혈액배지(코메드, 한국) 접종, 24~48시간 배양하였고, 10배 희석한 액상정액을 Tryptic soy broth에 10 μ l 분주하여 24~48시간 증균배양한 후, 혈액배지(코메드, 한국),

Tryptic soy agar, MacConkey agar 에 24~48시간 동안 배양하였다. 서로 다른 모양의 집락을 선택하여 새로운 혈액배지에 접종한 뒤 세균동정을 실시하였고, Gram 염색을 실시하여 G(+), G(-) 분리한 후, KOH test, oxidase test, coagulase test를 이용하여 생화학적 성상을 확인하고, 동정할 세균을 선택한 후 자동세균분리 동정기(VITEK system/Bio Merieux 32[®])를 이용하여 최종적으로 균을 확인하였다.

항생제 감수성 검사

원정액과 액상정액에서 분리 동정된 세균에 대하여 ampicillin, amikacin, bacitracin, cefuroxime, cephalothin, chloramphenicol, clindamycin, colistin, cephalocin, cefazolin, erythromycin, enrofloxacin, gentamicin, kanamycin, neomycin, norfloxacin, penicillin, tetracycline, sulfamethoxazole, streptomycin 등 20종의 항생제 디스크(BBL Sensi-Discs, Becton Dickinson France)를 Muller Hilton agar에 접종하여 약제감수성 검사를 실시하여 효과적인 항생제를 조사하였다.

바이러스 검사

액상정액 186건중 75건을 임의로 시료를 선정하여 PRRS, JEV, ADV, EMCV, CSFV, PPV, PCV-2등 7종에 대한 PCR 검사를 하였다.

Table 1. Amplified size of 7 viral diseases used in this study

Virus	Target gene	Size of products (bp)
HCV	NCR	421
PRRS	ORF 7	433
PCV-2	ORF 2	493
ADV	gD	263
PPV	VP2	455
EMCV	3D	286
JEV	E, NS1	480

Table 2. PCR condition of 7 viral diseases

Steps	HCV		PRRS		PCV-2		ADV, PPV		EMCV, JEV	
	Temp/time	Cycle								
cDNA synthesis	42°C 30min	1	50°C 30min	1					50°C 30min	1
RTase and Initial activation	94°C 15min	1	95°C 15min	1	95°C 15min	1	50°C 1min	1	95°C 1min	1
Denaturation	94°C 10sec		94°C 20sec		94°C 20sec		94°C 45sec		94°C 45sec	
Annealing	55°C 10sec	35	55°C 20sec	35	55°C 20sec	35	55°C 30sec	35	55°C 30sec	35
Extention	72°C 15sec		72°C 30sec		72°C 30sec		72°C 45sec		72°C 45sec	
Final extention	72°C 5min	1	72°C 10min	1	72°C 10min	1	72°C 1min	1	72°C 10min	1

Table 3. Contamination bacterial numbers in fresh raw semen (cfu × 10²/ml)

AI center	Sample no.	Raw semen
A	88	131.6 ± 239.8
B	30	10.4 ± 22.3
C	13	17.1 ± 42.5
D	10	39.4 ± 182.3
E	10	23.27 ± 120.8
F	50	52.9 ± 70.57
Total (Average)	151	44 ± 113

Table 4. Contamination bacterial numbers in extended semen (cfu × 10²/ml)

AI center	Sample no.	Extended semen
A	88	0
B	15	0
C	13	2.2 ± 6.5
D	10	2.9 ± 3.4
E	10	0
F	50	7.5 ± 24.1
Total (Average)	136	4.2 ± 11.3

Table 5. Bacterial contaminants of species and rate in fresh boar semen of AI centers

Bacterial isolates	AI center						Frequency of isolation	Identified rate (%)
	A	B	C	D	E	F		
<i>Acinetobacter lowffii</i>	3						3	4.4
<i>Aeromonas hydrophila</i>						2	2	2.9
<i>Acaligenes faecalis</i>						1	1	1.5
<i>Citrobacter freundii</i>						2	2	2.9
<i>Delftia acidovorans</i>	4	1					5	7.4
<i>Escherichia coli</i>	4					6	10	14.6
<i>Escherichia vulneris</i>	1						1	1.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					1		1	1.5
<i>Leclercia adecaboxylate</i>						1	1	1.5
<i>Proteus mirabilis</i>		1	1			5	7	10.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	1		2	7	12	17.6
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>						1	1	1.5
<i>Enterococcus faecium</i>						1	1	1.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	1						1	1.5
<i>Gemella morbillorum</i>					1		1	1.5
<i>Staphylococcus auricularis</i>	2	1				2	1	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	1					3	4.4
<i>Staphylococcus cohinii</i>						1	1	1.5
<i>Staphylococcus capitis</i>						1	1	1.5
<i>Staphylococcus sciuri</i>						1	1	1.5
<i>Staphylococcus xylosus</i>					1		1	1.5
Unidentified	1	1				4	6	8.7
22 species	18	5	2	0	7	30	62	91.3

Qiagen RNeasy® Mini kit를 사용하여 정액을 300µl 씩 채취하여 멸균된 tube에 넣은 후 buffer RLT를 600µl 넣은 후 1분 동안 강하게 vortex한 후 70% ethanol용액을 600µl 추가한 다음 키트에 들어 있는 column으로 750µl을 넣고 12,000rpm에 1분간 원심분리 후 상층액을 제거한 다음, buffer RW1 700µl을 넣고 1분간 원심분리, 새로운 collection tube에 buffer RPE 500µl를 12,000rpm에서 1분간 원심분리 후 상층액을 제거하고 다시 buffer RPE 500µl를 넣은 후 12,000rpm에서 1분간 원심분리, RNase-free water 40µl을 주입, 2분간 정지 후 12,000rpm에서 1분간 원심분리후 유전자를 추출하여 PCR반응에 사용하였다. 실험에 사용된 바이러스별 증폭사이즈와 PCR반응조건은 다음과 같이 사용하였다(Table 1, Table 2).

PCR이 끝난 후 증폭된 유전자 부위의 확인을 위해 ethidium bromide가 함유된 1.5% agarose (Sigma®, USA)에 각 반응이 끝난 시료를 12µl씩 취하여 한천 사이에 점적한 후 100V, 30분간 전기영동을 실시하고 자외선 조사(ultraviolet luminator)하에서 특정 위치의 DNA band를 확인하고 사진촬영을 하였고 molcular size marker는 1kb DNA ladder (Bioneer, Korea®)를 사용하였다.

결 과

정액 내 세균수(SPC)

원정액 내 오염된 세균수의 측정결과는 Table 3과

같이 평균 $44 \pm 113(\text{cfu} \times 10^2/\text{ml})$ 이었으며 인공수정센터별로 최고 131.6 ± 239.8 에서 최저 10.4 ± 22.3 로 차이가 많았다.

액상정액의 평균 세균수는 4.2 ± 11.3 였으며, 최고 7.5 ± 24.1 였고 3개소에서는 검출되지 않았다(Table 4).

분리동정된 세균

6개 돼지인공수정센터로부터 채취한 원정액에서 검출된 세균은 Table 5와 같이 22종 68건이었으며, 세균의 검출비율은 *P. aeruginosa* (17.6%), *E. coli* (14.6%), *P. mirabilis* (10.3%), *S. auricularis* (8.8%), *D. acidovorans* (7.4%), *A. lowffii* (4.4%), *S. aureus* (4.4%) 순이었으며, 특히 *Staphylococcus* spp.가 19%(13건)이었다. 한편, 액상정액에서는 10종 14건이 분리되었으며, 검출

된 세균 종류와 세균의 검출빈도는 Table 6과 같았다.

항생제감수성 검사결과

원정액과 액정액 내 오염빈도가 높았던 세균인 *Pseudomonas* spp.와 *Proteus* spp.등 6종에 대하여 20종의 항생제 감수성 조사결과는 Table 7과 같다. *Pseudomonas* spp.는 cephalothin, cephalocin 등의 항생제에 대하여 감수성이 있었고, *Proteus* spp.는 Amikacin, enrofloxacin, erythromycin 등에서, *Staphylococcus* spp.는 gentamicin, norfloxacin, tetracycline에서 감수성이 있었다. 또한, *Gemella* spp.는 amikacin, kanamycin 등에서 감수성이 있었고, *Klebsiella* spp. 및 *Enterococcus* spp.는 enrofloxacin, gentamicin 등에 감수성이 있었다. 반면 colistin 제제에서는 6종 모두 저항성을 보였다.

Table 6. Bacterial contaminants of species and rate in extended semen of AI center

Bacterial isolates	AI center						Frequency of isolation	Identified rate (%)
	A	B	C	D	E	F		
<i>Acinetobacter lowffii</i>	2						2	14.3
<i>Enterobacter aerogenes</i>					1		1	7.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					1		1	7.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1						1	7.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1						1	7.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2						2	14.4
<i>Staphylococcus auricularis</i>	2						2	14.4
<i>Staphylococcus capitis</i>						1	1	7.1
<i>Staphylococcus simulans</i>						1	1	7.1
Unidentified	2						2	14.3
10 species	8	0	0	0	2	2	12	85.7

Table 7. Antibiotics sensitivity test result of identified bacteria in semen

Antibiotics	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Gemella</i> spp.
Ampicillin	S*	R	R	S	S	R
Amikacin	R	S	R	R	S	S
Bacitracin	S	R	R	S	S	R
Cefuroxime	S	R	R	R	R	R
Cephalothin	S	R	R	S	R	R
Chloramphenicol	R	R	R	S	S	R
Clindamycin	S	R	R	R	S	R
Colistin	R	R	R	R	R	R
Cephalocin	S	R	R	R	R	R
Cefazolin	S	R	R	S	R	R
Erythromycin	S	S	R	R	S	R
Enrofloxacin	R	S	R	S	S	R
Gentamicin	R	R	S	S	S	R
Kanamycin	S	S	R	R	R	S
Neomycin	R	S	R	R	R	R
Norfloxacin	S	R	S	S	S	R
Penicillin	R	S	R	S	S	R
Tetracycline	S	R	S	S	S	R
Sulfamethoxazole	R	R	S	S	S	S
Streptomycin	R	S	R	R	R	R

*S: sensitivity, R: resistant

검출된 바이러스

액상정액 186건중 75건에 대한 돼지생식기호흡기증후군바이러스(PRRS), 돼지오제스키병바이러스(ADV), 돼지일본뇌염 바이러스(JEV), 돼지뇌심근염바이러스(EMCV), 돼지열병바이러스(CSFV), 돼지파보바이러스(PPV), 돼지썩코바이러스(PCV-2) 등 7종에 대한 PCR 검사결과 바이러스 항원은 미검출되어 도내 유통정액 내 주요바이러스성 질병의 감염은 확인되지 않았다.

고 찰

돼지 정액 내에서는 세균이 정상적으로 존재하며 10^9 cfu/ml까지 존재할 수 있다고 보고되고 있으나 이러한 오염된 세균의 존재가 정자에 미치는 영향에 대해서는 잘 알려지지 않고 있다(박 등, 2008). 유 등(2008)이 AI센터 4개소에 대한 원정액내 오염된 세균수의 측정결과는 33.1 ± 141.8 (cfu $\times 10^4$ /ml)이었다고 보고하였으며, 이 실험에서도 최고 131.6 ± 239.8 (cfu $\times 10^2$ /ml)에서 최저 10.4 ± 22.3 (cfu $\times 10^2$ /ml)로 평균 44 ± 113 (cfu $\times 10^2$ /ml)의 세균 오염을 보였는데, 이는 전자들의 보고와는 다소 세균수가 줄어든 수이지만 여전히 많은 세균의 오염이 있음을 확인 하였는데 이는 AI센터에서 정액 채취를 얼마나 위생적으로 하는가에 따라서 큰 차이를 보이는 것으로 생각된다.

정액 내 주요오염세균은 Enterobacteriaceae과에 기원한 그람음성균이 대부분을 차지하고 있으며, 정액의 세균 오염시 정액의 질과 양에 해로운 영향을 미치기 때문에 통제하지 않으면 이러한 오염의 결과 집단의 생산성을 감소시킨다(Sone, 1990; Althouse와 Lu(2005)고 하였다. 정액 내 세균 오염 및 검출 빈도를 조사한 외국의 결과를 보면 Sone 등(1982)은 *Pseudomonas* spp., *Microbacter* spp., *Staphylococcus* spp. 등 12종이, Tamuli 등(1984)은 *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. 등 9종이, Dagnall (1986)은 *Citobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Actinobacillus* spp. 등 16종이, Danowski (1989)은 *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli*, *Citrobacter* spp., *Neisseria* spp. 등 7종이 분리되었음을 보고하였다. Althouse와 Lu (2005)은 *Enterococcus* spp. (20.5%), *Stenotrophomonas maltophilia* (15.4%), *Alcaligenes xylosoxidans* (10.3%), *Serratia mar-*

cescens (10.3%), *Acinetobacter lowffii* (7.7%), *E. coli* (6.4%), *Pseudomonas* spp. (6.4%) 및 기타세균 (23.0%) 순으로 검출되었음을 보고한 바 있다.

국내에서도 유 등(2008)이 AI센터 4개소에 대한 정액 내 오염세균의 종류를 조사한 결과 세균 검출빈도는 *Staphylococcus* spp. (38%), *Proteus* spp. (7%), *Bacillus* spp. (6%), *Pasteurella* spp. (6%) 순으로 보고하였고, 또한 2007년 강원도지역의 5개소의 AI센터를 대상으로 한 보고서에서는 AI센터별로 뚜렷한 공통점은 발견하지 못하였으나 *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp. 순으로 검출되었다고 보고하였다(박 등, 2008).

이 실험에서도 원정액에서 분리된 균종에 있어서는 AI 센터별 뚜렷한 공통점은 발견하지 못하였으나, *Staphylococcus* spp. (19.1%), *Pseudomonas aeruginosa* (17.6%), *E. coli* (14.6%), *Proteus mirabilis* (10.3%)의 순으로 위 4종이 61.7% (42/68건)로 주종을 이루고 있었으며, AI센터간 검출되는 세균에서는 *P. aeruginosa*가 공통적으로 높은 빈도로 확인되었으며, 그 외 세균에 대해서는 AI센터별로 차이가 크음을 확인할 수 있었다.

액상정액에서는 원정액과 같이 AI센터별 다양한 균종이 분리되었으며 *Staphylococcus* spp. (42%)의 검출률이 높게 나타났다.

Althouse와 Lu(2005)에 의하면 정액 내의 세균의 오염은 분변, 피부, 피모, 호흡기분비물, 조작자의 피부, 호흡기 등 인체로부터 기인한다고 여겨지는 다양한 경로를 서술하고 있다.

기존의 보고된 것과 같이 이 실험의 결과에서도 세균의 종과 검출빈도에서 다소 차이는 있었으나, 대부분 공통적으로 관찰되는 세균이 분리되었으며, AI센터의 종모든 위생상태와 정액처리, 수송과정 등에 따라 차이가 나타남을 알 수 있었다. 또한, 검사결과 *Brucella suis*와 렙토스피라균과 같은 병원성 세균은 검출되지 않았으며, 사육환경이나 정액채취과정 등의 환경적 요인이나 조작과정 중에 오염된 것으로 여겨지는 세균이 대부분이었다.

유통정액에서의 항생제의 첨가는 초기에는 penicillin과 streptomycin을 주로 사용하였으나 이들 항생제에 대한 내성균이 증가됨에 따라 gentamicin과 같은 광범위 항생제를 사용하고 있다(Sone, 1990). Althouse 등(2000)과 Althouse와 Lu(2005)도 1968년 초에 이와 같은 항생제에 내성을 갖는 몇몇 세균이 보고되었다고 하였으며, 돼지 액상정액에서 검출된 모든 세균에서

gentamicin에 대한 내성이 있는 것으로 보고하였다. 이러한 항생제는 세균의 단백질 합성을 억제시켜 세균의 증식을 억제하거나 살균작용을 하는데 이러한 작용들은 정자에도 영향을 미치게 된다. 따라서 시판되는 정액 내의 항생제의 첨가는 정자에 영향을 미치지 않는 범위에서 소량으로 넣기 때문에 정액 내 모든 세균을 억제하지 못하게 되고, 그 때문에 인공수정을 통한 질병유입 가능성을 완전히 무시할 수 없게 되었다(이장희, 2004).

박 등(2008)은 gentamicin을 처리한 정액에서 오염된 세균을 완전히 제거하지 못하였고 보고하였고, 유 등(2008)은 정액에서 동정한 세균을 8종의 항생제로 감수성을 조사한 결과 amikacin, polymyxin B, neomycin, streptomycin 등의 순으로 감수성이 높다고 보고하였고, 또한 *Enterococcus faecium*과 *Streptococcus uberis*는 단지 streptomycin만이 감수성이 있다고 보고하였다.

이번 실험에서도 오염빈도가 높았던 세균인 *Pseudomonas* spp.와 *Proteus* spp. 등 6종에 대하여 20종의 항생제 감수성 조사결과 *Pseudomonas* spp.는 cephalothin, cephalocin에, *Proteus* spp.는 amikacin, enrofloxacin, erythromycin 등에서, *Staphylococcus* spp.는 gentamicin, norfloxacin, tetracycline에서 감수성이 있었다. 또한, *Gemella* spp.는 amikacin, kanamycin 등에서 감수성이, *Klebsiella* spp. 및 *Enterococcus* spp.는 enrofloxacin, gentamicin 등에 감수성이 있었다. 반면 colistin 제제에서는 6종 모두 저항성을 보였는데, 이 처럼 AI센터별로 다양한 세균이 분리된 것과 같이 분리된 세균별로 다양한 감수성을 보여 AI센터별로 분리되는 균종에 따라 감수성이 있는 항생제를 선택하는 것이 바람직한 방법이나 항생제에 의해서 오염된 세균을 완전히 제거할 수 없으므로 무엇보다 정액의 채취과정이나 처리과정에서 오염되지 않도록 하여야 겠다.

OIE (2009)의 규정에는 돼지인공수정센터는 수의당국의 공식적인 승인을 받아야 하고 정부수의사의 직접적인 감독과 위생적인 통제하에 있어야 하며, 수의당국의 전체적인 감독하에서 최소 6개월 간격으로 동물복지와 건강을 점검받아야 한다. 또한, 정액생산과 관련한 돼지는 AI센터내로 들어가는 것을 허용하며 돼지는 인접지역 또는 자연 또는 인공적인 방법의 건물에서 사육중인 농장 가축으로부터 적절하게 격리되어 있어야 하며 엄격한 방문자의 출입과 병원성유기체의 유입을 배제하기 위해 기술적인 보완과 고도의 개인위

생수준을 요구하고 있다. 희석제내에 페니실린, 스트렙토마이신, 폴리믹신 등의 함유는 허용하고 있다.

인공수정용 돼지 액상정액에 대한 세균오염도 및 정액유래 주요 바이러스성 질병 감염에 대하여 연구한 결과 돼지생식기호흡기증후군바이러스(PRRS), 돼지오제스키병바이러스(ADV), 돼지일본뇌염 바이러스(JEV), 돼지뇌심근염바이러스(EMCV), 돼지열병바이러스(CSFV), 돼지파보바이러스(PPV), 돼지싸코바이러스(PCV-2) 등 주요한 바이러스 질병의 감염은 확인되지 않은데 비하여, 농장내 상재하거나 환경에서 유래될 수 있는 세균의 오염이 대부분임을 알 수 있었으며 또한 AI센터별로 다양한 세균과 항생제 내성이 있음을 확인되었는데, 정액 내의 세균수를 감소시키기 위해서는 무엇보다 위생적인 정액의 채취 및 처리가 최선의 방법이라고 판단된다.

결 론

2008년 1월에서 12월까지 경남지역 돼지 인공수정센터 6개소를 대상으로 센터별 원정액 201건과 유통되는 액상정액 186건을 대상으로 세균오염도 및 주요 바이러스 질병 감염률 조사를 한 결과 정액내 세균수(cfu × 10²/ml)는 평균 44 ± 113이었으며, 액상정액에서는 평균 4.24.2 ± 11.3이었으며 인공수정센터별로 큰 차이를 보였다. 원정액에서는 *Staphylococcus* spp. (19.1%), *Pseudomonas aeruginosa* (17.6%), *E. coli* (14.6%), *Proteus mirabilis* (10.3%) 등 22종 68건이, 액상정액에서는 *Staphylococcus* spp.(42%) 등 10종 14건이 분리되었고, 분리된 *Pseudomonas* spp. 등 6종에 대한 20종의 항생제 감수성 조사결과 *Pseudomonas* spp.는 cephalothin, cephalocin, *Proteus* spp.는 amikacin, enrofloxacin, erythromycin, *Staphylococcus* spp.는 gentamicin, norfloxacin제제가 감수성이 있었다.

액상정액 75건에 대한 PRRS, JEV, ADV, EMCV, CSFV, PPV, PCV-2 등 7종에 대한 바이러스 검사결과 항원은 검출되지 않았다.

참 고 문 헌

- 김명철, 김용준, 조정근, 이수진, 이재일, 김인철, 손동수. 2001. 돼지 액상정액을 위한 희석 및 저온보존에 관한 연구. 한국임상수의학회지 18(4): 345-349.

- 김인철. 2006. 우리나라 돼지인공수정산업의 역사와 미래. *중돈개량* 6: 54-59.
- 박춘근, 홍기훈, 이용승, 한태욱. 2008. 돼지 정액내의 오염 세균의 동정 및 오염된 세균의 제거. *한국가축위생학회지* 31(4): 547-554.
- 유재원, 김인철, 홍준기, 조규호, 전기준, 박준철, 김영화, 최진성, 김상운, 이주형, 최은지, 강석진, 정기화, 배상중. 2008. 돼지 액상정액 내 오염세균의 항생제 감수성 조사 및 항생제 첨가 효과. *농촌진흥청 축산과학원 2008년도 축산시험 연구보고서*: 3261-3271.
- 이장희. 2004. 돼지 인공수정과 정액희석제. *양돈전문기술(진주산업대학교)*: 79-104.
- 이장희. 2001. 돼지인공수정의 개발방향과 수태율 향상방안 돼지 인공수정. *농진청 행정간행물*. 11-1390271-00036-01: 59-83.
- Althouse GC. 1997. Comparison of currently used semen extenders in the swine industry. *Comp Cont Ed Prac Vet* 19: 777-782.
- Althouse GC, Lu KG. 2005. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology* 63: 573-584.
- Althouse GC, Kuster CE, Clark SG, Weisiger RM. 2000. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology* 53(5): 1167-1176.
- Dagnall GJR. 1986. An investigation of the bacterial flora of the preputial diverticulum and of the semen of boars. M.Ph. thesis. Royal Veterinary College. Hertfordshire.
- Danowski KM. 1989. Qualitative and quantitative investigation of the germ content in boar semen and the antibiotic sensitivity of the prevailing germ spectrum. Dr Med Vet Inaugural Dissertation. Tierärztliche Hochschule. Han-nover.
- Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Rossow KD, Shivers JL, Yaeger MJ, Chase CC, Garduno RA, Collins JE, Benfield DA. 1998. Identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen and tissues from vasectomized and nonvasectomized boars. *Vet Pathol* 35: 260-267.
- OIE. 2009. Terrestrial animal health code. Chapter 4.6. Collection and processing of porcine semen. <http://www.oie.int/>
- Sone M, Ohmura K, Bamba K. 1982. Effects of various antibiotics on the control of bacteria in boar semen. *Vet Rec* 111(1): 11-14.
- Sone M, Kawarasaki T, Ogasa A, Nakahara T. 1989. Effects of bacteriacontaminated boar semen on the reproductive performance. *Jpn J Anim Reprod* 35: 159-164.
- Sone M. 1990. Investigations on the control of bacteria in boar semen. *Jpn J Anim Reprod* 36: 23-29.
- Tamuli MK, Sharma DK, Rajkonwar CK. 1984. Studies on the microbial-flora of boar semen. *Indian Vet J* 61: 858-861.