

<원 저>

돼지 희석정액의 세균오염도 및 유효 항생제 선발

김하영¹ · 변재원¹ · 신동호¹ · 김형순¹ · 윤하정² · 박최규¹ · 이오수¹ · 정병열^{1,*}

¹국립수의과학검역원 질병진단센터, ²역학조사과

(게재승인: 2010년 5월 12일)

Bacterial contaminants in extended boar semen and selection of effective antimicrobials

Ha-Young Kim¹, Jae-Won Byun¹, Dong-Ho Shin¹, Hyoung-Soon Kim¹, Hachung Yoon²,
Choi-Kyu Park¹, O-Soo Lee¹, Byeong Yeal Jung^{1,*}

¹Animal Disease Diagnostic Center, ²Veterinary Epidemiology Division,
National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-757, Korea

(Accepted: May 12, 2010)

Abstract : Bacterial contamination is an unavoidable finding of the semen collection process in boar and can lead in deleterious effects on semen quality and longevity if left uncontrolled. The purpose of this study is to identify the bacteria in extended boar semen and to select the effective antimicrobials to control of the contaminants. Of 116 extended boar semen samples submitted from eight AI centers in Korea, 39 (33.6%) samples were positive for bacterial contamination. Among 39 contaminated semen, most of them (84.6%) were contaminated with one or two bacterial species and there was no significant difference between two age groups (≤ 24 and > 24 month old). *Stenotrophomonas maltophilia* (n = 18) was the most predominant bacterium followed by *Elizabethkingia meningoseptica* (n = 12), *Sphingomonas paucimobilis* (n = 12), *Myroides* spp. (n = 5), *Ochrobactrum anthropi* (n = 3), and so on. Enrofloxacin (72.9%), florfenicol (72.9%), bacitracin (49.2%) and tylosin (49.2%) showed higher sensitivity compared with penicillin (13.6%) or aminoglycosides (6.8%-18.6%). *Brucella* spp., *Leptospira* spp., *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex were not detected in semen by PCR.

Keywords : antimicrobials, bacteria, boar, semen

서 론

돼지 인공수정은 자연교배와 비교했을 때 우수한 유전자 도입 또는 질병을 최소화 할 수 있다는 점에서 전 세계적으로 널리 실시되고 있으며 [5, 7, 11], 우리나라에서도 인공수정의 보급이 확산되어 종축개량과 산자수 향상 등 양돈산업의 발전에 기여하였다 [2]. 정액의 품질은 수태율에 큰 영향을 미치기 때문에 채취할 때마다 정자의 수, 운동성, 형태 및 침체의 상태 등을 평가하고 있다. 그러나 돼지의 정액을 채취, 희석하는 과정에서 발생하는 불가피한 세균의 오염은 정자의 질을 저하시키

고 생존기간을 단축시키며 정액을 통해 감염된 병원성 세균은 질병전파의 원인이 된다 [4-7].

돼지 정액의 세균 오염율은 31.2%-79%로 매우 높게 나타나고 있으며 [5, 6, 13], 대표적인 오염균은 *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas* spp. 등으로서 대부분 돼지의 생식기 내부보다는 외부 환경 유래의 세균으로 알려져 있다 [6, 12, 13]. 생식기로 전파되는 병원성 세균으로는 *Brucella* spp., *Mycoplasma* spp., *Mycobacterium* spp., *Leptospira* spp. 등이 보고되었으며 [14], 인공수정을 통한 질병 전파의 가능성

*Corresponding author: Byeong Yeal Jung

Animal Disease Diagnostic Center, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-757, Korea
[Tel: +82-31-467-1756, Fax: +82-31-467-1868, E-mail: jungby@nvrqs.go.kr]

은 거의 없다고 하더라도 만일 이러한 병원성 세균에 오염된 정액이 사용된다면 암태지에 자궁내막염 및 전신성 질병을 일으키고 유·사산을 유발하므로 그 피해는 매우 크다 [11, 14].

정액 내 오염균의 증식을 억제함으로써 정액의 품질 저하를 막기 위해 보존액에 gentamicin, neomycin, penicillin, streptomycin, lincomycin, spectinomycin 등 다양한 항생제를 첨가하여 사용하고 있으나 [4], 정액에서 분리되는 세균들이 이들 항생제에 내성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다 [5, 6].

이에 본 연구에서는 국내에서 시판되는 돼지 정액의 세균 오염 현황을 조사하고 항생제 감수성 검사를 실시하여 오염 세균의 증식을 효과적으로 억제할 수 있는 유효 항생제를 선별하고자 하였다. 또한 정액으로 전파 가능한 세균성 질병 검사를 통하여 인공수정으로 인한 질병 전파를 간접적으로 예측하는데 사용하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료

돼지 정액 내 세균의 오염도 조사는 2009년 10월부터 12월 사이에 8개 정액생산업체(AI 센터)에서 생산된 유효기간 내 판매용 정액 116개를 대상으로 하였다. 정액을 생산한 용돈의 연령은 24개월령 이하가 51두, 24개월령 초과가 65두였다.

오염균의 분리 및 동정

정액 내 어떤 종류의 세균이 오염되어 있는지를 알아보기 위하여 생산 후 2-3일 이내의 정액완제품 100 μ L를 5% sheep blood agar plate(Asan Pharmaceutical, Korea)와 MacConkey agar(Difco, USA)에 각각 도말하여 37°C에서 24시간 동안 호기배양 하였다. 단독 colony를 크기와 모양, 색상에 따라 순수분리하고 VITEK 2 Compact(bioMérieux, France)를 이용하여 분리균을 동정하였다.

항생제 감수성 검사

동정된 세균에 대한 항생제 감수성검사는 Kirby-Bauer disk diffusion 방법에 따라 실시하였다 [8]. 사용된 항생제 disk는 전체 19종으로서 amoxicillin/clavulanic acid(30 μ g), ampicillin(10 μ g), bacitracin(10 μ g), colistin(10 μ g), gentamicin(10 μ g), kanamycin(30 μ g), neomycin(30 μ g), penicillin(10 μ g), streptomycin(10 μ g)(이상 9종; BD, USA)과 apramycin(15 μ g), ceftiofur(30 μ g), cephalixin(30 μ g), enrofloxacin(5 μ g), florfenicol(30 μ g), oxytetracycline(30 μ g), spectinomycin(100 μ g), spiramycin(100 μ g)(이상 8종; Oxoid, UK) 및 tiamulin(30 μ g), tylosin(150 μ g)(이상 2종;

Rosco, Denmark)을 사용하였다. 즉, 순수분리된 세균을 멸균 PBS에 부유하여 McFarland 탁도계를 이용하여 0.6-0.9로 농도를 조절하고 Muller Hinton Agar(Difco, USA)에 접종하였다. 15분 이내에 감수성 disk를 배지 위에 배치한 후 37°C에서 24시간 배양하여 억제환을 측정하였다. 감수성의 판단은 제조사 혹은 CLSI의 판독기준에 따라 판정하였다 [10].

PCR을 이용한 정액으로 전파 가능한 세균 검사

정액으로 전파 가능한 주요 세균성 질병의 원인체를 확인하기 위해 PCR을 실시하였다. 즉, 정액완제품 1 mL를 4,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 정자를 침전시키고 상층액 800 μ L를 수거하여 18,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 균체를 침전시켰다. 상층액을 제거한 후 남은 pellet에서 DNA Mini Kit(Qiagen, USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA를 이용하여 *Brucella* spp., *Leptospira* spp., *Mycoplasma(M.) hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex에 대해 PCR을 실시하였다 [1].

통계분석

실험에 이용된 전체 시료 중 세균 오염된 시료의 비율로서 세균 오염율을 산출하고 이에 대한 95% 신뢰구간을 구하였다. 세균 오염율은 24개월을 기준으로 월령에 따라 구분하여 추정하고 chi-square test를 이용하여 비교하였다(유의수준 $\alpha = 0.05$). 통계분석은 SPSS 14.0KO(LEAD Technologies, USA)를 이용하였다.

결 과

8개 AI 센터의 총 116개 정액완제품을 검사한 결과 39개에서 세균이 분리 되어 평균 오염율은 33.6%로 나타났다(Table 1). 정액완제품 모두에서 세균이 분리된 AI 센터는 1곳, 세균이 전혀 분리되지 않은 AI 센터는 2곳으로 조사되었으며, 나머지 5개 AI 센터는 20-50%의 다양한 오염율을 나타내었다. 또한 오염된 정액완제품 39개 중에서 한 종류의 세균이 오염된 제품은 18개(46.1%), 두 종류의 세균이 오염된 제품은 15개(38.5%)로서 전체 오염제품의 대다수(84.6%)를 차지하였다(Table 2). 정액을 생산한 용돈의 연령에 따른 세균 오염 분포도는 24개월령 이하에서 39.2%(95% 신뢰구간, 25.8-53.9%), 24개월령을 초과한 용돈에서는 29.2%(95% 신뢰구간, 18.6-41.8%)로 나타나 두 그룹간에 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았다(Table 3).

오염된 정액완제품 39건에서 15종, 68주의 세균이 분리되었으며, 그 중 그람 음성균이 9종(60.0%), 61주

Table 1. Percentage of bacterial contamination in extended boar semen of AI centers

AI center	No. of tested semen	No. of contaminated semen	%
A	15	7	46.7
B	12	6	50.0
C	15	15	100
D	15	0	0
E	17	0	0
F	12	5	41.7
G	15	3	20.0
H	15	3	20.0
Total	116	39	33.6

Table 2. Distribution of bacteria species in contaminated extended boar semen

No. of bacterial species	No. of semen	%
1	18	46.1
2	15	38.5
3	5	12.8
4	0	0
5	1	2.6
Total	39	100

Table 4. Type and percentage of bacterial contaminants isolated from extended boar semen (n = 39) in each AI center

Bacteria (n)	Percentage of isolates	No. of isolates in each AI center					
		A	B	C	F	G	H
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (18)	26.5	0	0	15	3	0	0
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i> (12)	17.6	0	0	12	0	0	0
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> (12)	17.6	5	0	4	2	1	0
<i>Myroides</i> spp (5)	7.4	0	3	0	1	1	0
<i>Ochrobactrum anthropi</i> (3)	4.4	0	3	0	0	0	0
<i>Granulicatella elegans</i> (2)	2.9	0	0	0	2	0	0
<i>Kocuria rosea</i> (2)	2.9	2	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (2)	2.9	0	2	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium thalpophilum</i> (2)	2.9	0	0	2	0	0	0
<i>Alcaligenes faecalis</i> (1)	1.5	0	1	0	0	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i> (1)	1.5	0	0	0	1	0	0
<i>Granulicatella adiacens</i> (1)	1.5	0	0	1	0	0	0
<i>Kocuria kristinae</i> (1)	1.5	0	0	0	1	0	0
<i>Micrococcus luteus</i> (1)	1.5	0	0	0	0	1	0
<i>Vagococcus fluvialis</i> (1)	1.5	0	0	0	1	0	0
Unidentified (4)	5.9	0	0	0	0	1	3
Total (68)	100	7	9	34	11	4	3

Table 3. Age-related prevalence of bacterial contamination

Age (month)	No. of tested semen	No. of contaminated semen (%)	95% CI*
≤ 24	51	20 (39.2) [†]	25.8 - 53.9
> 24	65	19 (29.2)	18.6 - 41.8
Total	116	39 (33.6)	

*CI: confidence interval. [†]No significant difference between the two age groups ($p > 0.05$).

(89.7%)를 차지하였다. 한편, 동정된 균의 분포는 *Stenotrophomonas(S.) maltophilia*가 26.5%(18/68)로 가장 많이 분리되었으며, 그 외 *Elizabethkingia(E.) meningoseptica* (17.6%; 12/68), *Sphingomonas(Sp.) paucimobilis* (17.6%; 12/68) 및 *Myroides* spp.(7.4%; 5/68) 순으로 분리되었고, 특히 *Sp. paucimobilis*는 4개 AI 센터에서, *Myroides* spp.는 3개 AI 센터에서 분리되었다(Table 4).

오염된 정액완제품에서 분리한 세균에 대한 항생제 감수성 검사 결과 enrofloxacin(72.9%)과 florfenicol (72.9%), bacitracin(49.2%)과 tylosin(49.2%)순으로 감수성이 높았고 gentamicin, kanamycin, neomycin 같은 aminoglycoside계 항생제의 감수성은 6.8%-18.6%로 낮게 나타났다(Fig. 1). 많이 분리된 5가지 세균 즉, *S. maltophilia*, *E. meningoseptica*, *Sp. paucimobilis*, *Myroides* spp., *Ochrobactrum(O.) anthropi*에 대한 감수성 검사에

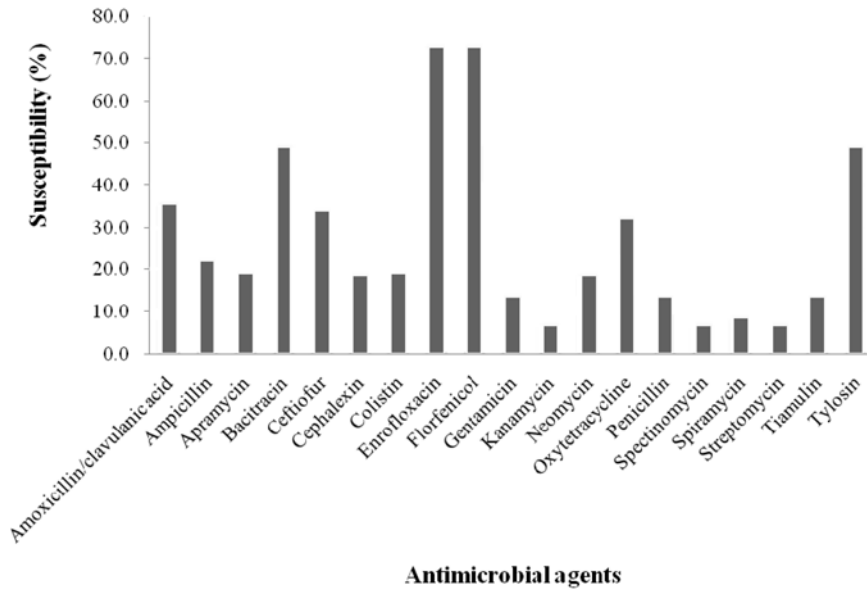


Fig. 1. Antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from extended boar semen in this study. The most effective antimicrobials against contaminants isolated from extended boar semen were enrofloxacin (72.9%) and florfenicol (72.9%). However, the isolates were less susceptible to aminoglycosides including gentamicin (13.6%), kanamycin (6.8%), and neomycin (18.6%).

Table 5. Percentage of antimicrobial susceptibility of top five bacterial species isolated from extended boar semen

Antimicrobial agent	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	<i>Myroides</i> spp.	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Amoxicillin/clavulanic acid	0	20.0	0	100	11.1
Ampicillin	0	20.0	0	66.7	11.1
Apramycin	16.7	0	0	50.0	22.2
Bacitracin	0	20.0	33.3	100	61.1
Ceftiofur	8.3	20.0	0	83.3	16.7
Cephalexin	0	20.0	0	50.0	5.6
Colistin	0	20.0	100	16.7	23.5
Enrofloxacin	91.7	20.0	100	66.7	88.9
Florfenicol	100	20.0	100	50.0	66.7
Gentamicin	0	20.0	0	33.3	11.1
Kanamycin	0	0	0	33.3	5.6
Neomycin	0	0	0	33.3	22.2
Oxytetracycline	0	20.0	66.7	80.0	35.3
Penicillin	0	0	0	50.0	5.6
Spectinomycin	0	0	0	33.3	0
Spiramycin	0	20.0	0	16.7	0
Streptomycin	0	0	0	33.3	5.6
Tiamulin	0	0	0	33.3	0
Tylosin	91.7	20.0	0	83.3	22.2

서도 *Sp. paucimobilis*를 제외한 대부분의 균종은 enrofloxacin과 florfenicol에 가장 감수성이 높은 것으로

조사되었다(Table 5).

정액으로 전파가 가능한 세균성 원인체에 대한 PCR

Table 6. Results of polymerase chain reaction of bacterial pathogens transmissible with semen

AI center	No. of tested semen	<i>Brucella</i> spp.	<i>Leptospira</i> spp.	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex
A	15	0	0	0	0	0
B	12	0	0	0	0	0
C	15	0	0	0	0	0
D	15	0	0	0	0	0
E	17	0	0	0	0	0
F	12	0	0	0	0	0
G	15	0	0	0	0	0
H	15	0	0	0	0	0

검사에서는 검사한 정액완제품 모두 *Brucella* spp., *Leptospira* spp., *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex 음성으로 확인되었다(Table 6).

고 찰

돼지의 액상정액을 제조하기 위해 수압법(hand pressure technique)으로 채취되는 정액은 무균적으로 채취하기가 불가능하므로 웅돈이나 환경유래의 세균이 얼마든지 오염될 수 있다 [5-7]. 세균의 대사산물은 정자의 운동성과 수명을 크게 감소시켜 수태를 방해하는 주요 원인으로 작용하며 [3-5, 13], 오염된 세균의 농도, 정액의 보존 기간 및 보존 환경 등에 따라서 유해성이 다르게 나타나는 것으로 보고되었다 [5, 6]. 더욱이 세균에 오염된 정액이 암퇘지에 주입되면 질 분비물 증가와 자궁내막염 등 생식기 질환을 유발할 수 있으므로 정액 채취 및 처리 과정 중 세균오염에 각별히 주의하여야 한다 [7].

북미에서는 정액의 품질관리 프로그램으로서 돼지 정액완제품에 대한 주기적인 세균오염 모니터링을 수행하고 있으며, 매월 생산량의 1% 또는 주당 4개 이상의 제품에 대해 세균검사 실시를 권장하고 있다 [4, 6]. 본 연구에서 수행한 정액완제품 내 세균분리 결과, 오염 정도가 AI 센터에 따라 다양하게 나타났다. 평균 세균 오염율은 33.6%로 조사되었으며 이는 31.2%의 오염율을 보인 기존의 보고 [6]와 유사하였으나, 정자 응집이 일어나 정자의 수명이 감소되고 수태율이 저하되어 소비자의 불만이 있었던 시료의 오염율(71%)과는 다소 차이가 있었다 [5]. 본 연구에서 분리된 세균 15종 중 9종이 그람 음성균으로 토양 또는 물 등 환경유래의 세균이었으며 비뇨기계, 피부, 구강 유래의 세균도 일부 관찰되었다. 또한 4개 AI 센터에서 분리된 *Sp. paucimobilis*와 3개 AI 센터에서 분리된 *Myroides* spp.는 국내 AI 센터에 가장 널리 오염되는 균으로 생각되었다. 한편, 검사

한 정액완제품 116건 중 듀록이 생산한 제품이 99건 (85.3%)으로 대부분을 차지하여(data not shown) 웅돈의 품종별 오염도 비교는 실시하지 않았다.

또한 39개의 오염정액에서 1-2 종류의 세균이 오염된 경우는 각각 18건, 15건으로 전체 84.2%를 차지하고 있어, 한 마리의 돼지에서 정액을 채취할 때 3종 이상의 세균이 오염되는 경우는 드물었다. 그러나 AI 센터별로 분석해보면 많게는 7종의 세균이 오염된 경우도 있어 AI 센터단위에서는 다양한 세균이 정액에 오염 가능하다는 것을 알 수 있었다.

돼지 원정액에 주로 오염될 수 있는 세균은 *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. 등이다 [6, 12, 13]. 돼지 액상정액에서는 *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes xylooxidans*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens*, *S. maltophilia* 등이 주로 분리되었으며 분리된 세균의 대부분은 정자의 운동성 또는 생존력에 영향을 주는 것으로 알려져 있다 [5-7]. 국내의 경우 유 등 [3]은 *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Bacillus* spp., *Pasteurella* spp., *Acinetobacter* spp., *Serratia* spp., *E. coli* 등이 주로 분리된다고 보고 하였다. 본 연구에서는 *S. maltophilia*, *E. meningoseptica*, *Sp. paucimobilis*, *Myroides* spp., *O. anthropi* 등이 주로 분리되었는데 오염된 세균의 종류가 보고자들 간에 차이가 있는 이유는 오염원이 다르기 때문으로 생각되었다. 이러한 세균들의 주요 오염원은 웅돈의 분변, 포피강액, 피부, 피모, 호흡기 분비물, 채취자의 피부, 머리카락, 호흡기 분비물과 같은 생물체 유래와 물, 희석용 증류수, 사료나 깔짚, 공기, 먼지, 하수구 같은 환경 유래로 분류될 수 있으며 생식기 내부보다 외부의 요인이 주된 오염원으로 보고되었다 [5, 6, 11, 13].

이와 같이 오염원에 따라 매우 다양한 균종이 분리되고 있어 이들 오염균에 대한 항생제 감수성 검사 결과

는 일관되지 않은 것으로 보고되었으며 시판되는 정액 내의 항생제 첨가는 정자에 영향을 미치지 않는 범위 내에서 소량 사용하게 되므로 오염균 모두를 억제시킬 수 있는 유효한 항생제를 선별하기란 매우 어렵다 [6, 9]. 초창기에 가장 일반적으로 사용되었던 penicillin, streptomycin에 대한 내성균이 증가됨에 따라 최근에는 spectinomycin, gentamicin, neomycin, ampicillin, lincomycin, tylosin, polymyxin, enrofloxacin 등이 사용되고 있는 추세이다 [4-7]. 따라서 AI 센터에서는 사용 항생제에 대해 최소발육억제농도 시험을 통하여 유효 농도를 재설정 하는 등 항생제의 효능 재평가를 실시하여야 한다는 의견이 제시되고 있다 [13].

분리된 세균에 대한 항생제 감수성 시험 결과, enrofloxacin(72.9%), florfenicol(72.9%), bacitracin(49.2%), tylosin(49.2%) 등이 감수성이 높게 나타났다. 정액 회색 시 최근에 많이 사용되는 gentamicin, kanamycin, neomycin 같은 aminoglycoside계열 항생제의 감수성 범위가 6.8%-18.6%로 나타나(Fig. 1) 만일 이들 항생제를 사용하고 있는 AI센터가 있다면 항생제 교체를 고려해야 할 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 정액 유래 세균이 gentamicin에 내성율이 높다는 Althouse 등의 보고와 유사하였다 [5]. 유 등 [3]은 amikacin(84%), polymyxin B(66.7%), neomycin(50.7%), streptomycin(48.0%), kanamycin(37.3%), tetracycline(20.0%), erythromycin(18.7%), penicillin(17.3%) 순으로 감수성이 높다고 하여 본 실험결과와 다소 차이를 보였다.

*Brucella suis*와 *Mycoplasma*는 정액에서 분리 및 검출된 바 있으며, *Leptospira*는 정액 채취 시에 오줌으로부터 오염될 가능성이 있고, *Mycobacterium*은 생식기계에 국소적인 감염이 있는 경우 정액으로 오염될 수 있다 [11, 14]. 특별한 임상증상이 없이도 이러한 균들이 정액으로 배출될 수 있기 때문에 이들 질병에 대한 방역관리를 위해서 정기적인 혈청검사의 필요성 또한 제시되었다 [14]. 본 연구에서 *Brucella* spp., *Leptospira* spp., *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex에 대한 항원검사 결과, 이들 세균성 질병에 대한 AI 센터의 방역상태는 양호한 것으로 확인되었다.

전국 8개 AI 센터의 정액완제품에 대한 세균검사를 실시한 결과 정액 자체에 오염된 세균보다는 채취 및 처리 과정에서 오염된 다양한 세균들이 동정되었다. 따라서 AI 센터에서는 세균오염을 최소화 할 수 있는 방향을 모색하여 정액을 채취, 처리하여야 하며 주기적인 세균 오염도 측정이 권장되었다. 유효 항생제로는 enrofloxacin, florfenicol 등이 추천되었으며, 정액으로 전파 가능한 질병인 브루셀라병, 렙토스피라병, 마이코플라즈마병, 결핵병은 모두 음성으로 확인되었다.

결 론

8개 AI 센터의 총 116개 정액완제품 검사결과 39개 제품에서 세균이 분리되어 평균 오염율은 33.6%로 나타났다.

동정된 세균은 *S. maltophilia*(26.5%), *E. meningoseptica* (17.6%), *Sp. paucimobilis*(17.6%), *Myroides* spp.(7.4%) 등이었다.

분리한 세균에 감수성이 있는 항생제로는 enrofloxacin(72.9%), florfenicol(72.9%), bacitracin(49.2%), tylosin(49.2%) 등이 확인되었다.

정액으로 전파 가능한 세균(*Brucella* spp., *Leptospira* spp., *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex)에 대한 PCR검사 결과 모두 음성으로 확인되었다.

감사의 글

본 실험은 국립수의과학검역원의 연구비로 수행되었으며, 본 연구 수행을 위하여 도움을 주신 국립수의과학검역원 질병진단센터 세균질병진단실 연구원들께 감사드립니다.

참고문헌

1. 국립수의과학검역원. 동물질병 표준검사법. 국립수의과학검역원 예규 제 65호. pp. 96-137, 국립수의과학검역원, 안양, 2008.
2. 박춘근, 홍기훈, 이용승, 한태욱. 돼지 정액내의 오염세균의 동정 및 오염된 세균의 제거. 한국가축위생학회지 2008, **31**, 547-554.
3. 유재원, 조규호, 홍준기, 김명지, 박준철, 정일병, 김인철. 돼지 액상정액 내 세균오염과 항생제 감수성에 관한 연구. 한국동물자원과학회지 2008, **50**, 793-783.
4. Althouse GC. Sanitary procedures for the production of extended semen. *Reprod Domest Anim* 2008, **43** (Suppl), 374-378.
5. Althouse GC, Kuster CE, Clark SG, Weisiger RM. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology* 2000, **53**, 1167-1176.
6. Althouse GC, Lu KG. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology* 2005, **63**, 573-584.
7. Althouse GC, Pierdon MS, Lu KG. Thermotemporal dynamics of contaminant bacteria and antimicrobials in extended porcine semen. *Theriogenology* 2008, **70**, 1317-1323.
8. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M.

- Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966, **45**, 493-496.
9. **Bielanski A.** Disinfection procedures for controlling microorganisms in the semen and embryos of humans and farm animals. *Theriogenology* 2007, **68**, 1-22.
 10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. 2nd ed. Vol. 22. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, 2002.
 11. **Maes D, Nauwynck H, Rijsselaere T, Mateusen B, Vyt P, De Kruif A, Van Soom A.** Diseases in swine transmitted by artificial insemination: an overview. *Theriogenology* 2008, **70**, 1337-1345.
 12. **Sone M, Ohmura K, Bamba K.** Effects of various antibiotics on the control of bacteria in boar semen. *Vet Rec* 1982, **111**, 11-14.
 13. **Tamuli MK, Sharma DK, Rajkonwar CK.** Studies on the microbial flora of boar semen. *Indian Vet J* 1984, **61**, 858-861.
 14. **Thacker BJ, Larsen RE, Joo HS, Leman AD.** Swine diseases transmissible with artificial insemination. *J Am Vet Med Assoc* 1984, **185**, 511-516.