

< Original Article >

승용 씨암말의 생식기 유래 세균의 분포 및 항생제 감수성 양상

조영재 · 이용덕 · 장종덕 · 신광휴 · 박용수¹ · 양재혁¹ · 김승준² · 조길재^{2*}

한국마사회 장수목장, 국립농수산대학¹, 경북대학교 수의과대학²

Distribution and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria isolated from genital tract of riding mares

Young-Jae Cho, Yong-Duck Lee, Jong-Duck Jang, Kwang-Hyeu Shin,
Yong-Soo Park¹, Jae-Hyuk Yang¹, Sung-Joon Kim², Gil-Jae Cho^{2*}

Jangsu Stud Farm, Korea Racing Authority, Jangsu 597-843, Korea, ¹Korea National College of Agriculture and Fisheries, Hwaseong 445-760, Korea, ²College of Veterinary Medicine and Institute of Equine Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received 19 January 2015; revised 25 February 2015; accepted 10 March 2015)

Abstract

This study was carried out to investigate the genital tract bacterial flora of riding mare in Jangsu stud farm during March to September, 2014. The specimens were collected from vaginal and uterus using a swab from 104 riding mares. Colonies were selected on blood and MacConkey agar plates, and identified as standard biochemical properties and Maldi-Tof MS. From this study, we isolated 148 strains including *Escherichia (E.) coli* (14.19%), *Streptococcus (S.) equi* subsp. *zooepidemicus* (2.7%), *Streptococcus (S.) dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (2.03%), *Klebsiella (K.) pneumonia* (1.35%) and other strains from riding mares. In antimicrobial agents susceptibility test, it showed a high sensibility to the antibiotics of the most. *E. coli* and *S. zooepidemicus* were visible to have a high sensibility to almost antibiotics used in this study. However, *K. pneumoniae* showed a high antibiotic resistance patterns. These results may provide the basic information to establish strategies for the treatment and prevention of reproductive diseases in riding mares in Korea.

Key words : Antimicrobial agents, Bacteria, Genital tract, Riding mare

서 론

최근 들어 정부의 말산업육성법 시행을 계기로 국내의 말산업은 크게 발전될 것으로 기대하고 있는 가운데 승용마 생산 및 육성에 대한 관심이 고조되고 있는 실정이다. 국내에서 생산을 목적으로 사육중인 승용마는 약 250여 마리로서 이들은 정부 및 지자체의 거점번식센터에서 관리중인 씨수말 혹은 수입된 정액으로 번식에 활용하고 있다.

말은 다른 동물에 비해 개체별 특이성이 높기 때문

에 씨암말의 임신과 생산에 관련된 번식생리 역시 말 품종 간에 큰 차이가 있으며 가축 중에서 생산효율이 가장 낮은 것으로 알려져 있다. 대부분의 국가에서 번식을 목적으로 매년 교배하는 씨암말의 임신율은 약 85~90% 정도이나 다음 해 태어나는 망아지는 임신한 씨암말 대비 65~79% 정도에 불과한 것으로 알려져 있다(양 등, 2004).

씨암말의 자궁감염 또는 지속성 자궁염을 유발하는 원인들을 인지하고 치료하는 것은 말에서 번식장애를 현저히 감소시키는데 많은 도움이 된다. 씨암말의 번식을 저해 요인으로는 자궁파열, 질열창 등 물리적인 요인(비 감염성 질병), 자궁염, 자궁내막염 등

*Corresponding author: Gil-Jae Cho, Tel. +82-53-950-5978, Fax. +82-53-950-5955, E-mail. chogj@knu.ac.kr

감염성 질병(Blanchard 등, 2003; Sellnoe, 1999; Sertich, 1994), 연령, 스트레스, 쌍태 등 환경적인 요인, 염색체 이상 등 유전적 요인 등 다양하며, 감염에 대한 민감도는 연령의 증가, 번식기관의 손상, 세균의 감염 등에 의해 주로 발생하고 있고(양 등, 2003), 특히 세균의 감염은 생식기의 외형적 구조, 번식기술, 검사 과정, 해부학적 기형, 산후의 처리 등에 영향을 받는다. 씨암말의 생식기 질환과 관련된 주요 병원체는 *S. zooepidemicus*, *E. coli*, *Pseudomonas (P.) aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Taylorella (T.) equigenitalis*, Equine herpesvirus 등이 알려지고 있다(Wakeley 등, 2006).

본 연구를 통해 국내에서 승용말 생산을 목적으로 사육중인 씨암말의 생식기 유래 세균의 종류 및 그 세균에 대한 약제 감수성의 양상을 파악함으로써 적절한 항균제의 선택을 통한 생식기 질병의 조기 치료에 기여 및 항균제의 오·남용도 방지할 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 본 연구를 통해서 얻은 결과는 향후 국내에서 사육중인 씨암말의 생산성 향상에 기여함은 물론 세균성 생식기 질병 연구 프로그램의 효과적인 활용과 백신 개발 등에 유용한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

재료 및 방법

공시재료

국내 말의 번식시준인 2014년 3월부터 2014년 9월 사이 한국마사회 장수목장에 인공수정을 목적으로 입원된 말(더러브렛 혹은 한라마) 중에서 번식장애(3회 이상 불수태 혹은 전년도 불임) 말 104마리로부터 자궁 혹은 질내 swab (Equi-Vet, Denmark)를 이용하여 시료를 채취하였다.

시료채취 방법은 채취된 꼬리를 붕대로 묶거나 옆으로 재친 다음 외음부를 소독액으로 깨끗이 닦아낸 후 최소 30초간 swab를 생식기내로 삽입하여 시료를 채취하였다. 채취한 swab는 48시간 내에 실험실로 운반하여 본 연구에 사용하였다.

분리 및 동정 시험

채취한 swab는 blood agar plate와 MacConkey agar plate에 각각 접종하여 37°C에서 18~24시간 동안 배양하였으며, *T. equigenitalis*의 분리를 위해 chocolate agar

plate를 이용하여 6일간 혐기성 배양을 실시하였다.

배양된 집락들을 대상으로 집락형태나 Gram stain, OF-test, catalase test, oxidase test, MacConkey agar growth test, lysine decarboxylase test 등의 실험을 통해 1차 분리 동정한 후 Biolog (Thermo, USA)와 Maldi-Tof MS (Biomarie, France)기기를 이용하여 최종적으로 동정하였다.

항생제 감수성 시험

분리된 세균 중에서 말의 번식장애를 유발하는 주요 3개 균주를 대상으로 national committee for laboratory standard (NCCLS)의 기준에 따라 디스크 확산법(Bauer 등, 1966)으로 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 분리된 세균은 Muller-Hinton broth (MHB)에 접종하고 37°C에서 2~8시간 증균시킨 후 McFarland No. 0.5 (1.5×10^8 /mL)의 농도로 조절한 다음 Muller-Hinton agar (MHA) plate에 도말하여 항균제 disc (BBL, USA)를 접종한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 disc 주위의 complete inhibition zone의 크기를 측정하여 항균제에 대한 감수성 유무를 결정하였다.

사용한 항균제는 BBL (BBL, USA)과 Oxoid (Oxoid, UK)사의 제품으로 amikacin (AN), ampicillin (AP), bacitracin (B), carbenicillin (CB), cefoperazone (CF), ciprofloxacin (CL), cefepime (FEP), C, chloramphenicol (C), colistin (CL), cefotetan (CT), cefotaxime (CTX), cefazolin (CZ), doxycycline (D), erythromycin (E), enrofloxacin (ENR), gentamicin (GM), nitrofurantoin (NF), norfloxacin (NOR), nalidixic acid (NA), penicillin (P), polymycin B (PB); streptomycin (S), tetracyclin (TE), vancomycin (V), sulphamethoxazole (SXT) 등 총 25종의 항균제에 대한 감수성 시험을 실시하였다.

결 과

균 분리

국내 내륙에서 사육중인 승용말 중에서 번식장애가 있는 말의 생식기 유래 세균의 분포는 Table 1에서 보는 바와 같다. 전체 분리균 중에서 *E. coli* (14.19%)가 가장 많이 분리되었으며, *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (2.7%), *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *S. spp.*와 같은 Group C streptococci가 주로 분리되었

Table 1. Distribution of bacteria isolated from genital tract of mare

Strains	No.	(%) of isolate
<i>Escherichia coli</i>	21	(14.19)
<i>Actinobacter iwoffii</i>	9	(6.08)
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	6	(4.05)
<i>Staphylococcus equorum</i>	6	(4.05)
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	5	(3.38)
<i>Streptococcus thoralensis</i>	4	(2.70)
<i>Streptococcus equi ssp zooepidemicus</i>	4	(2.70)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	(2.70)
<i>Aerococcus viridans</i>	3	(2.03)
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	3	(2.03)
<i>Streptococcus dysgalactiae ss equisimilis</i>	3	(2.03)
<i>Streptococcus equinus</i>	3	(2.03)
<i>Enterobacter asburiae</i>	3	(2.03)
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	(2.03)
<i>Brevibacterium epidermidis</i>	2	(1.35)
<i>Streptococcus gordonii</i>	2	(1.35)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2	(1.35)
<i>Streptococcus dysgalactiae ss dysgalactiae</i>	2	(1.35)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	(1.35)
<i>Staphylococcus capitis</i>	2	(1.35)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	(0.68)
<i>Escherichia hermannii</i>	1	(0.68)
<i>Pasteurella aerogenes</i>	1	(0.68)
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	1	(0.68)
<i>Bacillus simplex</i>	1	(0.68)
<i>Actinobacter radioresistens</i>	1	(0.68)
<i>Bordetella trematum</i>	1	(0.68)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	(0.68)
<i>Actinobacillus rossii</i>	1	(0.68)
<i>Streptococcus capitis</i>	1	(0.68)
<i>Proteus mirabilis</i>	1	(0.68)
<i>Propionibacterium avidum</i>	1	(0.68)
<i>Paenibacillus spp</i>	1	(0.68)
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1	(0.68)
<i>Prevotella buccae</i>	1	(0.68)
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	1	(0.68)
<i>Actinomyces europaeus</i>	1	(0.68)
<i>Actinobacter spp</i>	1	(0.68)
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	(0.68)
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1	(0.68)
<i>Pseudomonas putida</i>	1	(0.68)
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	(0.68)
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	(0.68)
<i>Staphylococcus kloosii</i>	1	(0.68)
<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	1	(0.68)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	(0.68)
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	1	(0.68)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	(0.68)
Unknown	31	(20.95)
Total	148	(100)

다. 또한 화농성 자궁염을 유발하는 *K. pneumoniae*는 2주(1.35%)가 분리되었다.

항생제 감수성 양상

분리 동정된 세균중에서 번식장애에 영향을 미치는 세균(*E. coli*, *S. zooepidemicus*, *K. pneumoniae*)에 대한 항생제 감수성 시험을 실시한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. *E. coli*의 경우 chloramphenicol, colistin, cefotetan, enrofloxacin, nitrofurantoin, norfloxacin, polymyxin B, trimethoprim/sulphamethoxazole, tetracycline에 감수성을 나타내었다. *S. zooepidemicus*의 경우 ampicillin, amikacin, bacitracin, chloramphenicol, carbenicillin, cefotetan, cefotaxime, erythromycin, enrofloxacin, nitrofurantoin, gentamicin, norfloxacin, polymyxin B, streptomycin, tetracycline, vancomycin 등에 높은 감수성을 나타내었고, *K. pneumoniae*의 경우 colistin, enrofloxacin, nitrofurantoin, norfloxacin, trimethoprim/sulphamethoxazole 등에 높은 감수성을 나타내었다.

고 찰

국내에서 자연교배를 통한 경주말 생산에 비해 인공수정을 통한 말의 생산은 이제 막 시작하는 단계로써 이와 관련된 연구는 전반적으로 미흡한 실정이다. 지금까지 국내에서 씨암말의 생식기 유래 세균의 분리에 관한 연구에서 김 등(1991)은 19두의 건강한 씨암말을 대상으로 생식기내 세균을 조사한 결과 *Streptococcus spp.* (37.3%), *Staphylococcus spp.* (23.9%), *Bacillus spp.* (16.4%), *Corynebacterium spp.* (7.5%), *Enterobacter cloacae* (7.5%), *E. coli* (5.9%), *Bacteroides spp.* (1.5%) 등을 분리 보고한 바 있고, Lee 등(1999)은 *E. coli* (30%), *Clostridium spp.* (20%), *Streptococcus spp.* (20%), *Bacillus spp.* (18%), *Bacteroides spp.* (16%), *Pasteurella spp.* (14%), *P. aeruginosa* 등을 분리 보고한 바 있다. 또한 최 등(2007)은 더러브렛 씨암말의 생식기로부터 *E. coli* (19.8%), *Proteus mirabilis* (14.9%), *Staphylococcus aureus* (14.9%), *Staphylococcus epidermidis* (11.2%), *Coagulase-negative Staphylococcus spp.* (10.0%), *Enterococcus faecalis* (9.2%), *Enterobacter nimipressuralis* (7.4%), *Actinomyces viscosus* (7.2%), *Enterobacter mobilis* (4.7%), *Aeromonas encheleia* (4.3%), *Proteus vulgaris* (3.6%) 등의 순으로 높은 분리율을

Table 2. Antimicrobial susceptibility patterns of 3 strains isolated from mare

Strains	Susceptibility patterns*		
	Susceptible	Intermediate	Resistance
<i>E. coli</i>	C, CL, CT, ENR, NF, NOR, PB, SXT, TE	AN, CB, CI, D, GM, NA, S	AP, B, CF, CTX, CZ, E, FEP, P, V
<i>S. zooepidemicus</i>	AP, AN, B, C, CB, CT, CTX, E, ENR, NF, GM, NOR, PB, S, TE, V	CF, CI, CZ, D, FEP, NA, P	CL, SXT
<i>K. pneumoniae</i>	CL, ENR, NF, NOR, SXT	AN, C, CT, CTX, D, GM, NA, PB, S, TE	AP, B, CB, CF, CI, CZ, E, FEP, P, V

*AN, amikacin; AP, ampicillin; B, bacitracin; CB, carbenicillin; CF, cefoperazone; CI, ciprofloxacin; FEP, cefepime; C, chloramphenicol; CL, colistin; CT, cefotetan; CTX, cefotaxime; CZ, cefazolin; D, doxycycline; E, erythromycin; ENR, enrofloxacin; GM, gentamicin; NF, nitrofurantoin; NOR, norfloxacin; NA, nalidixic acid; P, penicillin; PB, polymyxin B; S, streptomycin; TE, tetracycline; V, vancomycin; SXT, Trimethoprim/sulphamethoxazole.

나타내었고, Gram 음성균의 분리율 (65.36%)이 Gram 양성균의 분리율 (34.64%)보다 높게 나타났다고 보고한 바 있다.

본 연구에서 분리된 세균의 분포는 Lee 등(1999)이나 최 등(2007)이 보고한 성적과 큰 차이가 없었다. 전염성 자궁염의 원인체인 *T. equigenitalis*는 동정되지 않아 향후 계속해서 연구를 진행 할 예정이다. 말 생식기 유래 많은 세균 중에서 특히 *E. coli*는 dirty-mare syndrome을 유발하는 중요한 원인체로 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Quinn 등, 1994). 씨암말의 외부 생식기의 해부학적 혹은 환경적 특성상 분변에 의한 오염 정도가 다른 부위에 비해 높고 오염에 노출될 가능성이 높기 때문에 병원성 세균에 의한 감염을 최대한 억제하기 위해서는 교미 전·후에 철저한 소독이 병행되어야 할 것으로 판단된다.

분리된 세균(*E. coli*, *S. zooepidemicus*, *K. pneumoniae*)에 대한 항생제 감수성 검사 결과 대부분 균주들이 낮은 항생제 내성 양상을 나타냄을 알 수 있었다. 대부분의 균주는 quinolone계 항생제에 대한 감수성이 높게 나타났다. 이는 국내 사육 말의 번식장에 처치가 다소 덜 행하여졌고, 또한 개체의 특성과 질병 진행 과정에서 가장 효과적인 약제를 선택할 수 있는 폭이 넓다는 것을 나타내고 있다. 따라서 번식장에 말의 치료 및 예방적 목적의 항생제 사용 시 효과는 좋으나 부작용이 적은 약제를 선택하는데 본 연구 결과가 유효할 것으로 사료된다. 그러나 *K. pneumoniae*는 대체로 감수성 약제보다 내성 약제가 많은 것으로 확인되어 씨암말의 번식장에 처치에 신중을 기해야 할 것으로 사료된다.

인공수정 씨암말의 생식기 질환을 예방하고 생산성 향상을 도모하기 위해서는 가능한 한 자궁의 감염

기회를 줄이는 것이 중요하다. 본 연구를 통해 국내에서 사육중인 인공수정 씨암말의 높은 임신율과 생산율을 얻기 위해서는 교배전 철저한 생식기 검사뿐만 아니라 번식기 전 과정에 걸쳐 자궁 및 씨암말의 건강상태 관찰과 지속적인 모니터링이 필요하다는 것을 알 수 있었다.

결론

국내에서 승용말 생산을 목적으로 사육중인 씨암말의 생식기 유래 세균의 종류 및 그 세균에 대한 약제 감수성의 양상을 알아보고자 일련의 시험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 분리된 세균은 전체 분리균 중에서 *E. coli* (14.19%)가 가장 많이 분리되었으며, *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (2.7%), *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *Streptococcus* spp.와 같은 Group C streptococci가 주로 분리되었다. 또한 화농성 자궁염을 유발하는 *K. pneumoniae* (1.35%)는 분리되었다.

분리 동정된 세균중에서 번식장애에 영향을 미치는 세균(*E. coli*, *S. zooepidemicus*, *K. pneumoniae*)에 대한 항생제 감수성 시험을 실시한 결과 *E. coli*와 *S. zooepidemicus*는 본 연구에 사용한 항생제에 대해 전반적으로 감수성이 높았으나 *K. pneumoniae*의 경우 대체로 내성이 높게 나타났다.

감사의 글

본 논문은 2014년 한국마사회 특별적립금 사업의 지원금에 의해 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

REFERENCES

- 김태중, 윤화중, 최귀철, 박정문. 1991. 번식마 생식기내 세균 총 조사 및 약제 감수성에 관한 연구. 건국대학교 축산대학 동물자원연구소센타.
- 양영진, 조길재, 남치주. 2004. 제주지역 더러브렛 말의 번식 특성 조사. 대한수의학회지 44: 105-111.
- 양영진, 조길재, 신상태, 남치주. 2003. 초음파술에 의한 더러브렛 암말의 번식환경이 임신에 미치는 영향. 한국임상수의학회지 20: 121-130.
- 최성균, 이수길, 양재혁, 조길재. 2007. 더러브렛 씨암말의 생식기내 세균의 분포 및 항생제 감수성 양상. 한국임상수의학회지 24: 19-25.
- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standized single disk method. Am J Clin Pathol 45: 493-496.
- Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J, Love CC, Brinsko SP, Rigby SL. 2003. Manual of equine reproduction. 2nd ed. pp. 59-68. Mosby. St. Louis.
- Lee CS, Lee DW, Seo GH, Rhu IS, Son DS, Kim MH, Lee HC, Choi GC, Kim JY. 1999. Screening of normal flora in mare's vagina during breeding season. Proc KSVS 43: 127.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. 1994. Clinical veterinary microbiology. 1st ed. pp. 555-556. Mosby. London.
- Sellnoe S. 1999. Post foaling problems in mares. The Horse. 16: 40-51.
- Sertich PL. 1994. Periparturient emergencies. Vet Clinic North Am Equine Practice 10: 19-36.
- Wakeley PR, Errington J, Hannon S, Roest HIJ, Carson T, Hunt B, Sawyer J, Heath P. 2006. Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* directly from genital swabs and discrimination from *Taylorella asinigenitalis*. Vet Microbiol 118: 247-254.