



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

친환경 육계에서 괴사성 장염  
발생과 천연물 제제의 항균효과

濟州大學校 大學院

獸醫學科

崔德雨

2011年 8月

친환경 육계에서 괴사성 장염  
발생과 천연물 제제의 항균효과

指導教授 李慶甲

崔德雨

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함

2011 年 8 月

崔德雨의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 \_\_\_\_\_ (인)

委 員 \_\_\_\_\_ (인)

委 員 \_\_\_\_\_ (인)

濟州大學校 大學院

2011 年 8 月

초 록

# 친환경 육계에서 괴사성 장염 발생과 천연물 제제의 항균효과

최 덕 우

( 지도 교수 : 이 경 갑 )

제주대학교 대학원

수의학과

국내에서 친환경으로 육계를 사육하는 농장에서 괴사성 장염의 발생 상황을 파악하고, 분리된 *Clostridium (C.) perfringens*에 대하여 천연물 제제의 항균 능력을 검사하였다.

21개 친환경 육계 농장에서 106수를 부검하여 육안적 장 병변을 관독한 결과 혈액을 함유한 3등급과 4등급의 괴사성 장염이 55수(51.9%)에서 관찰되었다. 장 내용물에 대하여 중합효소연쇄반응(PCR)을 실시하여 106수 중 53수(50%)에서 alpha-toxin 양성 반응을 나타내어 육계에서 괴사성 장염의 주된 원인은 *C. perfringens* type A 임을 알 수 있었다. 배지 상에서 *C. perfringens* 균체에 대하여 피토약신, 그린포스 및 오레고팜이 농도 의존성 항균효과를 나타내었으며, 오레가노 오일과 프로폴리스를 함유한 피토약신의 효과가 가장 우수하였다.

이상의 실험에서 피토약신, 그린포스와 오레고팜은 육계에서 괴사성 장염 원

인균인 *C. perfringes*에 대한 항균효과를 나타냈으며, 임상적으로 육계에서 괴사성 장염 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다.

---

중심어 : *Clostridium perfringens*, 괴사성 장염, 천연물제제, 항균효과, 육계

## 목 차

I. 서론	1
II. 재료 및 방법	3
III. 결과	8
IV. 고찰	12
V. 결론	15
VI. 참고문헌	16
영문초록	21

## I. 서 론

*Clostridium (C.) perfringens*는 그람 양성 간균으로서 토양과 동물 및 사람의 분변이나 장 내용물에서 발견된다. 괴사성 장염(Necrotic enteritis: NE)은 닭의 장관 내에서 *C. perfringens*가 과도하게 증식하여 발생하는 질병으로, 육계에서는 주로 *C. perfringens* type A와 type C가 주요 원인체로 알려져 있다[1, 22, 31]. 괴사성 장염은 거의 전 세계 대부분의 지역 육계에서 보고되고 있으며, 육계농가와 부화장 등을 오염시키는 주요 질병으로 간주되고 있다[16].

닭에서 *C. perfringens* 감염은 급성 또는 아급성 형태로 나타나고[26], 주로 소장 점막에 심한 병변을 형성하는 특징을 나타낸다[18]. 닭에서 괴사성 장염은 폐사율이 높고, 사료 섭취량 감소와 사료 요구율을 상승시킨다[19]. *C. perfringens* 균체는 닭을 비롯한 동물의 장관 내에 정상 세균총으로 상재하여 있기 때문에 닭에서 괴사성 장염의 진행은 섭취하는 식이성분, 면역저하, 장관 내 기계적 자극, 정상 세균총의 급변 등과 같은 여러 가지 요인들이 관여하여 복잡한 양상을 나타낸다[6]. 육계에서 괴사성 장염은 2~5주령에서도 발생되지만[7], 일반적으로 17~18일령에 다발하는 경향을 보인다[25]. 닭에서 괴사성 장염은 *C. perfringens* type A가 만들어내는 독소(alpha-toxin)에 의해 장점막이 괴사되는 특징을 보인다[1].

괴사성 장염은 현대 육계산업에서 경제적으로 매우 중요한 세균성 질환이다 [30]. 전 세계적으로 질병 예방 차원에서 사료 내에 첨가되는 항생제로 인하여 매년 약 20억 달러 이상의 금액이 소요되고 있는 실정이다[17]. 사료 내 항생제의 첨가가 괴사성 장염을 제어할 수 있는 효과적인 방법이기도 하지만[24], 식육을 섭취한 사람에서 항생제 내성문제가 발생할 수 있기 때문에 유럽연합(EU)과 캐나다에서는 정책적으로 동물사료에서 항생제의 사용을 억제하고 있다. 이로 인하여 일부 육계 농장에서는 괴사성 장염의 발생 비율이 증가되기도 하였다 [20]. 최근 한국에서도 친환경 축산 정책에 따른 무항생제 사료 공급으로 인하

여 일부 육계 농장에서 괴사성 장염의 발생이 증가하여 큰 경제적 손실을 주고 있으며, 세균에 오염된 가금육을 섭취한 사람에서 식중독을 유발하는 등 식품의 안전 문제와도 밀접하게 연관되어 있다[31].

최근에 김 등[11]은 천연식물인 삼백초와 홍화 등이 장 내 세균에 대하여 항균효과가 있다고 보고하였다. 황금(*Scutellaria baicalensis*)은 꿀풀과 다년생 초본으로 한국, 중국 및 유럽 등지에서 약용으로 이용해 왔으며, 특징적인 노란색의 뿌리를 가지고 있어 황금으로 명명되었다[28]. 황금의 주요성분인 bicaein과 wogonin의 주요 약리작용은 항균, 항바이러스, 항암 및 산화방지 효과를 나타낸다고 하였다[3].

황련(*Coptidis Rhizoma*)은 미나리아재비과에 속하는 다년생 초목으로 주요성분은 alkaloid berberine으로 알려져 있다. 민간에서는 설사나 위열로 인한 구토에 유효하며 해열과 해독작용이 뛰어난 것으로 알려져 있다. 강력한 항균 작용을 하는 berberine은 항염증, 지혈, 혈압강하 및 항암작용을 하며, 중추신경억제, 신장염 등의 치료에 효과를 나타낸다고 하였다[15].

천연식물인 오레가노에서 추출한 오일에 함유된 carvacrol과 thymol은 식물성 페놀이며, 몇 종류의 꿀풀과 허브에 함유되어 있다. 오레가노 추출물은 항바이러스, 항균, 방부작용을 하며 혈액순환을 촉진하고 혈압을 상승시키는 작용을 가지고 있다[23].

유기산은 식품에서 병원성 세균을 억제하며, 약리 작용으로는 위장관 내 pH를 감소시켜 소화기에서 존재하는 병원성 미생물을 감소시키며, 방부작용이 있는 것으로 알려져 있다[29].

본 연구에서는 육계사육에 문제시 되고 있는 괴사성 장염의 방제대책을 마련하기 위하여, 국내 육계에서 발생하는 괴사성 장염의 원인체인 *C. perfringens*의 type을 분석하고, 항균, 항염 및 방부 등 작용이 알려진 천연약제 4종을 선정하여 분리된 상기 균체에 대한 항균 감수성 검사를 실시하였다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

#### 1) 대상동물

전남 및 전북지역에서 친환경으로 사육되고 있는 21개 육계 농장에서 농장별로 각 5수씩 임상적으로 괴사성 장염이 의심되는 육계 106수(14-35일령)를 실험에 이용하였다.

#### 2) 괴사성 장염 병변 평가

폐사축을 부검하고 공장과 회장에 나타난 육안적 괴사병변을 다음 기준에 의해서 분류하였다(Table 1). 병변이 관찰되지 않을 경우 0등급, 얇고 취약한 회색 빛 장벽은 1등급, 소량의 가스와 국소괴사를 보이는 얇은 장벽은 2등급, 가스로 차있고 혈액이 보이며 다병소성 괴사(patch necrosis)를 보이는 얇은 장벽은 3등급, 많은 가스와 뚜렷한 출혈 및 광범위하게 괴사된 얇은 장벽은 4등급으로 분류하였다[21].

**Table 1.** The gross lesion score of necrotic enteritis in chicken

Gross lesion score of NE*	Condition of jejunum and ileum
0	No lesion
1	Thin-walled or friable, gray appearance
2	Thin-walled, focal necrosis, small amount of gas
3	Thin-walled, patch necrosis, gas filled, blood
4	Severe extensive necrosis, hemorrhage, much gas

\* NE : Necrotic enteritis

## 2. 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction: PCR)

### 1) DNA 추출

임상적으로 괴사성 장염이 의심되는 육계 106수의 소장 양측을 결찰하여 장 내용물과 함께 채취하였으며, 채취된 장 내용물을 i-genomic stool DNA extraction Mini Kit(iNtRON Biothechnology, Korea)를 사용하여 DNA 추출하고 Nanovue(General Electric Company, USA)를 이용하여 DNA 최종 농도가 100ng/ul 되도록 하였다.

### 2) PCR

*C. perfringens* 균체에서 분비되는  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$  및  $\iota$  독소에 대한 양성대조는 국립수의과학검역원으로부터 공급받아 사용하였다(KVCC-BA1100001 Type A, KVCC-BA1100002 Type B, KVCC-BA1100003 Type C, KVCC-BA1100004 Type D, KVCC-BA1100005 Type E). 각각의 독소를 검출하기 위한 primer는 유 등[32]의 방법에 준하여 주문(Bioneer Co., Korea) 합성하였다(Table 2). Maxim PCR premix kit(iNtRON Biothechnology, Korea)와 PCR thermal cycler(TAKARA BIO Inc., Japan)를 이용하여 initial heating은 95°C로 5분 동안 실시하였으며, 94°C, 55°C, 72°C에서 각각 30초씩 총 35 cycle을 실시하였고, last extension은 72°C에서 7분 동안 실시하였다

**Table 2.** Nucleotide sequences of primer sets to detect *C. perfringens* toxins

Primer	Product size(bp)	Primer (direction)	5'-3' sequence
CPA*	402	Forward	5'-GTTGATAGCGCAGGACATGTTAAG-3'
		Reverse	5'-CATGTAGTCATCTGTTCCAGCATC-3'
CPB*	236	Forward	5'-ACTATACAGACAGATCATTCAACC-3'
		Reverse	5'-TTAGGAGCAGTTAGAACTACAGAC-3'
CPE*	541	Forward	5'-ACTGCAACTACTACTCATACTGTG-3'
		Reverse	5'-CTGGTGNCTTAATAGAAAGACTCC-3'
CPI*	317	Forward	5'-GCGATGAAAAGCCTACACCACTAC-3'
		Reverse	5'-GGTATATCCTCCACGCATATAGTC-3'

\* CPA : *Clostridium perfringens* alpha-toxin

\* CPB : *Clostridium perfringens* beta-toxin

\* CPE : *Clostridium perfringens* epsilon-toxin

\* CPI : *Clostridium perfringens* iota-toxin

### 3. 균분리

21개 농장 106개 시료를 PCR한 결과 alpha-toxin 양성으로 확진된 농장에서 각 농장별로 한 개씩 장 내용물 2 ml를 채취하여 원심분리한 후 상층액 1 ml를 cooked meat medium(Becton Dickinson Diagnostic, USA)을 이용하여 기저부에 접종하여 37℃에서 18~24 시간 혐기배양하고, 증균된 균액 1 ml를 *C. perfringens* 선택배지인 SFP agar base(Becton Dickinson Diagnostic, USA)에 도말하여 37℃에서 18~24시간 혐기 배양 후 증식된 집락을 그람염색 후 광학현미경으로 검경하여 분리된 세균의 형태와 염색성을 확인하였다.

### 4. 감수성 검사

#### 1) 천연물 약제

항균 감수성 검사를 위한 천연물 약제로는 유기산이 65% 이상 함유되어 있는 그린포스((주)피엔피에드텍, 성분등록번호: 제 40-2-70-70호, 한국), 황금과 황련이 50% 이상 함유되어 있는 바이실린(효진팜텍, 성분등록번호: 제 EEGO70002호, 한국), 오레가노 오일이 60% 이상 함유되어있는 오레고팜(Farmavet ilac sanayi ve ticaret a.s., 성분등록번호: 제 EEGMO0006호, 터키), 오레가노 오일과 프로폴리스가 60% 이상 함유되어 있는 피토약신(피엔피에드텍, 성분등록번호: 제40-2-79-61호, 한국)을 사용하였다.

#### 2) 감수성 검사

분리된 *C. perfringens*를 Wilkins-chalgren broth((주)기산바이오텍, 한국)에

배양 후 최종농도를  $1 \times 10^6$  CFU/ml로 조정된 세균 희석액 100  $\mu$ l와 그린포스, 바이실린, 오레고팜 및 피토약신의 10배, 100배, 1,000배 희석액 900  $\mu$ l를 각각 멸균된 튜브에 혼합하였다. 혼합한 액을 90x15mm 크기의 페트리디쉬로 만들어진 SFP agar에 분주하여 24시간 혐기 배양 후 세균 집락의 존재 여부를 육안으로 확인하였다. 천연물의 항균 감수성 검사 결과는 배지 상에 세균이 자라지 않은 경우 4, 단일 콜로니를 형성한 경우는 3, 집락이 전체 배지 면적의 50% 미만일 경우 2, 배지 면적의 50~100%에 걸쳐 세균이 분포하는 경우 1로 세분하여 수치화 하였다.

#### 5. 통계처리

천연물 약제의 항균 능력을 비교 분석하기 위하여 IBM SPSS Statistics 19 프로그램을 사용하였으며, 각 약제별로 희석배율에 따른 평균과 표준편차를 계산하였다. 또한 ANOVA 분석을 통하여 통계적 유의성을 검증하였다( $p < 0.01$ ).

### III. 결 과

#### 1. 괴사성 장염 병변 평가

친환경적으로 사육 중인 육계 106수를 부검하여, 괴사성 장염의 육안 병변 평가 결과, 총 106수 중 혈액성 삼출물을 동반한 3등급과 4등급이 55수(51.9%)로 나타났다(Table 3).

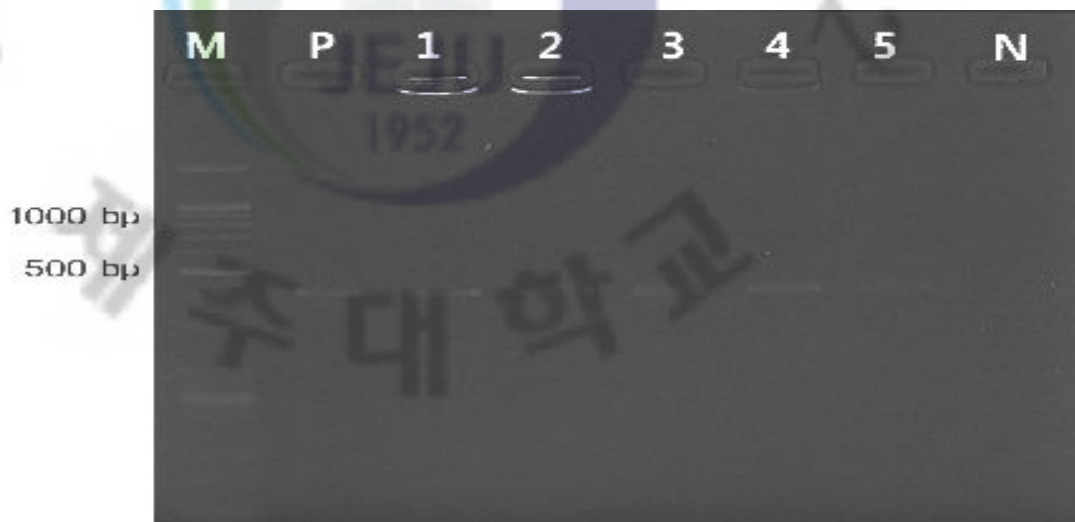
**Table 3.** Results for the gross lesion score of necrotic enteritis in chickens.

Gross lesion score of NE*	Number of chickens(%)
0	16 (15.1%)
1	15 (14.1%)
2	20 (18.9%)
3	32 (30.2%)
4	23 (21.7%)

\* NE : Necrotic enteritis

## 2. PCR 결과

중합효소연쇄반응을 이용하여 총 106수 닭의 장 내용물을 검사한 결과 53수 (50%) 모두에서 *C. perfringens* alpha-toxin 만 양성을 나타내었다. 농장별로는 21개 농장 중 20개 농장(95%)에서 *C. perfringens* alpha-toxin 양성이 확인되었다.



**Figure 1.** Detection of *C. perfringens* alpha-toxin genes amplified by PCR.  
Lane M : DNA size Marker(100bp ladder) ; Lane P : positive control ; Lane 1~5 : field sample ; Lane N : negative control.



### 3. 균분리

선택배지인 SFP agar에 도말하여 37℃에서 18~24시간 혐기 배양 후 증식된 집락을 그람 염색한 결과 그람 양성균의 간균이 확인되었다(Figure 2).



**Figure 2.** Gram positive rod-shape *C. perfringens* (Gram staining,  $\times 1,000$ ).



#### 4. 감수성 검사

PCR 검사 결과 *C. perfringens* alpha-toxin 양성으로 확인된 20개 농장 시료 중 농장별로 한 개씩 배양한 세균액과 천연물 약제 희석액을 혼합하여 SFP agar 에 배양 후 각 약제의 희석 배수별 항균 감수성 검사 결과는 표 4와 같다.

피토약신(D)의 경우 희석배율 10배에서는 검사한 20개 agar 모두에서 세균이 증식되지 않아 매우 강한 항균력을 나타내었으나, 100배 및 1,000배 희석배율에서는 단독 콜로니를 형성하였다. 그린포스(A)와 오레고팜(C)의 경우 희석배율이 낮아질수록 항균력도 떨어지는 경향을 보였다. 그러나 바이실린은 희석배율에 상관없이 다른 약제에 비하여 항균 감수성이 매우 낮은 것으로 확인되었다. 종합적으로 피토약신이 다른 약제에 비하여 각 희석배율 별로 유의성이 있는 항균력이 있음을 알 수 있었다( $P < 0.01$ ).

**Table 4.** Antibacterial effects of four natural extracts (NE) against *C. perfringens* in agar plate

Dilution rate of NE	NE	Inhibition score for bacterial growth (Mean±SD)
1×10	A	3.80±0.410 <sup>a</sup>
	B	2.40±0.681 <sup>a</sup>
	C	3.70±0.470 <sup>a</sup>
	D	4.00±0.000 <sup>A</sup>
1×10 <sup>2</sup>	A	3.25±0.639 <sup>b</sup>
	B	2.15±0.745 <sup>b</sup>
	C	2.80±0.410 <sup>b</sup>
	D	3.75±0.444 <sup>B</sup>
1×10 <sup>3</sup>	A	2.30±0.801 <sup>c</sup>
	B	1.30±0.470 <sup>c</sup>
	C	2.35±0.587 <sup>c</sup>
	D	3.40±0.598 <sup>C</sup>

A:a, B:b, C:c : Significantlt differential pairs with same column( $p < 0.01$ )

A : 그린포스 ; B : 바이실린 ; C : 오레고팜 ; D : 피토약신

#### IV. 고 찰

*C. perfringens*는 포자를 형성하는 Gram (+)균으로 막대기 모양을 하고 있으며, 혐기성 세균으로 자연환경에서 널리 존재한다[21]. *C. perfringens*는 균체가 생성하는 독소에 따라 세분되는데  $\alpha$  독소를 생성하는 type A는 가금에서 괴사성 장염을 일으키며, 사람에서 식중독, 소, 양, 말 등에서 장독혈증을 유발하고,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$  독소를 생성하는 type B는 양, 염소 등에서 장독혈증을 유발한다.  $\alpha$ ,  $\beta$  독소를 생성하는 type C는 양의 장독혈증과 가금에서 괴사성 장염에 관여하며,  $\alpha$ ,  $\epsilon$  독소를 생성하는 type D는 양에서 장독혈증을 일으키고,  $\alpha$ ,  $\iota$  독소를 생성하는 type E는 송아지, 양, 토끼의 장독혈증을 유발한다[8].

국내에서 발생하는 가금의 질병으로는 세균성 질병이 47.2%, 바이러스성 질병이 16.5%로 나타나 상대적으로 세균성 질병이 많이 발생하는 것으로 최근 보고되었다[13]. 실험적으로 *C. perfringens*를 닭에 투여하였을 경우 육안적으로 괴사성 장염을 3시간 만에 관찰할 수 있으며[1], 약 17~20일령의 육계에서 90% 이상의 매우 높은 폐사율을 보고한 바 있다[27]. 이와 같은 괴사성 장염의 빠른 질병 경과와 높은 폐사율로 인하여 국내외 육계 농가에 많은 경제적 손실을 주고 있는 실정이다[17]. 정[10]의 연구에 따르면 닭에서 괴사성 장염의 유행율이 81,000수 중 250수(0.3%)로 조사되었고, 250수 환축에서 *C. perfringens* type A의 분리율은 36수(14.4%)로 보고하였고, 김 등[12]은 괴사성 장염으로 진단된 농장의 닭 169수를 대상으로 *C. perfringens*를 분리한 결과 30수(17.8%)의 분리율을 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 육계 106수를 대상으로 PCR 검사를 수행한 결과 53수(50%)에서 *C. perfringens* type A가 검출되어 선인들의 보고에 비하여 월등히 높은 양성율을 나타내었다. 이와 같은 결과는 검사 방법이 다르기 때문에 나타난 현상일 수도 있으나, 이전 연구의 경우 항생물질의 사용이 자유롭던 1990년대 닭을 대상으로 실험을 한 반면 본 연구에서는 항생제의 사용을 억제하고 있는 친환경 사육 농장의 닭을 대상으로 실험하였기 때문에 나타난 현상일 가능성이 높은 것으로 사료된다. 김 등[12]은 괴사성 장

염에 이환된 닭에서 30균주의 *C. perfringens*을 분리하였던바 장기별로는 소장(70%) 보다 대장(100%)에서 분리율이 높게 나타났으며, 분리된 30개의 *C. perfringens* 균체 중 86.6%(26균주)가 type A임을 보고하였다. 이는 본 실험과 대체로 유사한 양상을 나타내는 사항으로 90년대 이후부터 현재까지 국내에서는 *C. perfringens* type C보다는 *C. perfringens* type A가 닭의 괴사성 장염에 주로 관여하고 있음을 시사하고 있다.

일반적으로 가금류의 사료는 다른 동물 사료에 비하여 높은 단백질 성분과 함께 밀, 어분 등이 다량 포함되어 있어 세균이 증식하기 좋은 환경을 제공하고 있다. 최근 친환경 가축 사육이 선호되고 있는 상황에서 육계에 무항생제 사료를 공급할 경우 괴사성 장염은 생후 3주 이내 어린 닭에서 발생빈도가 높고[5], 치료 또한 어렵기 때문에 폐사율도 높은 상황이다. 본 연구에서 괴사성 장염의 육안적 병변은 3등급에서 가장 많은 개체가 확인되었으며, 3등급 이상의 개체가 많은 농장일수록 폐사율이 높아 질병의 예후가 좋지 않았다. 과거에는 닭 사육 농장에서 괴사성 장염 발생 시 수의사 처방에 따른 선택적 항생제 투여가 용이하였으나, 친환경 사육 농장의 경우 항생물질을 대체할 치료 약제의 요구가 절실한 상황이다.

최근 국내외적으로 한약재와 같은 천연식물로부터 생리활성 또는 성장 개선 물질 및 항균 물질 등을 개발하기 위한 연구가 폭 넓게 진행되고 있는 실정이다. 국내에서 최와 임[4]은 오레가노의 에탄올 추출물을 농도별로 첨가하여 총 10종의 식중독 세균에 적용하여 조사한 결과 대부분의 세균에 대하여 농도 의존적으로 항균효과가 있음을 보고하였다. 특히 *Salmonella typhimurium*과 *Listeria monocytogens*에 대해서는 각각 60시간 및 36시간까지 생육이 억제됨을 관찰하기도 하였다. 본 연구에서도 오레가노 추출물을 함유한 오레고팜과 피토악신을 *C. perfringens* type A 균체에 적용한 결과 두 천연물 약제 모두 농도 의존성의 항균 효과가 있음이 확인되었다. 특히 피토악신의 경우 다른 천연물에 비하여 유의성이 높은 항균 작용이 있음이 입증되었다.

국의 실험에 따르면 괴사성 장염이 있는 육계에 bismuth citrate를 처치한 경우 농도가 높아짐에 따라 무처치 대조군에 비하여 장의 괴사 병변이 월등히 감소하였으나, bismuth citrate와 유기산을 같이 적용한 경우 유의성 있는 차이를 보이지는 않았다[29]. 그러나 본 연구에서는 유기산을 함유한 그린포스를 *C. perfringens*에 적용하였을 때 농도 의존성의 항균 능력이 있음을 확인하였다. 국내에서 권 등[14]은 황금 추출물을 사료에 첨가 급여 시 대조군에 비하여 증체량이 유의성 있게 증가하고 Newcastle disease virus 및 Infectious bronchitis virus 백신 접종에 따른 체액성 면역반응의 증가를 확인하였으며, 황금 추출물 0.3% 이상 사료 첨가 시 대장균류의 감소 및 유익균의 증가를 보고하였다[9]. 황련의 메탄올 추출물을 이용하여 식중독 유발 세균에 대한 항균효과를 조사한 결과 특히 포도상 구균 및 대장균의 생육을 억제 또는 지연시킬 수 있음이 보고되었다[2]. 그러나 본 연구에서는 황금 및 황련이 함유된 바이실린의 경우 다른 천연물에 비하여 *C. perfringens* 억제능이 뚜렷하게 나타나지 않았다.

이상의 실험 결과 국내 친환경 육계 농장에서 괴사성 장염이 비교적 많이 발생하고 있으며, 대부분 *C. perfringens* type A의 감염에 의해 발생함이 확인되었다. 또한 비록 실험실적 검사라 할지라도 피토약신, 그린포스 및 오레고팜과 같은 천연물질이 *C. perfringens* 균체에 대해 우수한 항균효과가 있음이 입증되었다. 따라서 추 후 야외 적용 시험을 보강하여 그 효과가 입증된다면, 천연물 제제가 친환경 가축 사육 시 항생물질을 대체할 수 있는 치료제 또는 예방 약제로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

국내에서 친환경 육계를 사육하는 농장을 대상으로 피사성 장염의 발생 상황을 파악하고, 분리된 *C. perfringens*에 대하여 천연물약제의 항균 능력을 검사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 검사한 육계 106수 중 혈액 삼출물을 함유한 3등급과 4등급의 피사성 장염이 55수(51.9%)에서 관찰되었다.

2. 총 106수의 장내용물에 대하여 PCR 검사 결과 *C. perfringens* type A의 양성율은 50%로 나타났다.

3. 농장별로는 21개 육계 농장 중 20개 농장(95%)에서 *C. perfringens* 감염이 확인되었다.

4. 배지 상에서 *C. perfringens* 균체에 대한 피토악신, 그린포스 및 오레고팜이 농도 의존성 항균효과를 나타내었으며, 전체 희석배율에서 피토악신의 효과가 가장 우수하였다.

이상의 실험 결과에서 피토악신, 그린포스 및 오레고팜과 같은 천연물 제제가 피사성 장염의 원인균인 *C. perfringens*에 대하여 항균효과를 나타내었다.



## VI. 참고 문헌

1. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens. *Avian Dis* 1977; 21: 256-263.
2. Bae JH. Antimicrobial Effect of *Plagiorhegama dubium* Extracts on Food-borne Pathogen. *Korean J Food Nutr* 2005; 18: 81-87.
3. Burnett BP, Jia Q, Zhao Y, Levy RM. A medicinal extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu* acts as a dual inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase to reduce inflammation. *J Med Food* 2007; 10: 442-451.
4. Choi MY, Rhim TJ. Antimicrobial effect of oregano (*Origanum majorana* L.) extract on food-borne pathogens. *Korean J Plant Res* 2008; 21: 352-356.
5. Cooper KK, Songer JG. Necrotic enteritis in chickens: a paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe* 2009; 15: 55-60.
6. Elwinger K, Schneitz C, Berndtson E, Fossum O, Teglöf B, Engstöm B. Factors affecting the incidence of necrotic enteritis, caecal carriage of *Clostridium perfringens* and bird performance in broiler chicks. *Acta Vet Scand* 1992; 33: 369-378.

7. Ficken MD, Wages. DP. Necrotic enteritis In: Disease of poultry, 10th ed. Iowa: Ames. 1997: 261–264.
8. Hatheway CL. Toxigenic clostridia. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 66–98.
9. Jamroz D, Wiliczkieicz A, Wertelecki T, Orda J, Skorupinska J. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. Br Poult Sci 2005; 46: 485–493.
10. Jung HK. Detection for toxin types of Clostridium perfringens isolates from animals. Kor J Env Hlth Soc 1998; 24: 22–25.
11. Kim GS. Antimicrobial activity and preventive effect of oriental herbal medicine feed additives for camphylobacter jejuni in korean native chickens. Korean J Vet Clin 2006; 23:41–49
12. Kim HJ, Kang MI, Jung UI. Rapid identification and toxin type analysis of Clostridium perfringens isolated from healthy or diseased stocks with necrotic enteritis in chicken. Korean J Vet Res 1997; 37: 137–146.
13. Kim KS. Present and future of domestic and foreign poultry industry. Proceeding of 2005 Korean society of poultry science. 2005: 85–90.
14. Kwon HS, Kim JY, Kim JS, Lee BK, Lee SY, Lee WS, Ahn BK, Kim EJ, Kang CW. Effects of dietary supplementation of domestic skullcap (Scutellaria baicalensis) extracts on performance, immune response and intestinal microflora in broiler chicken. Korean J Poult Sci 2008; 35: 351–359.

15. Lee DU, Kang YJ, Park MK, Lee YS, Seo HG, Kim TS, Kim CH, Chang KC. Effects of 13-alkyl-substituted berberine alkaloids on the expression of COX-II, TNF-alpha, iNOS, and IL-12 production in LPS-stimulated macrophages. *Life Sci* 2003; 73: 1401-1412.
16. Lee SB, Choi SH. Toxin gene typing, DNA fingerprinting, and antibiogram of *Clostridium perfringens* isolated from livestock products. *Korean J Food Sci Ani Resour* 2006; 26: 394-401.
17. Lepp D, Roxas B, Parreira VR, Marri PR, Rosey EL, Gong J, Songer JG, Vedantam G, Prescott JF. Identification of novel pathogenicity loci in *Clostridium perfringens* strains that cause avian necrotic enteritis. *PLoS One* 2010; 5: 10795.
18. Long JR, Pettit JR, Barnum DA. Necrotic enteritis in broiler chickens. II. Pathology and proposed pathogenesis. *Can J Comp Med* 1974; 38: 467-474.
19. Lovland A, Kaldhusdal M. Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis. *Avian Pathol* 2001; 30: 73-81.
20. McDevitt RM, Brooker JD, Acamovic T, Sparks NHC. Necrotic enteritis: A continuing challenge for the poultry industry. *World's Poult Sci* 2006; J 62: 221-247.
21. McReynolds J, Waneck C, Byrd J, Genovese K, Duke S, Nisbet D. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytogenetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. *Poult Sci* 2009; 88: 2075-2080.



22. Olkowski AA, Wojnarowicz C, Chirino-Trejo M, Laarveld B, Sawicki G. Sub-clinical necrotic enteritis in broiler chickens: Novel etiological consideration based on ultra-structural and molecular changes in the intestinal tissue. *Res Vet Sci* 2008; 85: 543-553.
23. Oral N, Vatansever L, Sezer C, Aydin B, Guven A, Gulmez M, Baser KHC, Kurkcuoglu M. Effect of absorbent pads oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees Celsius. *Poult Sci* 2009; 88: 1459-1465.
24. Prescott JF, Sivendra R, Barnum DA. The use of bacitracin in the prevention and treatment of experimentally-induced necrotic enteritis in the chicken. *Can Vet J* 1978; 19: 181-183.
25. Ross tech. Necrotic enteritis and associated conditions in broiler chickens. *World poultry* 1999; 15: 44-47.
26. Shane SM, Gyimah JE, Harrington KS, Snider TG 3rd. Etiology and pathogenesis of necrotic enteritis. *Vet Res Commun* 1985; 9: 269-287.
27. Si W, Gong J, Han Y, Yu H, Brennan J, Zhou H, Chen S. Quantification of cell proliferation and alpha-toxin gene expression of *Clostridium perfringens* in the development of necrotic enteritis in broiler chickens. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 7110-7113.
28. Song WZ, Studies on the resource of the chinese herb *Scutellaria baicalensis georgi*. *Acta Pharm Sin* 1981; 16: 139-145.

29. Stringfellow K, McReynolds J, Lee J, Byrd J, Nisbet D, Farnell M. Effect of bismuth citrate, lactose, and organic acid on necrotic enteritis in broilers. *Poult Sci* 2009; 88 :2280–2284.
30. Van der sluis W. Clostridial enteritis is an often underestimated problem. *World Poultry* 2000; 16: 42–43.
31. Van Immerseel F, De Buck J, Pasmans F, Huyghebaert G, Haesebrouck F, Ducatelle R. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathol* 2004; 33: 537–549.
32. Yoo HS, Lee SU, Park KY, Park YH. Molecular typing and epidemiological survey of prevalence of *Clostridium perfringens* types by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 228–232.

# Prevalence of Necrotic Enteritis and Antibacterial Effect of Natural Extracts in Non-antibiotic Treated Broilers

Duck-Woo Choi

(Supervised by professor Kyoung-Kap Lee)

Department of Veterinary Medicine, Graduate School,  
Jeju National University, Jeju, Korea

## Abstract

This study was performed to investigate the prevalence of necrotic enteritis (NE) in eco-friendly chicken farms and the antibacterial effects of natural extracts against *Clostridium (C.) perfringens*, the causative agent of NE.

A total of 106 intestinal samples of broilers reared with non-antibiotic feed from 21 chicken farms were collected. Grossly NE with hemorrhagic exudates ranged from grade 3 to grade 4 was detected in 55 (51.9%) samples. Based on the polymerase chain reaction, *C. perfringens* type A with alpha-toxin was detected in 53(50%) intestinal contents. Phytoaccin, Green-porce and oregofarm showed antibacterial activities against *C. perfringens* with the concentration dependent manner on agar plate. Phytoaccin contained oregano essential oil had very strong antimicrobial effect against this bacteria. These results suggest that oregano essential oil could be use to control NE in chicken farms as antibiotics substitutes.

---

Key words : Antibacterial effect, *Clostridium perfringens*, Natural extracts, Necrotic enteritis, Broilers