



복지농장과 일반농장간 마이코플라즈마 유병율 및 조류인플루엔자 저항성 비교

김덕환¹ · 김규직² · 송창선^{3,4†}

¹건국대학교 수의과대학 조류질병학 실험실 대학원생, ²주식회사 카브 연구원,
³건국대학교 수의과대학 조류질병학 교수, ⁴주식회사 카브 대표이사

Comparison of Mycoplasma Prevalence and Protection Rate of Low Pathogenic Avian Influenza between Traditional Cage and Animal Welfare Systems

Deok-hwan Kim¹, Kyu-jik Kim² and Chang-seon Song^{3,4†}

¹Graduate Student, Avian Disease Laboratory, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 05029, Republic of Korea

²Researcher, KCAV Co., Ltd., Seoul 05029, Republic of Korea,

³Professor, Avian Disease Laboratory, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 05029, Republic of Korea,

⁴Representative, KCAV Co., Ltd., Seoul 05029, Republic of Korea

ABSTRACT In recent years, consumers have recognized the issue of and expressed concern over farm animal welfare. Therefore, worldwide, chicken farms are transitioning from traditional caged breeding systems to welfare-oriented breeding systems. In this study, we further analyzed and compared the prevalence and protection rate of various diseases by challenging chickens under conventional and welfare-oriented breeding conditions with low pathogenic avian influenza.

Ten chickens were randomly selected from each farm (conventional and welfare) from which *Mycoplasma gallisepticum* (MG) and *Mycoplasma synoviae* (MS) were identified and isolated. Additionally, low pathogenic avian influenza (LPAI) were challenged to broilers from each farm and samples were collected from these chickens using oral and cloacal swabs to investigate viral shedding and titer. The results showed that Mycoplasma infection did not significantly differ between breeding systems. Initially, LPAI viral shedding and titer significantly differed between breeding systems post-challenge, but as the experiment progressed, there was ultimately no significant difference.

(Key words: welfare farm, avian influenza, protect rate, *Mycoplasma*)

서론

전 세계적으로 시민들의 윤리적인 소비에 대한 관심이 높아짐에 따라 동물복지의 관심과 수요가 반려동물뿐만 아니라, 식용으로 소비되는 산업동물까지 확장되어 가는 추세이며, 이에 발맞추어 동물복지 사육방식을 채택한 농장 역시 점차 증가하고 있는 추세이다(Sullivan et al., 2017).

산업동물의 경우, 동물의 질병 감염 유무는 직간접적으로 인간의 건강과 밀접한 연관이 있어 동물복지뿐만 아니라, 공중보건학적으로도 역시 중요한 요소 중 하나이다. 특히, 고병원성 조류인플루엔자는 최근 3년간 지속적으로 발병하고 있으나, 동물복지 및 일반 농장간 질병 발생률 비교에 대

한 국내 연구는 미흡한 실정이다. 동물복지 사육방식의 경우, 관행적으로 사용되고 있는 일반 케이지에 비하여 질병 통제에 더욱 많은 인력과 시간이 소모된다는 점으로 인해 높은 질병감염 위험에 노출되어 있으나, 대다수가 동물복지 사육 방식이 각종 질병에 대한 면역력을 가지는 데 효과적이라는 인식이 생겼으므로 이에 대한 정확한 검증이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 동물복지 사육방식을 택한 육계 및 산란계 농장과 관행적인 사육방식을 택한 일반농장을 선정하여 각 농장별 질병의 발병율에 대한 비교 분석을 실시하였으며, 각 농장에서 사육된 실용계에 저병원성 조류인플루엔자를 공격접종을 진행하였을 때 실제적인 방어율의 차이를 비교

† To whom correspondence should be addressed : songcs@konkuk.ac.kr

분석하였다.

재료 및 방법

1. 농장 선정 및 시험동물

국내 산란계 농장 중 방사형 동물복지 사육방식과 관행적인 사육방식을 택한 농장 각 5곳씩 총 10곳을 선정하였으며,

육계 역시 산란계와 동일하게 복지농장과 일반농장 각 5곳을 선정하였다. 위와 같이 선정된 농장들을 1년에 각 두 번씩 방문하여 실제 사육되고 있는 닭 10마리를 무작위로 선별해 실험을 진행하였다(Table 1).

2. 마이코플라즈마 검출

각 농장 방문 시 무작위로 선정된 10마리의 실용계에서 면

Table 1. Poultry farm visit schedules in this study

Category	Farm	Race	First sampling		Second sampling		Area
			Visit date	Week	Visit date	Week	
Welfare layer	A	Hy-line	18.11.01	14	19.05.10	41	CB
	B	Hy-line	18.11.05	15	19.05.10	42	CN
	C	Hy-line	18.11.09	22	19.05.09	48	GB
	D	Lohmann	18.11.12	17	-	-	GN
	E	Hy-line	18.11.14	18	19.05.09	44	GB
Ordinary layer	F	ISA	18.12.04	44	19.05.16	65	CB
	G	ISA	18.12.06	65	-	-	CB
	H	Hy-line	18.12.11	17	-	-	GB
	I	Hy-line	18.12.12	27	19.05.17	49	GB
	J	Lohmann	18.12.18	66	18.05.16	88	GN
Welfare broiler	K	Cobb	19.03.27	26	19.05.20	29	JB
	L	Cobb	19.03.28	25	19.05.21	32	JB
	M	Cobb	19.04.01	29	19.05.22		JB
	N	Cobb	19.04.01	25	19.05.22	26	JB
	O	Cobb	19.04.02		19.06.04		JB
Ordinary broiler	P	Cobb	19.03.27	25	-	-	JN
	Q	Cobb	19.03.25		-	-	JB
	R	Cobb	19.03.28	25	-	-	JB
	S	Cobb	19.04.01	28	-	-	JB
	T	Cobb	19.04.01		-	-	JB
	U	Cobb	-	-	19.06.03		JB
	V	Cobb	-	-	19.06.03	22	JB
	W	Cobb	-	-	19.06.03	22	JB
	X	Cobb	-	-	19.06.04	23	JB
Y	Cobb	-	-	19.06.04	25	JB	

CB, Chungcheongbuk-do; CN, Chungcheongnam-do; GB, Gyeongsangbuk-do; GN, Gyeongsangnam-do; JB, Jeollabuk-do; JN, Jeollanam-do; Hy-line, Hy-line brown; Lohmann, Lohmann brown; ISA, ISA brown; week, age of the week.

Table 2. PCR primers for detection of poultry pathogens in the study

Pathogen	Target gene	Sequence(5--- 3')	Band size
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Mgc2	F: TGG GAT TCC GAT CGC TAA GAA R: TAA ACC CAC CTC CAG CTT TAT TTC C	545 bp
<i>Mycoplasma synoviae</i>	vlhA	F: GGC CAT TGC TCC TRC TGT TAT R: AGT AAC CGA TCC GCT TAA TGC F: AGA TGA GTC TTC TAA CCG AGG TCG	370 bp
H9N2 influenza	M gene	R: TGC AAA AAC ATC TTC AAG TCT CTG Probe: FAM-TCA GGC CCC CTC AAA GCC GA-TAMRA	55 bp

봉으로 구강 샘플을 채취한 다음 1 mL Phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 진탕한 후 Viral gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction kit(iNtRON Biotech, Korea)을 이용해 DNA 추출을 실시하였다. 추출된 DNA는 i-taq plus DNA polymerase kit(iNtRON Biotech, Korea)을 이용해 95℃에 3분 반응 후 95℃에 30초, 56℃에 30초, 72℃에 30초 반응을 35회 반복한 뒤 72℃에 5분 과정으로 마이코플라즈마 시노비에 vlhA 유전자를 증폭하였으며(Amy et al., 2010; Table 2), 95℃에 3분 반응 후, 95℃에 30초, 60℃에 30초, 72℃에 1분 35회 반복반응 뒤 72℃에 5분 과정으로 마이코플라즈마 갈리셉티쿰 mgc2 유전자를 증폭해 양성 유무를 확인하였다(Maricarmen et al., 2005; Table 2).

3. 저병원성 조류인플루엔자 방어능 확인

육계 28일령을 사육되고 있는 복지농장과 일반농장 각 한 곳으로부터 무작위로 선별된 10마리를 외부와의 접촉이 차단된 닭 격리 사육장치(Three shine, Korea)에 구분하여 격리 사육하였다. 공격접종 전 공격접종에 쓰일 균주에 대해 항체를 가지고 있는지 확인하기 위해 체혈 및 혈청분리를 통하여 Hi assay를 실시하였다. 저병원성 조류인플루엔자 subtype H9N2(A/Korean native chicken/Korea/K040110/2010 (H9N2))을 마리당 $10^{6.0}$ EID₅₀/100 µL로 비강을 통해 공격 접종하였다(Park et al., 2014). 조류인플루엔자 접종 1일, 3일, 5일, 7일, 9일 및 12일 후 구강과 총배설장에서 면봉으로 채취된 샘플을 1% Gentamycin 항생제가 포함된 PBS에 진탕했다. 그 후 MagNa Pure 96 System(Roche, Switzerland)을 이용해 RNA 추출을 실시하였다. 추출된 RNA 샘플들은 one-step Probe RT-PCR kit(Qiagen, Germany)를 이용한 real-time PCR(7500 Real Time PCR System, Applied Biosystems)을 진행하였다(Spackman et al., 2003; Table 2).

결 과

1. 마이코플라즈마 각 계군 별 확인

각 농장으로부터 채취된 샘플로부터 마이코플라즈마 갈리셉티쿰 확인 결과, 복지농장 사육 산란계 90개의 샘플 중 8개(8.9%)가 일반농장 사육 산란계 80개의 샘플 중 8개(10%)가 양성으로 검출되었다. 또한, 복지농장 사육 육계에서 채취된 총 100개의 샘플들은 모두 음성으로 확인된 반면, 일반농장 사육 육계 샘플 100개 중 15개가 양성(15%)으로 확인되었다.

마이코플라즈마 시노비에의 경우, 복지농장 사육 산란계 90개 샘플 중 16개가 일반농장 사육 산란계 80개 샘플 중 16개가 양성으로 검출되었다. 복지농장 사육 육계 총 100개의 샘플 중 단 하나만이 양성으로 검출되었으며, 일반농장 사육 육계 총 100개의 샘플은 모두 음성인 것으로 확인되었다(Table 3).

2. 저병원성 조류인플루엔자에 대한 사육형태별 방어능 확인

복지농장 사육과 일반농장 사육 육계의 Hi titer를 확인한 결과, 복지농장 사육 육계에서는 평균 2.4 HI, 일반농장 사육 육계에서는 평균 2.3 HI로 확인되어 앞으로 진행하는 실험에 있어 끼치는 영향이 없는 것으로 확인되었다. 복지농장 사육과 일반농장 사육 육계를 저병원성 조류인플루엔자를 비강으로 공격접종한 후 일자별로 구강과 총배설장에서 바이러스 함량 조사 결과, 접종 후 1일차에 복지농장과 일반농장 사육 육계의 총배설장에서는 바이러스가 검출되지 않았다. 그러나 구강으로부터 채취된 샘플에서는 두 가지 사육방식의 육계 모두에서 바이러스가 확인되었다. 공격접종 3일 후부터 복지농장 사육과 일반농장 사육 육계의 구강 및 총배설장 샘플 양쪽 모두에서 바이러스가 검출되었으

Table 3. Result of *Mycoplasma* spp detection in welfare layer and ordinary layer farms in the study

Category	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>							<i>Mycoplasma synoviae</i>					
	Farm	A	B	C	D	E	Sum	A	B	C	D	E	Sum
Welfare layer	1st	3/10	0/10	0/10	1/10	0/10	4/50	0/10	0/10	0/10	2/10	0/10	2/50
	2nd	0/10	1/10	1/10	-	2/10	4/40	5/10	4/10	0/10	-	5/10	14/40
Ordinary layer	Farm	F	G	H	I	J	Sum	F	G	H	I	J	Sum
	1st	0/10	2/10	0/10	2/10	3/10	7/50	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	1/50
	2nd	1/10	-	-	0/10	0/10	1/30	3/10	-	-	8/10	4/10	15/30
Welfare broiler	Farm	K	L	M	N	O	Sum	K	L	M	N	O	Sum
	1st	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50
	2nd	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	1/50
Ordinary broiler	Farm	P	Q	R	S	T	Sum	P	Q	R	S	T	Sum
	1st	10/10	3/10	0/10	0/10	0/10	13/50	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50
	Farm	U	V	W	X	Y	Sum	U	V	W	X	Y	Sum
	1st	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	2/50	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50

며, 구강 샘플에서는 공격접종 후 1일차의 바이러스 배출량에 비해 공격접종 후 3일차의 바이러스 검출량이 20배 증가함을 확인하였다. 공격접종 5일 이후부터는 구강과 총배설강 양쪽 모두 비슷한 수치의 바이러스가 배출됨을 확인하였다. 9일차부터 바이러스 검출량이 구강과 총배설강 모두 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

공격접종 후 1일차에서는 일반농장 사육에 비해 복지농장 사육 육계에서 10배가량 높은 바이러스 검출량의 차이를 나타내었으며, 공격접종 후 3일차의 경우 구강과 총배설강

양쪽 모두 일반농장 사육 육계가 복지농장 사육에 비해 10배가량 높은 바이러스 검출량 차이를 보였다. 공격접종 후 5일차에서는 구강에서 일반농장 사육 육계가 복지농장보다 3배가량 높은 바이러스 검출량이 확인되었으며, 총배설강의 경우에는 오히려 복지농장 사육의 육계에서 2배가량 높은 역가의 바이러스가 검출되었다. 7일차의 총배설강의 경우 일반농장 사육 육계에서 2배가량 더 높은 바이러스 역가가 검출되었으며, 공격접종 후 9일째 복지농장 사육의 육계에서 채취된 총배설강 샘플로부터 3배가량 더 높은 바이러스 역가가 검출되었다. 12일째 확인 결과, 복지농장 사육 육계로부터 채취된 구강샘플에서 6배, 총배설강에서 2배 더 높은 바이러스 역가가 검출되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

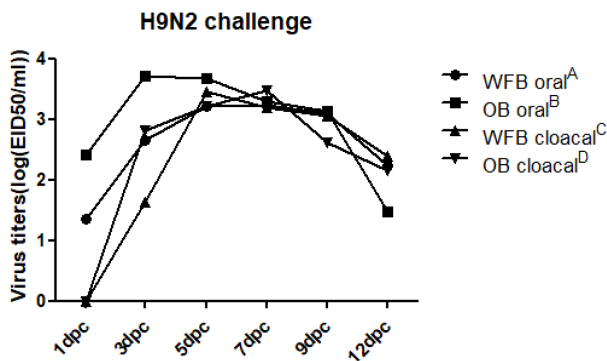


Fig. 1. Virus titers from swab samples challenged with H9N2. WFB oral, welfare broiler oral sample; OB oral, ordinary broiler oral sample; WFB cloacal, welfare broiler cloacal sample; OB cloacal, ordinary broiler cloacal sample.

고 찰

최근 반려동물을 넘어 식용으로 소비되는 산업동물까지 동물복지에 대한 높아지는 관심에 맞추어 복지 사육방식을 채택한 농장이 증가하고 있는 추세이다. 산업동물의 질병감염 여부는 소비자의 건강과 밀접한 연관이 있을 뿐만 아니라, 산업동물 시장 성장세에도 큰 영향을 끼치고 있다. 특히, 마이코플라즈마와 같은 사육성적을 감소시키는 질병의 경우, 최근 3년간 지속적으로 발생 중에 있으나, 일반 농장 및 동물 복지 사육방식간 질병 발생률 비교에 대한 국내의 연구는 미

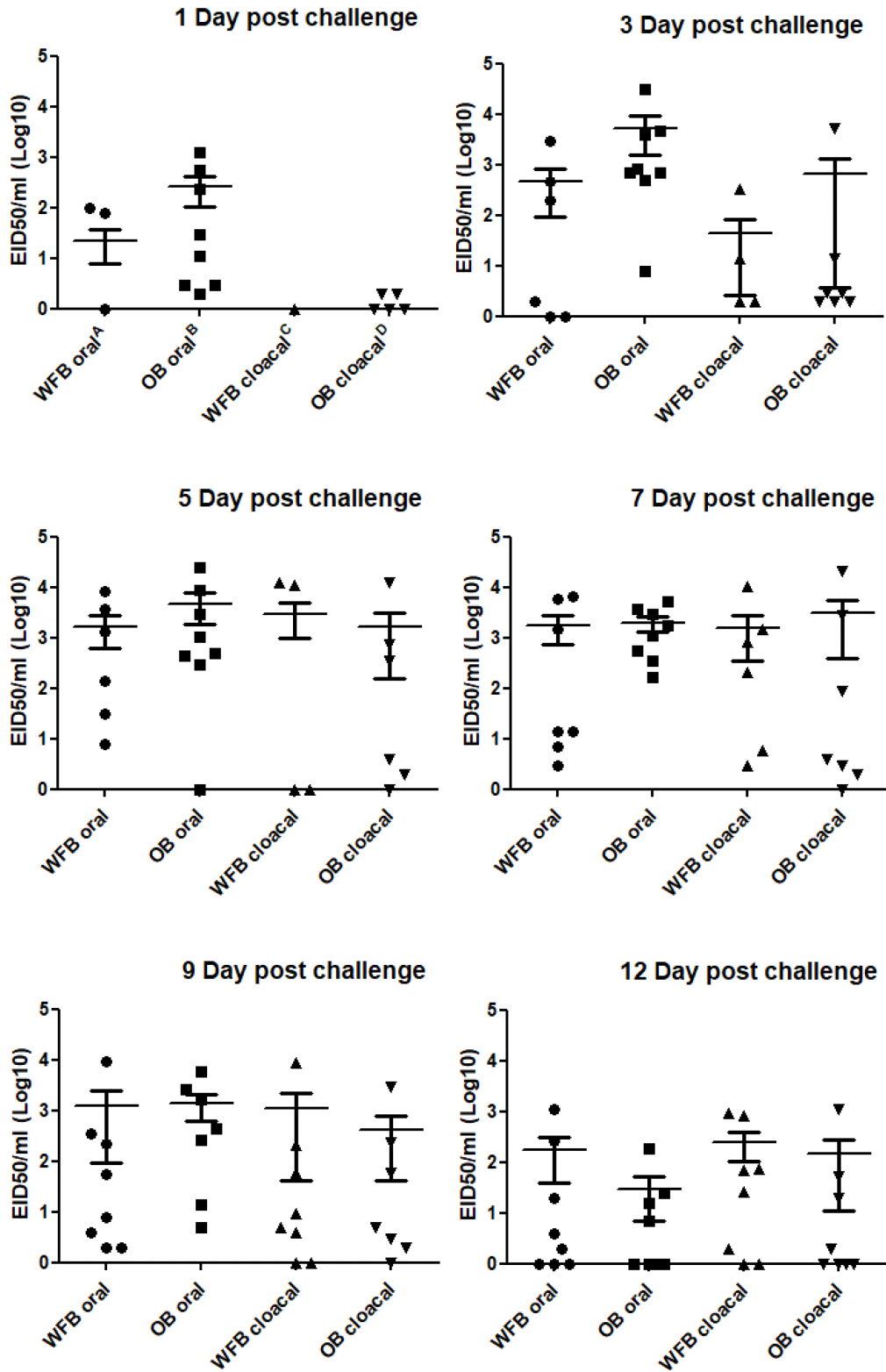


Fig. 2. Virus titers challenged with H9N2 by day. WFB oral, welfare broiler oral sample; OB oral, ordinary broiler oral sample; WFB cloacal, welfare broiler cloacal sample; OB cloacal, ordinary broiler cloacal sample.

흡한 실정이다. 따라서 복지와 관행적인 케이지 사육을 채택한 각각의 사육형태별 마이코플라즈마 발병율과 조류인플루엔자 방어능에 대한 차이를 본 실험을 통해 규명하고자 한다.

실험 결과, 현재 밝혀진 약 20여 종의 마이코플라즈마균 중 조류에게 높은 병원성을 나타내는 마이코플라즈마 갈리셉티쿰과 마이코플라즈마 시노비에에 대한 검출을 실시하였다(Ferguson-Neol et al., 2013; Elliott et al., 2017). 먼저 산란계 시험 결과, 양측의 사육형태 모두 두 가지의 마이코플라즈마 혈청형에 대해 큰 차이를 나타내지 않았으며, 백신 프로그램에 포함되지 않은 마이코플라즈마 갈리셉티쿰에 비하여 오히려 접종하지 않은 마이코플라즈마 시노비에의 검출량이 월등히 높은 것으로 밝혀졌다. 이는 난계대 감염 및 박멸에 어려움이 있는 마이코플라즈마 시노비에가 현재 국내 산란계 농가에 만연하다는 뒷받침이 될 것으로 생각된다.

복지농장과 일반농장 사육 육계에 저병원성 조류인플루엔자 H9N2 공격접종 실험 결과, 공격접종 1일 및 3일 후 구강과 충배설강 샘플에서의 배출량 확인 결과, 평균적으로 일반농장이 복지농장 사육 육계에 비해 약 10배 정도 높은 바이러스를 배출하는 것을 알 수 있었다. 그러나 공격접종 5일 이후부터는 두 그룹간 바이러스 배출량의 차이를 거의 확인할 수 없었다. 이와 같은 시험 결과를 바탕으로 저병원성 조류인플루엔자 감염 시 복지농장 사육 육계는 일반농장 사육 육계에 비해 초기 바이러스 배출량이 적으나, 이후 비슷한 수준의 배출량을 나타낸다는 점을 확인하였다.

위의 시험결과를 토대로, 마이코플라즈마 세균의 검출에서는 두 사육형태간 큰 차이를 확인할 수 없었으며, 저병원성 인플루엔자의 배출량 역시 초기를 제외하고는 차이가 없다는 점을 도출하였다. 현재 전세계적으로 일어나고 있는 동물복지에 대한 관심에 발맞추어 국내에서도 심층적이고 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

적 요

최근 산업동물에서도 동물복지의 관심이 높아짐에 따라 복지 사육방식을 채택한 농가의 수가 늘어나고 있다. 본 연구는 복지농장과 일반농장 간의 병원체 탐색 및 조류인플루엔자 방어율의 차이를 확인하고자 하였다. 복지농장 사육 육계와 산란계, 일반농장 사육 육계와 산란계에서 얻어진 샘플들을 이용하여 비교한 결과, 마이코플라즈마 검출에서는 사육형태간 차이를 확인할 수 없었으며, 저병원성 인플루엔자의 배출량도 초기를 제외하고는 차이를 확인할 수 없

었다. 앞으로 국내에서 사육방식의 차이에 따른 지속적인 연구가 필요하다.

사 사

본 결과물은 농림축산검역본부 용역과제(Z-1543071-2018-18-01)와 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 가축질병대응기술개발사업의 지원을(318041-3) 받아 연구되었음.

ORCID

Deok-hwan Kim <https://orcid.org/0000-0003-0208-8811>
 Kyu-jik Kim <https://orcid.org/0000-0002-6381-7793>
 Chang-seon Song <https://orcid.org/0000-0002-4158-6402>

REFERENCES

- Sullivan R, Amos N, van de Weerd HA 2017 Corporate reporting on farm animal welfare: an evaluation of global food companies' discourse and disclosures on farm animal welfare. *Animals (Basel)* 7(3):pii:E17.
- Choi SW, Ha JS, Kim BY, Lee DH, Park JK, Youn HN, Hong YH, Lee SB, Lee JB, Park SY, Choi IS, Song CS 2014 Prevalence and characterization of *Salmonella* species in entire steps of a single integrated broiler supply chain in Korea. *Poult Sci* 93(5):1251-1257.
- Kim MC, Kwon YK, Joh SJ, Kwon JH, Kim JH, Kim SJ 2007 Development of one-step reverse transcriptase-polymerase chain reaction to detect duck hepatitis virus type 1. *Avian Dis* 51(2):540-545.
- Wetzel AN, Lefevre KM, Raviv Z 2010 Revised *Mycoplasma synoviae* vlhA PCRs. *Avian Dis* 54(4):1292-1297.
- García M1, Ikuta N, Levisohn S, Kleven SH 2005 Evaluation and comparison of various PCR methods for detection of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. *Avian Dis* 49(1):125-132.
- Park JK, Lee DH, Cho CH, Yuk SS, To EO, Kwon JH, Noh JY, Kim BY, Choi SW, Shim BS, Song MK, Lee JB, Park SY, Choi IS, Song CS 2014 Supplementation of oil-based inactivated H9N2 vaccine with M2e antigen enhances

resistance against heterologous H9N2 avian influenza virus infection. *Vet Microbiol* 169(3-4):211-217.

Spackman E, Senne DA, Bulaga LL, Trock S, Suarez DL 2003 Development of multiplex real-time RT-PCR as a diagnostic tool for avian influenza. *Avian Dis* 47(3 Suppl): 1087-1090.

Elliott KEC, Branton SL, Evans JD, Gerard PD, Peebles ED 2017 Layer chicken embryo survival to hatch when administered an *in ovo* vaccination of strain F *Mycoplasma*

gallisepticum and locations of bacteria prevalence in the newly hatched chick. *Poult Sci* 96(11):3879-3884.

Ferguson-Noel N, Noormohammadi AH, Swayne DE, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Suarez DL, Nair VL 2013 *Mycoplasma synoviae* infection. Pages 900-906 In: *Diseases of Poultry*. Wiley, Ames.

Received Oct. 25, 2019, Revised Nov. 24, 2019, Accepted Nov. 25, 2019