

<원 저>

## 깔짚 교체 및 재사용 육계농장 분리 대장균의 항생제 내성 양상

성환우<sup>1,\*</sup> · 최강석<sup>2</sup> · 권혁무<sup>1</sup> · 이영주<sup>3</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 수의과대학, <sup>2</sup>농림축산검역검사본부 조류질병과, <sup>3</sup>경북대학교 수의과대학

(접수: 2017년 7월 29일, 수정 2017년 9월 14일, 게재승인: 2017년 9월 19일)

### Patterns of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from fresh and recycled poultry litter

Haan-Woo Sung<sup>1,\*</sup>, Kang-Seuk Choi<sup>2</sup>, Hyuk-Moo Kwon<sup>1</sup>, Young-Ju Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

<sup>2</sup>Avian Disease Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon 39660, Korea

<sup>3</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

(Received: July 29, 2017; Revised: September 14, 2017; Accepted: September 19, 2017)

**Abstract:** The isolation rate of *Escherichia (E.) coli* in poultry litter was investigated at 44 broiler farms, 20 that used fresh litter and 24 that used recycled litter. The patterns of resistance to antibiotics of the *E. coli* isolates were compared. In litter sampled before the rearing period, the isolation rate of *E. coli* was higher at farms that used fresh litter; *E. coli* was present in the litter in 94.5% (35 out of 37 flocks tested) of the farms that used fresh litter vs. 51.2% (21 out of 41 flocks) of the farms that used recycled litter. The susceptibility of the 93 isolates of *E. coli* to 13 antibiotics was studied. Before the rearing period, *E. coli* isolates from the farms that recycled litter showed higher resistance rates than isolates from farms that replaced litter with fresh litter. Comparing the antibiotic resistance patterns of isolates from litter sampled before and at the end of the rearing period, the antibiotic resistance rates at the end of the rearing period increased dramatically compared with rates before the rearing period.

**Keywords:** *Escherichia coli*, antibiotic resistance, broiler farms, poultry litter

## 서 론

육계농장에서 깔짚의 적절한 관리는 계군의 건강 및 생산성과 관련이 많다 [13-15, 18]. 습도가 높은 깔짚은 미생물 증식과 암모니아 발생을 증가시킬 수 있으며 [3], 너무 건조한 깔짚은 먼지 등을 증가시켜 호흡기 질병에 대한 감수성이 높아질 수 있다 [21]. 국내 육계농장에서는 왕겨, 볏짚, 톱밥 등 다양한 종류의 깔짚이 사용되고 있으나 왕겨가 가장 많이 사용되고 있다. 깔짚 사용 형태는 입추 시 기존사용 깔짚을 제거하고 새로운 깔짚으로 교체하는 농가와 기존의 깔짚을 교체 없이 재사용하는 농가로 구분할 수 있다.

깔짚에 오염된 병원체는 깔짚에서 10~14일 후 감염능력이 상실되는 뉴캐슬병(Newcastle disease) 바이러스와 같이 생존력이 짧은 병원체도 있지만 122일까지도 감염능력이 유지되

는 전염성F낭병(infectious bursal disease; IBD) 바이러스와 같이 생존력이 긴 병원체도 있다 [1, 2]. 깔짚을 재사용할 경우에는 병원체에 오염된 깔짚으로 인한 생산성 저하 가능성이 있을 것으로 예상하였으나 국내의 일부 깔짚 교체 육계 농가와 재사용 농가의 생산성을 비교한 결과 뚜렷한 차이는 확인되지 않았다 [4, 5].

항생제 내성을 가진 세균이 분변을 통하여 깔짚 등 외부 환경으로 배설되면 항생제 내성 플라스미드(plasmid)가 사람이나 다른 동물에게 전달될 가능성도 있다 [9]. 깔짚에 오염된 항생제 내성균 플라스미드는 형질전환(transformation)이나 접합(conjugation)의 방법으로 수평 전달되는 것으로 알려져 있다 [7]. 동물로부터 배설된 항생제 내성균은 물, 채소 및 음식 등에 오염되어 사람이나 다른 동물로 이동하여 항생제 내성 문제를 일으킬 수 있다 [16]. 따라서 깔짚에 오염

\*Corresponding author

Tel: +82-33-250-8680, Fax: +82-33-259-5625

E-mail: sunghw@kangwon.ac.kr

된 항생제 내성균이 사람이나 다른 동물에 전달될 수 있는 공중 위생학적 위험을 예방하기 위해서는 깔짚에 항생제 내성균의 오염을 최소화하는 것이 필요하다 [9]. 깔짚을 재사용할 경우에는 깔짚에 오염된 세균이 항생제에 계속 노출될 가능성이 있고 또한 분변으로 배설되는 항생제 내성균과 접촉할 기회가 많아질 수가 있기 때문에 내성균 출현율이 높아질 가능성도 있다. 본 연구는 입추 할 때마다 깔짚을 교체하는 육계농장과 재사용하는 농장 간의 대장균(*Escherichia coli*; *E. coli*) 오염 정도를 비교하고 분리된 대장균을 대상으로 항생제 내성 양상을 비교하여 깔짚 재사용이 항생제 내성균 출현 증가 등 공중 위생학적 위험 요인과 관련 있는지를 평가하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 깔짚 시료 채취

깔짚 시료 채취는 경기도, 충청북도 및 경상남북도 지역에 소재하는 육계 농장 중 입추 할 때마다 깔짚을 교체하는 20개 농장과 깔짚을 재사용하는 24개 농장을 대상으로 하였다. 대장균 분리용 계사 깔짚 시료는 선정된 농장별로 입추 및

출하 때 각각 채취하였다. 시료 채취 횟수는 2회 입식 기준으로 농장당 4회에 걸쳐 시료 채취가 되도록 하였다. 시료 채취 장소는 계사당 5곳의 일정한 지점을 정하고 장소당 약 25 g의 깔짚을 채취하였다.

### 대장균 분리 및 동정

농장 계사당 5곳에서 25 g씩 수거한 깔짚을 1 g씩 채취하여 5 g으로 만든 다음 45 mL의 멸균 phosphate buffered saline(0.01 M PBS, pH7.2)를 첨가하여 진탕하였다. 진탕액을 멸균 PBS로  $10^{-8}$ 까지 10진 희석하여 미리 준비된 BBL MacConkey Agar(Becton, Dickinson and Company, USA)에 배양 접시당 0.1 mL씩 접종한 후 37°C 배양기에서 24시간 배양 후 유당(lactose)을 분해하는 집락(colony) 수를 계산하는 방법으로 대장균 오염 정도를 조사하였다.

대장균 동정은 BBL MacConkey Agar에서 유당을 분해하는 분홍색 집락을 채취하여 Sabat *et al.* [17]이 보고한 유전자증폭법(polymerase chain reaction)으로 동정하였다.

### 항생제 내성 시험

분리 대장균에 대한 항생제 내성 시험은 디스크확산법으

**Table 1.** Comparison of the number of *Escherichia (E.) coli* of litter collected from the farms that used fresh litter

Farms	Number of <i>E. coli</i> (CFU/g litter)			
	1st Flocks		2nd Flocks	
	Before*	After <sup>†</sup>	Before	After
DYHGR	$8.0 \times 10^4$	$3.9 \times 10^3$	$6.8 \times 10^6$	$2.0 \times 10^2$
JCLBH	$6.6 \times 10^7$	$5.6 \times 10^4$	$3.6 \times 10^5$	$1.2 \times 10^5$
JCYCH	$1.2 \times 10^6$	$9.0 \times 10^2$	$2.4 \times 10^6$	$6.5 \times 10^4$
ESLSJ	$3.2 \times 10^6$	$3.3 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$	$< 10^1$
BESSJ	$6 \times 10^4$	NT	NT	NT
WSPJNJ	$9 \times 10^4$	NT	NT	NT
MGCD1	$5.7 \times 10^5$	$< 10^1$	$8.0 \times 10^2$	$5.6 \times 10^3$
MGCD2	$1 \times 10^6$	$1.4 \times 10^4$	$1.5 \times 10^6$	NT
SJCHJ	$2.4 \times 10^5$	$< 10^1$	$1.3 \times 10^4$	$2.6 \times 10^3$
SJKHS	$6.2 \times 10^5$	$6.0 \times 10^4$	$2.4 \times 10^4$	$< 10^1$
SJKYI	$1.3 \times 10^5$	$< 10^1$	$1.2 \times 10^5$	$6.9 \times 10^5$
MGKYS	$3.5 \times 10^6$	$< 10^1$	$1.6 \times 10^4$	$< 10^1$
HCHSK	$< 10^1$	$< 10^1$	NT	NT
SCPSM	$2.7 \times 10^6$	$< 10^1$	$3.0 \times 10^2$	$< 10^1$
YCLMK	$2.0 \times 10^5$	$2.5 \times 10^4$	$6.7 \times 10^4$	$< 10^1$
YCBHJ	$9.0 \times 10^4$	$< 10^1$	$1.2 \times 10^5$	$< 10^1$
MYLCH	$2.0 \times 10^5$	$5.5 \times 10^2$	$6.2 \times 10^3$	$5.7 \times 10^3$
WSAHK	$8.9 \times 10^3$	$< 10^1$	$3.7 \times 10^6$	$< 10^1$
GWNJH	$3.2 \times 10^4$	$< 10^1$	$2.4 \times 10^4$	$< 10^1$
WSLYS	$8.0 \times 10^3$	$< 10^1$	$< 10^1$	$2.8 \times 10^3$
Total number of positive/ Number of tested (%)	19/20 (95.0%)	8/18 (44.4%)	16/17 (94.1%)	8/16 (50.0%)

CFU, colony-forming unit; NT, not tested. \*Litter samples collected before the rearing period. <sup>†</sup>Litter samples collected after the end of the rearing period.

로 실시하였다. 총 13종의 항생제에 대한 내성 여부를 조사하였다. 사용한 항생제 내성검사용 디스크는 ampicillin, amoxicillin, gentamycin, amikacin, norfloxacin, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, sulfisoxazole, erythromycin, tetracycline, doxycycline, colistin 등 12종은 BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs(Becton, Dickinson and Company)를 사용하였고 enrofloxacin는 Oxoid Antimicrobial Susceptibility Test Discs(Oxoid, UK)를 사용하였다. 항생제 내성검사는 분리된 대장균을 Difco Mueller Hinton broth (Becton, Dickinson and Company)에 배양하여 균 농도를 탁도계 Densimat(bioMérieux, Italy)를 이용하여 McFarland 0.5 nephelometric turbidity units로 조정 한 후 Difco Mueller Hinton agar(Becton, Dickinson and Company)에 멸균 면봉으로 균액을 배지 표면에 골고루 발랐다. 실온에서 3~5분 뒤 디스크분배기(disk dispenser; BD, Germany)를 이용하여 항생제 disc를 균이 발린 배지 위에 분배하였다. 37°C에서 16~18시간 배양한 후 디스크별로 균 역

제대의 크기를 측정하고 제조사의 기준에 따라 내성 여부를 판정하였다.

## 결 과

### 깔짚 교체 농장에서의 대장균 양성을

입추할 때마다 깔짚을 교체하는 20개 농장을 대상으로 입추 전과 출하 전에 채취한 깔짚에서의 대장균 수를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 입추 전 채취 깔짚의 대장균 양성을 조사한 결과 1차 입식 계군은 20개 계군 깔짚 중 19개(95%)가 양성되었고 2차 입식 계군은 17개 계군 깔짚 중 16개(94.1%)가 양성으로 총 37개 조사 계군 깔짚 중 35개(94.6%)가 양성이었다. 양성농장의 입추 전 깔짚의 대장균 수는 깔짚 g당  $3.0 \times 10^2 \sim 6.6 \times 10^7$  colony-forming unit(CFU) 수준이었다. 출하 전 채취 깔짚의 대장균 검사결과 1차 입식 계군은 18개 계군 깔짚 중 8개(44.4%)가 양성되었고 2차 입식 계군은 16개 계군 깔짚 중 8개(50%)가 양성으로 총

**Table 2.** Comparison of the number of *E. coli* of litter collected from the farms that used recycled litter

Farms	Number of <i>E. coli</i> (CFU/g litter)			
	1st flocks		2nd Flocks	
	Before*	After†	Before	After
ECKSK	$4.9 \times 10^3$	$6.0 \times 10^3$	$5.3 \times 10^4$	$< 10^1$
GSJCH	$4.0 \times 10^4$	$< 10^1$	$1.6 \times 10^3$	$< 10^1$
CWOKJ	$1.4 \times 10^4$	$< 10^1$	NT	NT
CWSOJ	$< 10^1$	$2.3 \times 10^4$	NT	NT
CWPJS	$3.0 \times 10^2$	$< 10^1$	$3.6 \times 10^4$	$5.7 \times 10^3$
GCYMK	$5.7 \times 10^4$	$5.1 \times 10^4$	NT	NT
GCKES	$< 10^1$	$1.6 \times 10^3$	NT	NT
SJLKW	$< 10^1$	$9.3 \times 10^3$	NT	NT
HCSJA	$< 10^1$	$2.0 \times 10^3$	$5.0 \times 10^2$	$< 10^1$
SCMYH	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
SCKYT	$< 10^1$	$2.0 \times 10^2$	$< 10^1$	NT
CRBOJ	$< 10^1$	$9.3 \times 10^3$	$1.8 \times 10^6$	NT
WRLCH	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	NT
CRCSJ	$7.9 \times 10^4$	$< 10^1$	$1.6 \times 10^5$	$4.4 \times 10^4$
HAJMJ	$< 10^1$	$8.5 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$	$4.0 \times 10^3$
CRJS	$< 10^1$	$1.3 \times 10^4$	$1.1 \times 10^5$	$1.7 \times 10^5$
CRHTG	$9.3 \times 10^6$	$7.9 \times 10^5$	$1.3 \times 10^6$	$3.7 \times 10^3$
CRCBH	$4.6 \times 10^3$	$4.7 \times 10^5$	$4.6 \times 10^3$	$1.2 \times 10^1$
CRLOJ	$7.2 \times 10^4$	$3.3 \times 10^4$	$< 10^1$	$2.3 \times 10^5$
MYSYB	$< 10^1$	$6.9 \times 10^3$	NT	NT
GRKHY	$< 10^1$	$4.0 \times 10^2$	$< 10^1$	$1.3 \times 10^4$
MYJHY	$< 10^1$	$1.2 \times 10^5$	$8.0 \times 10^2$	$< 10^1$
GMNCH	$1.7 \times 10^4$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
WSJKD	$< 10^1$	$1 \times 10^2$	NT	NT
Total number of positive/ number of tested (%)	10/24 (41.7)	17/24 (70.8)	11/17 (64.7)	8/14 (57.1)

\*Litter samples collected before the rearing period. †Litter samples collected after the end of the rearing period

34개 조사 계군 깔짚 중 16개(47.1%)가 양성이었고 양성농장의 대장균 수는 깔짚 g당  $2.0 \times 10^2 \sim 6.9 \times 10^5$  CFU 수준이었다.

#### 깔짚 재사용 농장에서의 대장균 양성률

깔짚을 재사용하는 24개 농장을 대상으로 입추 전과 출하 전에 채취한 깔짚의 대장균 수를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 입추 전 채취 깔짚의 대장균 검사 결과 1차 입식 계군은 24개 계군 깔짚 중 10개(41.7%)가 양성이었고 2차 입식 계군은 17개 계군 깔짚 중 11개(64.7%)가 양성으로 총 41개 조사 계군 깔짚 중 21개(51.2%)가 양성으로 깔짚을 교체하는 농장의 입추 전 깔짚 시료의 양성률(94.6%)보다 낮은 것으로 나타났다. 출하 전 채취 깔짚의 대장균 검사 결과 1차 입식 계군은 24개 계군 깔짚 중 17개(70.8%)가 양성이었고 2차 입식 계군은 14개 계군 깔짚 중 8개(57.1%)가 양성으로 총 38개 조사 계군 깔짚 중 25개(65.8%)가 양성으로 깔짚 재사용 농장의 출하 전 깔짚의 양성률(47.1%)보다는 다소 높았으나 큰 차이를 보이지 않았다.

#### 분리 대장균의 항생제 내성률 및 내성 양상 비교

깔짚 교체 및 재사용 농장 깔짚에서 분리된 대장균 93주를 대상으로 tetracycline 등 13종의 항생제에 대한 내성률을 조사하였다(Table 3). 입추 전 깔짚에서 분리된 대장균을 대상으로 항생제 감수성 시험을 시행한 결과 깔짚 교체 농장의 입추 전 깔짚에서 분리된 33주는 erythromycin에 대하여는 85%의 높은 내성률을 보였으나 다른 항생제에 대한 내성률은 0~42%로 분리균의 50% 이상 내성을 나타내는 항생제는 확인되지 않았다. 그러나 깔짚 재사용 농장의 입추 전 깔짚에서 분리된 21주를 대상으로 항생제 내성 양상을 분석한 결과 분리균의 50% 이상 내성을 나타내는 항생제가

tetracycline, doxycycline, ampicillin, enrofloxacin, ciprofloxacin 및 erythromycin 등 총 6종으로 나타나 깔짚 교체농장의 입추 전 깔짚 분리균보다 항생제 내성률이 높은 것으로 나타났다(Table 3).

출하 전 깔짚에서 분리된 대장균을 대상으로 항생제 감수성 시험을 실시한 결과 깔짚 교체 및 재사용 농장 모두에서 매우 높은 항생제 내성률을 보였다. 깔짚 교체 농장에서 분리된 17주는 13종 항생제 중 9종(tetracycline, doxycycline, ampicillin, enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, sulfisoxazole, erythromycin)에 대하여 80% 이상의 매우 높은 내성률을 보였고 깔짚 재사용 농장에서도 8종(tetracycline, doxycycline, ampicillin, enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, sulfisoxazole, erythromycin)의 항생제에 대하여 80% 이상의 매우 높은 내성률을 보였다(Table 3).

입추 전과 출하 전의 깔짚에서 분리된 대장균의 항생제 내성 양상을 비교한 결과 출하 전에 분리된 대장균이 입추 전 분리주보다 항생제 내성률이 높은 것으로 나타났다. 깔짚 교체 농장의 경우 tetracycline은 18%에서 88%, doxycycline은 15%에서 82%, ampicillin은 42%에서 82%, enrofloxacin은 15%에서 82%, ciprofloxacin은 18%에서 82%, norfloxacin은 15%에서 82%, trimethoprim/sulfamethoxazole은 12%에서 88%, sulfisoxazole은 21%에서 88%로 출하 전 분리균의 내성률이 입추 전 분리균보다 많이 증가하였다. 깔짚 재사용 농장의 경우에도 tetracycline은 67%에서 91%, doxycycline은 57%에서 86%, ampicillin은 57%에서 91%, enrofloxacin은 57%에서 91%, ciprofloxacin은 52%에서 86%, norfloxacin은 48%에서 86%, trimethoprim/sulfamethoxazole은 38%에서 73%, sulfisoxazole은 43%에서 91%로 출하 전 분리균의 내성률이 입추 전 분리균보다 증가하였다(Table 3).

**Table 3.** Antibiotic resistance of *E. coli* isolated from farms that used fresh or recycled litter

Antibiotics	Farms using fresh litter		Farms using recycled litter	
	Before*	After†	Before	After
Tetracycline	6/33 (18) <sup>‡</sup>	15/17 (88)	14/21 (67)	20/22 (91)
Doxycycline	5/33 (15)	14/17 (82)	12/21 (57)	19/22 (86)
Ampicillin	14/33 (42)	14/17 (82)	12/21 (57)	20/22 (91)
Amoxicillin	6/33 (12)	5/17 (29)	4/21 (19)	0/22 (0)
Amikacin	0/33 (0)	2/17 (12)	0/21 (0)	1/22 (5)
Gentamycin	2/33 (6)	9/17 (52)	5/21 (24)	11/22 (50)
Enrofloxacin	5/33 (15)	15/17 (88)	12/21 (57)	20/22 (91)
Ciprofloxacin	6/33 (18)	14/17 (82)	11/21 (52)	19/22 (86)
Norfloxacin	5/33 (15)	14/17 (82)	10/21 (48)	19/22 (86)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	4/33 (12)	15/17 (88)	8/21 (38)	16/22 (73)
Sulfisoxazole	7/33 (21)	15/17 (88)	9/21 (43)	20/22 (91)
Erythromycin	28/33 (85)	15/17 (88)	19/21 (90)	22/22 (100)
Colistin	4/33 (12)	5/17 (29)	0/21 (0)	0/22 (0)

\*Litter samples collected before the rearing period. †Litter samples collected after the end of the rearing period. ‡Number of antibiotic-resistant isolate/number tested (%).

**Table 4.** Multiple antibiotic resistance of *E. coli* isolated from farms that used fresh or recycled litter

Number of antibiotic developed resistance	Farms using fresh litter		Farms using recycled litter	
	Before* (33) <sup>‡</sup>	After <sup>†</sup> (17)	Before (21)	After (22)
13	0 (0) <sup>§</sup>	1 (6)	0 (0)	0 (0)
12	0 (0)	1 (6)	0 (0)	0 (0)
11	1 (3)	3 (18)	1 (5)	0 (0)
10	3 (6)	5 (29)	3 (14)	11 (50)
9	1 (3)	3 (18)	3 (14)	4 (18)
8	1 (3)	1 (6)	1 (5)	2 (9)
7	0 (0)	0 (0)	2 (10)	1 (5)
6	0 (0)	1 (6)	0 (0)	1 (5)
5	1 (3)	0 (0)	3 (14)	0 (0)
4	3 (9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3	3 (9)	0 (0)	1 (5)	0 (0)
2	4 (12)	0 (0)	1 (5)	0 (0)
1	14 (42)	1 (6)	6 (29)	3 (14)
0	3 (9)	1 (6)	0 (0)	0 (0)

\*Litter samples collected before the rearing period. <sup>†</sup>Litter samples collected after the end of the rearing period. <sup>‡</sup>Number of *E. coli* isolates. <sup>§</sup>Number of isolates showing multiple antibiotic resistance (%).

분리주 93주를 대상으로 13종 항생제에 대한 내성 양상을 분석한 결과 다제내성 비율이 매우 높았다(Table 4). 6종 이상의 항생제에 대한 다제내성을 보이는 비율은 깔짚 교체 농장의 입추 전 깔짚 분리주는 18.1%(6/33주), 출하 전 깔짚 분리주는 88.2%(15/17주)이었고 깔짚 재사용 농장에서는 입추 전 깔짚 분리주는 47.6%(10/21주), 출하 전 분리주는 86.4%(19/22주)이었다.

## 고 찰

깔짚을 입추할 때마다 교체하는 20개 농장과 재사용하는 24개 농장을 대상으로 입추 전 깔짚 시료의 대장균 검사 결과, 깔짚 교체 농장의 경우 입추 전 깔짚의 대장균 양성률은 총 37개 조사 계군 깔짚 중 35개(94.6%)가 양성으로 대부분의 시료가 양성이었다. 반면 깔짚을 재사용하는 농장의 경우 입추 전 깔짚 시료는 총 41개 조사 계군 깔짚 중 21개(51.2%)가 양성으로 나타나 깔짚을 교체하는 농장의 양성률(94.6%)보다 더 낮은 것으로 나타났다. 위의 결과는 깔짚을 교체하는 농장이 깔짚을 재사용하는 농장보다 대장균 오염률이 더 낮을 것이라는 일반적인 예상과는 다른 시험 결과이었다.

대장균이나 살모넬라균은 citric acid, tartaric acid 및 salicylic acid 등과 같은 유기산에 노출될 경우 24시간 이내에 사멸되며, 깔짚을 유기산으로 처리할 경우 세균 오염 농도가 크게 감소한다 [8]. IBD 바이러스와 같이 외부환경에서 생존력이 매우 높은 병원체도 깔짚을 퇴비화하는 과정 중에 발생하는 열로 인하여 사멸되며 [6], 깔짚 재사용 시 살모넬라균이나 IBD 바이러스 등 병원체는 발효과정에서 감소함이

보고된 바 있다 [19, 20]. 국내 깔짚 재사용 농장은 휴지기 간에 극히 짧은 여름 일부 기간을 제외하고는 대부분 입추 전에 기존사용 깔짚이 충분히 발효될 수 있는 휴지기간을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 즉, 계군 출하 후 깔짚을 발효하기 위하여 물과 발효균을 깔짚에 첨가하여 계분이 충분히 발효될 수 있도록 약 3주 전후의 휴지기간을 갖고 있기 때문에 기존에 사용된 깔짚이 충분히 발효된 후 새로운 계군의 입추가 이루어지고 있다. 본 실험 시료 채취에 관련된 농장의 경우에도 대부분 충분한 휴지기간을 거친 농장이었다. 따라서 깔짚 재사용 농장의 입추 전 깔짚에서 대장균 오염률이 낮은 것은 이러한 발효 과정 중에 오염된 대장균이 감소하였을 것으로 추정되었다.

가금 농장 깔짚에서 분리된 다양한 세균을 대상으로 항생제 내성 양상을 검사한 결과 항생제 내성률이 비교적 높은 수준인 것으로 보고된 바 있다 [7, 9, 10]. 본 연구에서 깔짚 교체 및 재사용 농장 깔짚에서 분리된 대장균 93주를 대상으로 tetracycline 등 13종의 항생제에 대한 내성률을 조사한 결과 출하 전 깔짚에서 분리된 대장균의 내성률은 매우 높은 수준이었다. 출하 전 깔짚 분리주들은 깔짚 교체 및 재사용 농장 모두 amoxicillin, amikacin 및 colistin을 제외한 10종의 항생제에 대하여 분리균의 50% 이상이 내성을 보였으며 내성률도 50~100% 수준으로 높게 나타났다. 항생제에 따른 내성 양상은 깔짚 교체 농장에서는 tetracycline, enrofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, sulfisoxazole 및 erythromycin에 대하여 88%, doxycycline, ampicillin, ciprofloxacin, norfloxacin 등에 대하여도 82%의 높은 내성률을 보였다. 깔짚 재사용 농가에서도 출하 전 깔짚 분리균의 내성 양상은 erythromycin은 100%, tetracycline, ampicillin,

sulfisoxazole 및 enrofloxacin에 대하여는 91%, doxycycline, ciprofloxacin 및 norfloxacin에는 86%로 국내 육계 농장 깔짚에서 분리된 대장균의 항생제 내성률은 매우 높은 수준으로 대책 마련이 필요할 것으로 판단되었다.

국내에서 닭 분변에서 분리된 대장균의 항생제 내성검사 결과 내성률이 매우 높은 것으로 보고된 바 있으며 [12], 대장균증으로 폐사한 닭으로부터 분리된 대장균의 항생제 내성률 조사 결과 erythromycin, tetracycline, doxycycline, ampicillin, enrofloxacin, sulfisoxazole, ciprofloxacin, norfloxacin에 대한 내성률이 각각 97.1%, 85.3%, 82.3%, 73.5%, 67.6%, 67.6%, 64.7%, 61.7% 순으로 다른 항생제보다 높은 내성률이 있음이 보고된 바 있다 [11]. 본 연구에서의 출하 전 깔짚에서 분리된 대장균의 항생제 내성률 검사결과에서도 깔짚 교체 농장 및 재사용 농장 모두에서 erythromycin, tetracycline, doxycycline, ampicillin, enrofloxacin, sulfisoxazole, ciprofloxacin, norfloxacin에 대한 내성률은 매우 높은 것으로 확인되었다. 즉, 깔짚에서 분리된 본 연구에서의 대장균 내성 양상과 폐사한 닭에서 분리된 대장균의 내성 양상이 거의 유사한 것은 매우 흥미로운 결과이었다.

입추 전과 출하 전의 깔짚에서 분리된 대장균의 항생제 내성률을 비교한 결과 출하 전에 분리된 대장균이 입추 전 분리균보다 항생제 내성률이 높은 것으로 나타났다. 깔짚 재사용 농장의 경우 입추 전과 출하 전 깔짚 분리 대장균의 항생제 내성률은 tetracycline은 67%에서 91%, doxycycline은 57%에서 86%, ampicillin은 57%에서 91%로 높아졌으며 enrofloxacin 등 다른 항생제도 입추 전 분리균보다 내성률이 증가하였다. 이러한 이유는 출하전 분리 대장균이 입추전 분리 대장균보다 항생제 노출 가능성이 높은 것과 관련이 있을 것으로 추정되었으나 현재로는 정확한 원인은 알 수 없었다.

출하 전에 분리된 대장균이 입추 전 분리균보다 항생제 내성률이 높은 양상은 깔짚 교체 농장에서 더욱 뚜렷하게 관찰되었다. 즉, tetracycline은 18%에서 88%, doxycycline은 15%에서 82%, enrofloxacin은 15%에서 82%로 출하 전 깔짚에서 분리된 대장균의 내성률이 입추 전 분리 대장균의 내성률보다 크게 증가하였다. 이러한 요인은 앞서 언급한 바와 같이 출하 전 분리 대장균이 입추 전 분리 대장균보다 항생제 노출 가능성이 높은 것 이외에도 분리균의 차이와도 관련이 있을 것으로 추정되었다. 즉, 국내 육계 농장에서는 깔짚을 교체할 때 주로 왕겨나 톱밥을 사용하고 있다. 따라서 깔짚 교체 농장의 입추 전 깔짚에서 분리된 대장균은 왕겨나 톱밥에 오염된 대장균일 가능성이 높으며 이들 대장균은 육계 농장에서 분리되는 대장균과는 다른 항생제 내성 양상을 가지고 있을 것으로 추정되었다. 본 실험에서 깔짚 교체 농장의 출하 전 분리 대장균이 입추 전 분리균보다 항생제 내성 증가율이 깔짚 재사용 농장보다 더 높은 것은 이러한 요인과도 관련이 있을 것으로 추정되었다.

깔짚 교체 농장과 재사용 농장에서 입추 전과 출하 전에

각각 분리된 대장균에 대한 항생제 내성 양상을 비교한 결과 입추 전 깔짚에서 분리된 대장균은 깔짚 교체 농장 분리주가 재사용 농장 분리주보다 항생제 내성률이 높은 것으로 나타났다. 즉, 깔짚 교체 농장의 경우 항생제 내성률이 erythromycin을 제외하고는 0~42% 수준이었으나 깔짚 재사용 농장의 분리주는 내성률이 0~90% 수준이었고 50% 이상 내성을 나타내는 항생제도 검사한 13종 중 tetracycline 등 6종으로 나타나 깔짚 교체 농장보다 항생제 내성률이 높은 것으로 나타났다. 또한 6종 이상의 항생제에 대한 다제내성을 보이는 비율도 깔짚 재사용 농장의 입추 전 깔짚 분리주가 47.6%로 깔짚 교체 농장의 분리주 18.1%보다 높았다. 따라서 깔짚을 재사용하는 농장은 입추할 때부터 깔짚 교체 농장보다 항생제 내성률이 높고 다제 내성률이 높은 대장균에 노출되는 위험성이 있는 것으로 판단되었다.

## 감사의 글

이 논문은 농림축산검역본부 수의과학기술개발 연구사업과 강원대학교 2016년 기본연구비 지원사업(No. 520160332)으로 수행된 것으로 이들 지원에 감사드립니다.

## References

1. **Bankowski RA, Reynolds B.** Persistence of velogenic viscerotropic Newcastle disease virus in litter. *Avian Dis* 1975, **19**, 612-616.
2. **Benton WJ, Cover MS, Rosenberger JK.** Studies on the transmission of the infectious bursal agent (IBA) of chickens. *Avian Dis* 1967, **11**, 430-438.
3. **Carlile FS.** Ammonia in poultry houses: a literature review. *Worlds Poult Sci J* 1984, **40**, 99-113.
4. **Choi HC, Lee DS, Suh OS, Han JD, Kwon DJ, Kwag JH, Jang BG, Kang BS.** [The effect of new sawdust and used sawdust as a litter material for broiler]. *J Livest Hous Environ* 1999, **5**, 107-112. Korean.
5. **Choi KS, Jeon WJ, Lee EK, Kwon JH, Lee JH, Sung HW.** [Monitoring of major viral pathogen contamination in new and reused broiler farm litter]. *Korean J Poult Sci* 2011, **38**, 181-189. Korean.
6. **Crespo R, Badcoe LM, Williams C, Bary AI.** Inactivation of infectious bursal disease virus through composting of litter from poultry houses. *Avian Dis* 2016, **60**, 506-510.
7. **Dhanarani TS, Shankar C, Park J, Dexilin M, Kumar RR, Thamaraiselvi K.** Study on acquisition of bacterial antibiotic resistance determinants in poultry litter. *Poult Sci* 2009, **88**, 1381-1387.
8. **Ivanov IE.** Treatment of broiler litter with organic acids. *Res Vet Sci* 2001, **70**, 169-173
9. **Kelley TR, Pancorbo OC, Merka WC, Barnhart HM.** Antibiotic resistance of bacterial litter isolates. *Poult Sci* 1998, **77**, 243-247.
10. **Khan AA, Nawaz MS, Summige West C, Khan SA, Lin J.** Isolation and molecular characterization of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* from poultry litter. *Poult Sci* 2005, **84**, 61-66.

11. **Kim MS, Kwon HM, Sung HW.** [Antibiotic resistance pattern of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from chickens]. Korean J Vet Res 2009, **49**, 195-200. Korean.
12. **Lee YJ, Kim AR, Jung SC, Song SW, Kim JH.** [Antibiotic resistance pattern of *E. coli* and *Salmonella* spp. isolated from chicken feces]. Korean J Vet Res 2005, **45**, 75-83. Korean.
13. **Malone GW, Allen PH, Chaloupka GW, Ritter WF.** Recycled paper products as broiler litter. Poult Sci 1982, **61**, 2161-2165.
14. **Malone GW, Chaloupka GW.** Influence of litter type and size on broiler performance. 2. Processed newspaper litter particle size and management. Poult Sci 1983, **62**, 1747-1750.
15. **Malone GW, Chaloupka GW, Saylor WW.** Influence of litter type and size on broiler performance. 1. Factors affecting litter consumption. Poult Sci 1983, **62**, 1741-1746.
16. **Roe MT, Pillai SD.** Monitoring and identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria. Poult Sci 2003, **82**, 622-626.
17. **Sabat G, Rose P, Hickey WJ, Harkin JM.** Selective and sensitive method for PCR amplification of *Escherichia coli* 16S rRNA genes in soil. Appl Environ Microbiol 2000, **66**, 844-849.
18. **Torok VA, Hughes RJ, Ophel-Keller K, Ali M, MacAlpine R.** Influence of different litter materials on cecal microbiota colonization in broiler chickens. Poult Sci 2009, **88**, 2474-2481.
19. **Vaz CS, Voss-Rech D, de Avila VA, Coldebella A, Silva VA.** Interventions to reduce the bacterial load in recycled broiler litter. Poult Sci 2017. Epub ahead of print. doi: 10.3382/ps/pex063.
20. **Voss-Rech D, Trevisol IM, Brentano L, Silva VS, Rebelatto R, Jaenisch FRF, Okino CH, Mores MAZ, Coldebella A, Botton SA, Vaz CSL.** Impact of treatments for recycled broiler litter on the viability and infectivity of microorganisms. Vet Microbiol 2017, **203**, 308-318.
21. **Willis WL, Ouart MD, Quarles CL.** Effect of an evaporative cooling and dust control system on rearing environment and performance of male broiler chickens. Poult Sci 1987, **66**, 1590-1593.