

육계의 사육 일령별 *Clostridium perfringens* 발생 분석

최창용^{1,†} · 박인재² · 강 민² · 장형관² · 허태영¹ · 정영훈¹ · 조용일¹ · 도윤정¹ · 류재규¹ · 나재천¹ · 황보 중¹

¹농촌진흥청 국립축산과학원, ²전북대학교 수의과대학 · 인수공통전염병연구소

Occurrence of *Clostridium perfringens* according to Raising Periods in Broilers

Changyong Choe^{1,†}, In-Jae Park², Min Kang², Hyung-Kwan Jang², Tai-Young Hur¹, Young-Hoon Jung¹, Yong-Il Cho¹, Yoon-Jung Do¹, Jae-Gyu Yoo¹, Jae-Cheon Na¹ and Jong Hwangbo¹

¹National Institute of Animal Science, RDA, Seonghwan 331-801, Korea,

²Department of Infectious Diseases & Avian Diseases, College of Veterinary Medicine and Korea Zoonosis Research Institute, Jeonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

ABSTRACT The objective of this study was to investigate occurrence patterns of *Clostridium perfringens* on different raising periods in broilers. In different raising periods, we investigated the change in the gross lesion and microscopic histological findings of the mucose of the small intestine, colony forming unit (CFU) and the types *C. perfringens* with PCR assay. According to the gross lesions on the mucose of small intestine with 10-days-old broilers, the non-antibiotic group showed a higher value (0.6) than the antibiotic group (0.0). Whereas 20-days-old broilers with, the antibiotic treatment had a slightly lower value (1.0) than the non-antibiotic group (1.3). In the histological examination on the villi of the small intestine, there was no damage of the villi of the small intestine with 1-day-old broilers in both groups; however, the non-antibiotic group showed a higher value (0.4) than the antibiotic group (0.0) with 10-days-old broilers. In the non-antibiotic group, the CFU of *C. perfringens* of the fecal samples from the small intestine increased from 10 days of raising broilers and rapidly increase after 20 and 30 days of raising broilers. There was no detection of *C. perfringens* types with PCR assay in 1-day-old broilers, but we found *C. perfringens* type A in 10-, 20- and 30-days-old broilers. Although it is possible to raise healthy broilers by using antibiotics, the addition of antibiotics to concentrate feed is prohibited for public health. The results of this study would contribute to proper feeding management through the careful use of antibiotics.

(Key words : necrotic enteritis, *Clostridium perfringens*, broiler, antibiotics)

서 론

1950년대 이래로 가금 산업은 전 세계적으로 괄목할만한 성장을 이루어 왔으며, 이러한 성장이 뒷받침되도록 다양한 기반 기술도 발전되어 왔다. 2000년 기준으로 전 세계에서 340억 마리의 육계, 40억 마리의 산란계, 8억 마리의 오리, 6억 마리의 칠면조를 사육하고 있다(Cooper 등, 2013).

클로스트리듐(*Clostridium*) 속(genus)은 Gram 양성균의 간균으로 아포를 형성하는 혐기성 세균으로서, 사람, 가축, 야생 동물에서 장관에 질병을 유발하는 원인균으로 알려져 있다(Cooper 등, 2013). *C. perfringens*는 광범위하게 병원성을 일으키는 세균 중의 하나인데, 건강한 닭의 장내에 상존하는

세균 중의 하나로서 소화 기관 하부인 맹장과 대장에 존재하며, 정상적인 상태에서는 건강에 영향을 미치지 않지만, 감염, 스트레스 등으로 인해 그 수가 급증하거나, 콕시듐 등의 감염이 동반될 경우 장관성 질환을 유발하는 대표적 원인체이다(Songer, 1996). Parish(1961)는 *C. perfringens*에 의한 괴사성 장염(Necrotic enteritis)이라는 명칭을 처음으로 사용하였고, *C. perfringens*의 침입으로 만들어진 type A의 α -toxin과 type C의 α , β -toxin이 가금의 괴사성 장염을 유발하게 된다(Long 등, 1974; Al-sheikhly와 Truscott, 1977; Songer, 1996).

괴사성 장염은 전 세계적으로 가금 산업에 경제적 손실을 입히는 중요한 질병 중의 하나인데(Songer, 1996), 질병 자체에 의한 생산성 저하와 의학적인 치료를 위해 매년 20억 달

[†] To whom correspondence should be addressed : cychi@korea.kr

리의 경제적 손실을 입히고 있다(Lanckriet 등, 2010). 육계에 서 가장 큰 손실을 입히고 있지만, 칠면조(Droual 등, 1995), 타조(Kwon 등, 2004), 꿩(Stuve 등, 1992), 거위(Wobeser와 Rainnie, 1987), 앵무새(McOrist와 Reece, 1992), 까마귀(Asaoka 등, 2004) 등의 조류뿐만 아니라, 바다사자(신남식 등, 1999)에서도 발생·보고되고 있다.

배합사료에 첨가하는 항생제는 1차적으로 성장 촉진 및 장내 환경 개선을 통하여 건강한 닭을 생산하는데 그 목적이 있고, 2차적으로는 장내 세균을 예방하는데 있다. 육계의 괴사성 장염을 유발하는 *C. perfringens*에 대하여 항생제 중 bacitracin이 좋은 효과를 나타낸다는 보고와 함께(Prescott 등, 1978), amoxicillin, tylosin, lincomycin이 효과를 나타냈다는 보고가 있는 반면(Lanckriet 등, 2010), amoxicillin과 tylosin이 효과적이지만 lincomycin에는 저항성을 나타낸다(Martel 등, 2004)는 보고도 있다. 또한 virginiamycin도 괴사성 장염 예방을 위해 많이 사용되고 있다(George 등, 1982; Knap 등, 2010).

*C. perfringens*에 따른 괴사성 장염이 발생하면 소장의 장관은 가스 저류로 인해 팽대되고, 악취가 나며, 암적색, 회색, 갈색의 액체가 충만되며, 장관벽이 얇아지게 되는데(Shane 등, 1985; Van Immerseel 등, 2004; Olkowski 등, 2006), 이로 인한 장관부위 손상의 육안적 분류는 육안적으로 아무런 병변이 없는 0부터 심한 괴사를 동반한 4까지 5등급으로 나누어 구분하고 있다(Prescott 등, 1978). 장 용모에서 병리학적 변화가 나타나면 영양 성분의 흡수장애로 인해 수분이 다량 함유된 분변을 배설하게 되어 증체율에 영향을 미치게 되는데, 이와 같은 현미경 검사에 의한 조직학적 분류는 haematoxylin과 eosin을 이용한 염색 후 용모의 손상이 없는 0에서 손상이 심한 4까지 5등급으로 구분하고 있다(Gholamiandehkordi 등, 2007).

캐나다에서 1969년부터 1971년 사이 육계의 괴사성 장염 발생율이 육계 집단 4%, 실험실 진단 시 8%의 비율로 조사되었다(Long, 1973). *C. perfringens*가 육계 병아리의 경우 십이지장과 회장에서 41.7%, 15.6% 분리된 반면, 종계 어미에서는 각각 58.4%와 27.1% 분리되었다. 우리나라의 경우 1993년부터 1995년까지 3년 동안 괴사성 장염 이환율을 조사한 결과, 닭 16,200수에서 54수가 이환되어 0.3%의 이환율을 보였으며, 이들 중 54수 중 7수(13.0%)에서 *C. perfringens*가 분리되었다(정희곤, 1997).

육계의 경우, 사육기간 중 체중 증가의 목적으로 사료 내 항생제를 첨가하여 사육하여 왔으나, 항생제의 사용으로 장관 내 정상 미생물총의 비정상적인 변화를 가져와, 사육환경

에 좋지 않은 영향을 미치는 것도 사실이다(Knarreborg 등, 2002). 우리나라에서도 2011년 7월 1일부터 배합사료 내 항생제 첨가가 전면 금지됨에 따라 육계, 산란계 등에서 괴사성 장염의 발생이 높아질 수 있는데, 국내에서 무항생제 사육을 도입한 농가에서 괴사성 장염의 발생이 꾸준히 증가하고 있는 추세이므로(장형관, 2012) 양계 농가와 관련 업체 등에서 사료 내 항생제 첨가 금지로 인해 여러 문제점들이 발생할 우려가 있다.

본 연구에서는 육계 사육 시 일령에 따른 장관의 건강상태를 배합사료 내 항생제 첨가 여부에 따라 비교하고, 이에 따른 분변에서의 *C. perfringens*의 수준 및 그 영향을 파악함으로써 배합사료 내 항생제 첨가 금지에 따른 대응 방안을 마련하는 기본 자료로 이용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 시험에 사용된 동물은 국립축산과학원 축산자원개발부의 육계(Ross) 초생추를 시험구당 40수씩 총 80마리를 공시하여 5주간 평사에서 사육하였다. 사료는 NRC 사양표준에 근거하여 단백질과 에너지 함량을 동일하게 배합하여 급여하였으며, 처리는 항생제를 첨가하지 않은 무첨가구(None Antibiotics), 항생제 virginiamycin 6 ppm을 시험기간 동안 지속적으로 첨가한 첨가구(Add Antibiotics)로 구분하여 실험하였다.

2. 소장의 육안적 검사

소장의 육안적 소견은 Prescott 등(1978)의 방법에 따라 0~4의 5등급으로 구분하였는데, 소장이 깨끗하게 아무런 병변이 없을 경우 0, 얇아진 소장벽 및 충출혈이 발견될 경우 1, 얇아진 소장벽 및 부분적인 염증과 괴사가 있을 경우 2, 얇아진 소장벽 및 광범위한 염증 및 괴사가 있을 경우 3, 소장 내의 전반적인 염증 및 괴사가 있을 경우를 4로 분류하였다.

3. 소장 용모의 조직학적 검사

현미경 검사를 통한 소장의 조직학적 분류는 Gholamiandehkordi 등(2007)의 방법에 의하여 haematoxylin과 eosin을 이용한 염색 후 소장 용모의 손상 정도에 따라 구분하였는데, 소장 용모에 아무런 손상이 없는 정상 0, 소장 용모가 약간 짧아진 1, 소장 용모의 부분적 탈락 및 붕괴가 보이는 2, 소장 용모의 붕괴와 염증을 동반하면 3, 소장 용모의 광범위한 탈락과 염증을 동반하면 4로 분류하였다.

4. Colony Forming Unit(CFU) 산정

장관 내용물에서 *C. perfringens*의 colony forming unit(CFU)/g을 확인하기 위하여, 각 그룹 일령별 소장 내용물을 모아 무게를 측정하고, 내용물 1 g을 채취하였다. 멸균된 10 mL thioglycollate broth(Difco, USA)에 혼합한 후 75°C에서 20분간 유지하였다. 그 후 1 mL를 취하여 phosphate-buffered-saline (pH 7.0, PBS)에 10배 계단 희석한 후, *C. perfringens* agar base (MBcell, Korea) 배지에 도말하여 혐기성 조건에서 배양하였다. 37°C에서 24시간 배양한 후 흰색 환을 나타내면서 검은색을 띄는 colony를 선택하여 CFU/g을 계산하였다.

5. *C. perfringens* Toxin 유전자 검사

*C. perfringens*에서 다양한 toxin gene의 검사는 다중 중합효소 연쇄 반응(multiplex polymerase chain reaction, multiplex PCR)의 방법을 이용하였다. 각 toxin별 사용된 primer는 Table 1에서 보는 바와 같다. DNA는 QIAamp mini kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 추출하였다. PCR은 2 mM MgCl₂를 함유한 25 uL reaction 액, 0.5 uM의 각 primer, 1 mM dNTP, 0.5 u Taq polymerase(Promega, Germany)를 이용하여 94°C에서 45초간 pre-denaturation, 94°C 45초-50°C 30초-72°C 45초의 35회 amplification, 72°C에서 5분간 extension의 순서로 진행하였다. PCR 산물은 2% agarose를 이용하여 전기영동을 실시하고, 형성된 band를 분석하였다.

6. 통계분석

실험 결과의 통계학적 분석을 위해 처리군의 유의성 검정($p < 0.05$)은 ANOVA 분석에 의하여 유의성 여부를 검정하고

(*F*-test), 다중 검정의 방법을 이용하여 처리 간 유의성 검정을 실시하였다.

7. 동물실험 윤리사항

논문에 기재된 동물 실험은 동물보호법 제14조에 의거하여 설치된 「국립축산과학원 동물실험윤리위원회」에 의해 사전 승인 후 수행하였다.

결 과

1. 사료 내 항생제 첨가 여부에 따른 소장의 육안적 소견

육계의 1일령부터 30일령까지 배합사료에 항생제를 첨가하지 않았거나 virginiamycin을 배합사료에 첨가하여 투여하였을 경우, 소장의 육안적인 소견을 1일령, 10일령, 20일령 및 30일령의 10일 주기로 검사하고, 그 결과를 Table 2 및 Fig. 1과 같이 나타내었다. 갓 태어난 1일령에서는 두 처리구에서 모두 소장 점막이 깨끗한 수준을 보이다가 10일령에서는 항생제를 투여하지 않은 그룹에서 육안적 소견 0.6으로서 항생제 투여군의 0.0에 비해 유의적으로 높은($P < 0.05$) 수치를 나타내었다. 즉, 사료 내 항생제 투여로 괴사성 장염을 예방한 것으로 보인다. 반면, 20일령에서는 항생제 투여군이 1.0으로서 항생제를 투여하지 않았을 경우의 1.3보다 약간 낮은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았으며, 출하일령인 30일령에서는 두 그룹에서 모두 0.4를 나타내어 차이를 나타내지 않았다.

2. 소장 용모의 조직학적 소견

Table 1. Target toxin gene of the *C. perfringens* in multiplex PCR

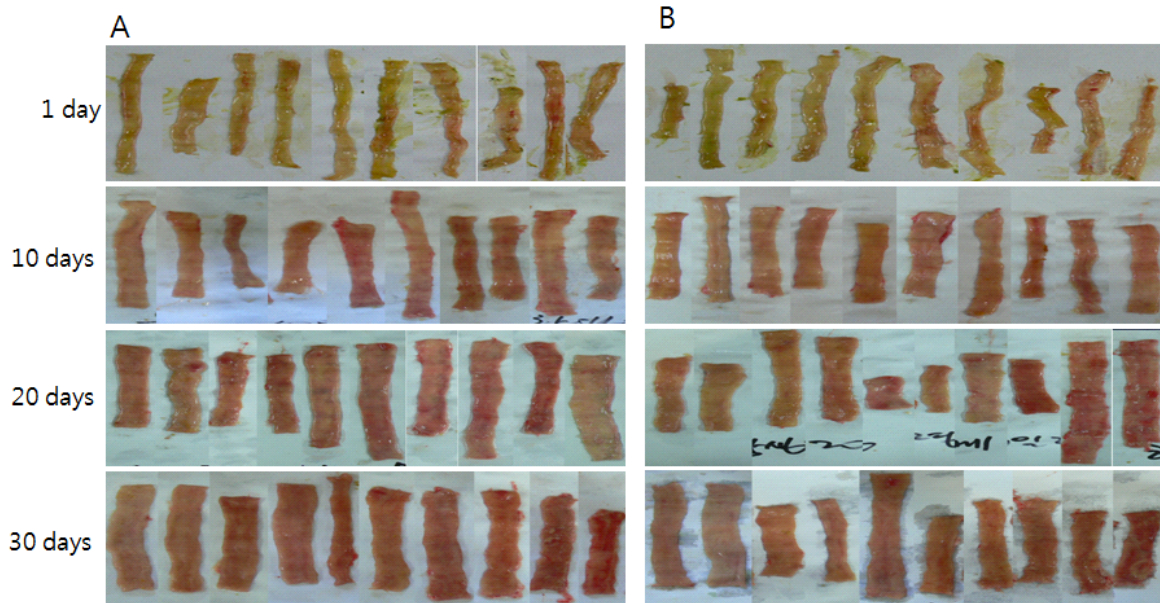
Toxin gene	Primer	Fragment length(base pair)
<i>cpa</i>	F:5' -AGTCTACGCTTGGGATGGAA-3' R:5' -TTTCCTGGGTTGTCCATTTC-3'	900
<i>cpb</i>	F:5' -TCCTTTCTTGAGGGAGGATAAA-3' R:5' -TGAACCTCCTATTTTGTATCCCA-3'	611
<i>cpe</i>	F:5' -GGGGAACCCTCAGTAGTTTCA-3' R:5' -ACCAGCTGGATTGAGTTTAATG-3'	506
<i>etx</i>	F:5' -TGGGAACCTTCGATACAAGCA-3' R:5' -TTAACTCATCTCCATAACTGCAC-3'	396
<i>iap</i>	F:5' -AAACGCATTAAAGCTCACACC-3' R:5' -CTGCATAACCTGGAATGGCT-3'	293
<i>cpb2</i>	F:5' -CAAGCAATTGGGGGAGTTTA-3' R:5' -GCAGAATCAGGATTTTGACCA-3'	200

Table 2. Effect of antibiotics treatment on lesion score of necrotic enteritis in broiler

Group	No. of animals	Lesion score			
		1 day old	10 days old	20 days old	30 days old
Control	10	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.5 ^a	1.3 ± 0.7	0.4 ± 0.5
Virginiamycin	10	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 ^b	1.0 ± 0.7	0.4 ± 0.5

Data are represented as mean ± S.D.

^{a,b} Different superscripts indicate significant difference ($P < 0.05$).

**Fig. 1.** Gross lesion score* of small intestine(ileum) of broiler.

(A) None add antibiotics into the concentrate feed.

(B) Add antibiotics (virginiamycin 6 ppm) into the concentrate feed.

* Gross lesion score : 0, no gross lesions; 1, thin walled or friable small intestine; 2, focal necrosis or ulceration; 3, larger patches of necrosis; 4, severe, extensive necrosis typical of field cases.

항생제 첨가 여부에 따른 일령별 현미경 관찰을 통한 소장 용모의 조직학적 소견은 Table 3 및 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 1일령에서는 두 처리구에서 모두 소장 용모에 어떠한 손상도 나타내지 않다가 10일령에서는 항생제 무첨가구에서 0.4를 나타낸 반면, 항생제 첨가구에서는 0.0을 나타내어 항생제 첨가구의 소장이 유의적으로($P < 0.05$) 손상을 받지 않은 것으로 나타났다. 20일령에서는 항생제 무첨가구에서 1.6, 항생제 첨가구 1.2를 나타내어 항생제 무첨가구의 소장 용모에 손상을 좀 더 입힌 것으로 나타났지만 유의적인 차이는 보이지 않았으며, 30일령에는 두 처리구에서 각각 0.2로 낮게 조사되었다.

3. 소장 분변에서의 *C. perfringens* CFU 산정

일령별 소장 분변 내용물을 모아 *C. perfringens* 배지에 배양을 실시하고, 산정한 1 g 당 CFU는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 항생제 첨가구에서는 10일령 3.0×10^3 , 20일령 1.0×10^3 , 30일령 1.2×10^4 를 나타낸 반면, 항생제 무첨가구에서는 10일령 1.0×10^4 , 20일령 5.0×10^4 , 30일령 1.8×10^6 CFU를 나타내어 항생제를 사료에 첨가하지 않고 사육하였을 경우 10일령부터 증가하다가, 20일령 및 30일령에서는 그 수가 급격히 증가하는 것으로 조사되었다.

4. *C. perfringens* PCR 검사

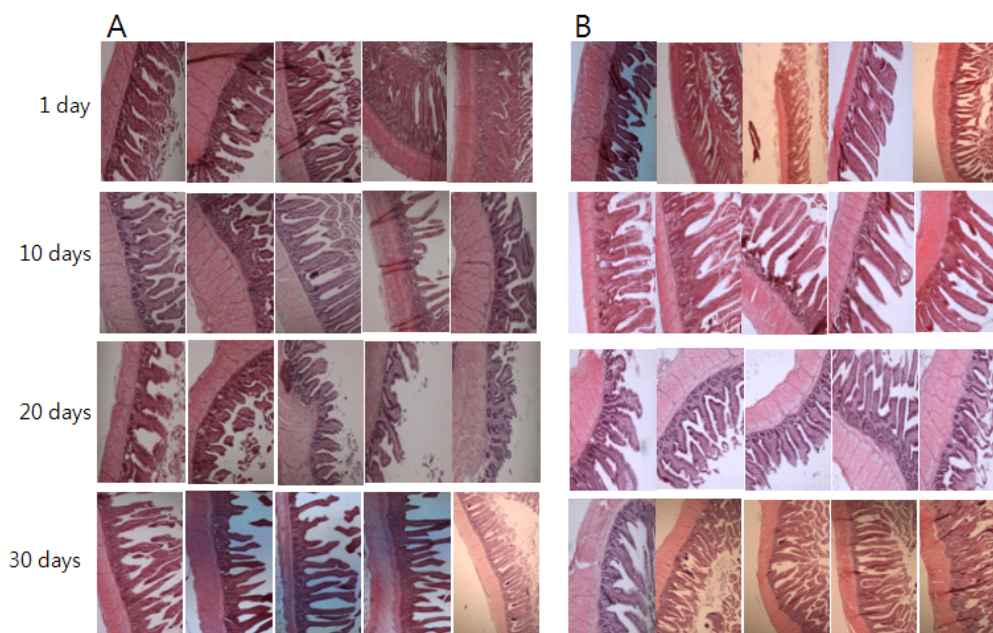
*C. perfringens*의 type별 toxin의 검색을 위한 PCR 검사를 실시하였는데, 1일령에는 두 처리구에서 모두 *C. perfringens*의 그 어떤 type도 검색되지 않았으나, 10일령, 20일령, 30일

Table 3. Effect of antibiotics treatment on histologic score of necrotic enteritis in broiler

Group	No. of animals	Histologic score			
		1 day old	10 days old	20 days old	30 days old
Control	5	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5 ^a	1.6 ± 0.5	0.2 ± 0.4
Virginiamycin	5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 ^b	1.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4

Data are represented as mean ± S.D.

^{a,b} Different superscripts indicate significant difference ($P < 0.05$).

**Fig. 2.** Histologic score* of small intestine (ileum) of broiler.

(A) None add antibiotics into the concentrate feed.

(B) Add antibiotics (virginiamycin 6 ppm) into the concentrate feed.

* Histologic score : 0, normal size of villi; 1, villi short changed; 2, partially falling off and collapse of villi; 3, partially collapse and inflammation of villi; 4, extensive collapse and inflammation of villi.

령에서 공히 type A의 α -toxin이 검색되었다(Fig. 4).

고 찰

육계에서 괴사성 장염은 2~6주령에 일반적으로 발생하는 것으로 보고되고 있는데(Barnes 등, 1972; Lovland 등, 2004), 본 결과에서는 항생제를 투여하지 않았을 경우 2주령이 가까워지는 10일령부터 발생하기 시작하였고, 항생제를 투여하였을 경우 이보다 늦은 시기인 20일령부터 발생하는 것으로 조사되어 기존의 보고와 비슷한 경향을 나타내었다. 그리고 두 처리구에서 모두 20일령 가장 좋지 않은 소장의 육안적 소견을 보이다가 연령이 성장한 30일령에서는 회복하

는 양상을 보였는데, 이는 사육일령이 증가할수록 육계 개체의 면역력이 높아진 것으로 사료된다. 소장 용모의 조직학적 손상 정도는 육안적 수치와 그 변화 양상과 비슷하게 10일령부터 나타났으며(Table 1, 2), 이는 육계의 초기에 심하게 감염되어 소장 조직에 손상을 입힌다는 연구(Barnes 등, 1972; Lovland 등, 2004)들과 일치하였다. 따라서 본 연구에서는 특히 육계의 사육 시 사육 전기에 질병 발생 및 폐사를 줄이기 위해 많은 노력을 기울여야 할 것으로 사료된다.

가금 산업 성공을 위한 중요한 요인 중의 하나가 질병 예방이다. 다양한 종류의 가금 질병 발생은 성장을 지연시키고, 폐사율을 증가시키는데, 특히 장관 질환은 사료 섭취율을 감소시켜 증체율을 떨어뜨리게 되므로, 이를 예방하기 위

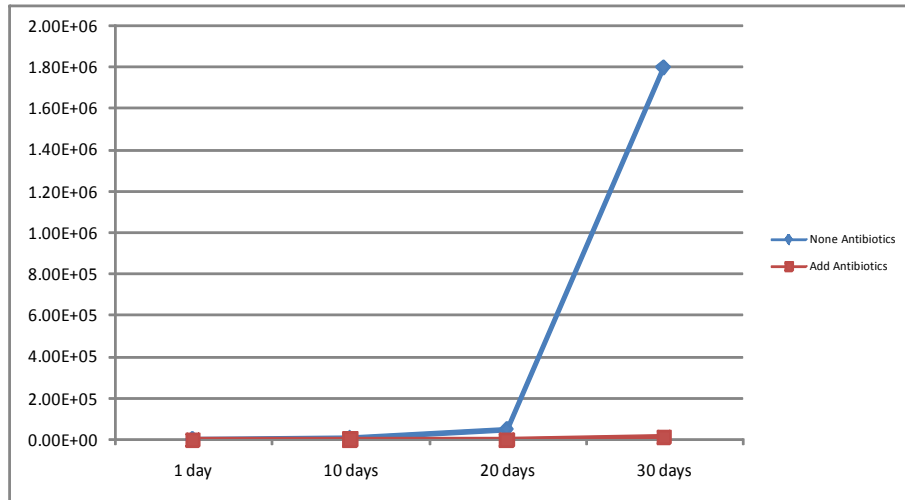


Fig. 3. CFU of *C. perfringens* in feces of broiler.

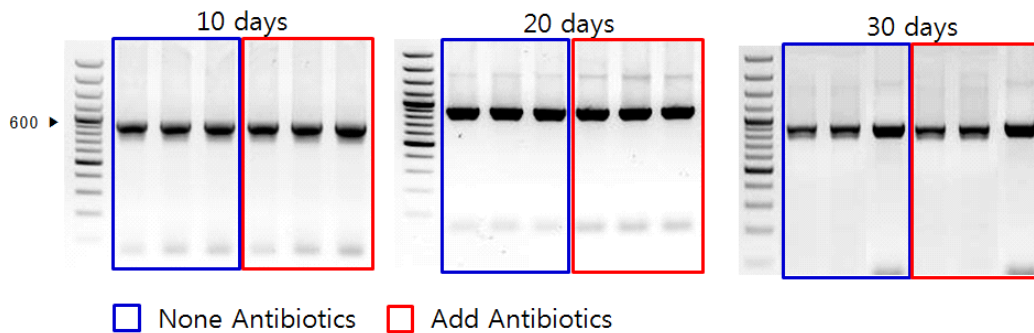


Fig. 4. Confirmation of *C. perfringens* type A using PCR.

해 항생제를 오랫동안 사용하여 왔다. *C. perfringens* type A의 경우, 동물의 장관과 토양 등 주변 환경에서 쉽게 발견되는 반면, type B, C, D, E는 드물게 존재한다. 괴사성 장염은 *C. perfringens*에서 산생된 독소인 Type A 또는 C가 소장 내에 과량 증식되어 장애를 일으키는 질환이다. *C. perfringens*가 건강한 개체에서 2.9%, 괴사성 장염 경험이 있는 개체에서 15.7% 혈청 양성반응을 보인다고 하였으며(Lovland 등, 2003), 우리나라에서 발생한 *C. perfringens*의 독소형을 분류한 결과, 총 24균주 중 22균주(91.7%)가 A형이었으며, 2균주(8.3%)는 C형으로 조사되었다(정희곤, 1997). 본 연구에서는 10일령, 20일령, 30일령에서 이전의 연구 결과들과 유사하게 우리나라에서 가장 높은 분포율을 보였던 *C. perfringens* type A의 α -toxin이 확인되었으며, type A에 의해 괴사성 장염이 유발됨을 알 수 있었다.

최근까지 육계에서 괴사성 장염은 사료에 항생제를 첨가함으로써 효과적으로 조절하여 왔다(Prescott 등, 1978; Elwinger 등, 1998; Lanckriet 등, 2010). 닭에서 괴사성 장염 예방을

위해 virginiamycin을 많이 사용하고 있는데(Watkins 등, 1997; Cravens 등, 2013), 캐나다 수의약품이사회(Canada's Veterinary Drugs Directorate, VDD)에서는 육계의 괴사성 장염 치료를 위해 virginiamycin을 사료 1톤당 5~40 g의 용량으로 첨가하여 먹일 것을 권장하였다(George 등, 1982). 본 연구에서는 virginiamycin을 사료에 첨가하여 급여하였을 경우, 항생제를 급여하지 않은 개체에 비해 전 연령에서 소장 점막의 육안적 소견, 조직학적 소견, *C. perfringens*의 CFU, toxin 검색에서 모두 향상된 결과를 나타내었다. 이는 육계에서 가장 큰 경제적 손실을 입히는 괴사성 장염을 항생제로 제어할 수 있다는 것을 의미한다. 그러나 항생제의 지속적인 사용으로 항생제에 대한 내성이 증가하고, 다제내성균도 출현하여 위험성이 커져가고 있다. *C. perfringens*에 대한 항생제 내성연구 보고사례로서 사람의 피부과 감염 치료에 사용되는 bacitracin의 경우 100% 항생제 내성을 가진다는 보고가 있었으며(Chalmers 등, 2008), bacitracin 64%, virginiamycin 25%, tetracycline 62% 내성을 가진다고도 보고하였다

(Slavic 등, 2011). Tetracycline의 경우 유럽 각 국가별로 10~76%(덴마크 10%, 노르웨이 29%, 스웨덴 76%) 항생제 내성에 차이를 보인다고 하였다(Johansson 등, 2004). 가축에 투여되는 항생제에 의한 인체로의 항생제 저항성의 전달을 차단하기 위해 많은 나라에서 가금 사료를 비롯한 가축사료에 항생제 첨가를 금지하고 있다. 우리나라에서도 2011년 7월 1일부터 배합사료 내 항생제 첨가가 전면 금지되었다. 사료에 항생제 첨가 금지는 가축뿐만 아니라, 인류의 항생제 내성 차단을 위해 많은 공헌을 할 수 있을 것으로 여겨진다. 그러나 배합사료에 항생제 첨가를 금지할 경우, 그만큼 육계에서 괴사성 장염 발생 우려가 높으며, 국내외에서도 이에 대한 보고가 있는 실정이다(Kaldhusdal과 Lovland, 2000; 장형관, 2012), 양계 농가뿐만 아니라 관련 업체, 정부에서는 이에 대한 철저한 준비가 이루어져야 할 것이다. 특히 수의사 처방제가 2013년 8월부터 실시되고 있는 만큼 양계 농가에서는 철저한 처방에 의하여 항생제를 선택적으로 사용하면서 사육 밀도 조절, 계사 내·외부 주변 환경을 소독하고, 청결한 환경을 유지하여 최소한의 항생제 사용으로 건강한 닭을 사육해야 할 것으로 생각된다.

적 요

본 연구는 육계(broiler)의 사육 일령에 따른 *C. perfringens*의 발생 양상을 확인하기 위해 실시하였는데, 사육일령별 소장 점막의 육안적(gross lesion) 변화, 현미경 검사를 통한 조직학적(histological) 소견을 분석하고, 배양한 분변의 *C. perfringens* CFU를 확인하며, PCR 검사를 통하여 *C. perfringens* type을 검색하였다. 소장 점막(mucoese of small intestine)의 육안적 검사 결과, 10일령에서는 항생제를 첨가하지 않은 그룹에서 육안적 소견 0.6으로서 항생제 첨가군의 0.0에 비해 높은 수치를 나타내었으며, 20일령에서는 항생제 첨가군이 1.0으로서 항생제를 첨가하지 않았을 경우의 1.3보다 약간 낮은 경향을 나타내었다. 소장 융모(villi)의 조직학적 검사 결과, 1일령에서 두 처리구에서 모두 소장 융모에 어떠한 손상도 나타내지 않다가 10일령에서는 항생제를 무첨가구에서 0.4를 나타낸 반면 항생제 첨가구에서는 0.0을 나타내어 항생제 첨가구의 소장이 손상을 받지 않은 것으로 나타났다. 소장 분변에서 *C. perfringens*의 CFU는 항생제를 사료에 첨가하지 않고 사육하였을 경우 10일령부터 증가하다가, 20일령 및 30일령에서는 그 수가 급격히 증가하는 것으로 나타났다. *C. perfringens*의 PCR 검사 결과, 1일령에는 두 처리구

에서 모두 *C. perfringens*의 그 어떤 type도 검색되지 않았으나, 10일령, 20일령, 30일령에서 모두 type A의 α -toxin이 검색되었다. 본 연구 결과, 육계의 사육 시 항생제 급여로 *C. perfringens*를 제어할 수 있지만, 배합사료 내 항생제 첨가가 금지된 만큼 수의사의 정확한 처방에 의한 선택적으로 항생제를 사용하면서 사양관리에 만전을 기해야 할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ90710-5062013)의 지원에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Al-Sheikhly F, Truscott RB 1977 The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of crude toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. Avian Dis 21: 241-255.
- Asaoka Y, Yanai T, Hirayama H, Une Y, Saito E, Sakai H, Goryo M, Fukushi H, Maseqi T 2004 Fatal necrotic enteritis associated with *Clostridium perfringens* in wild crows (*Corvus macrorhynchos*). Avian Pathol 33:19-24.
- Barnes EM, Mead GC, Barnum DA, Harry EG 1972 The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. Br Poultry Sci 13:311-326.
- Chalmers G, Bruce HL, Hunter DB, Parreira VR, Kulkarni RR, Jiang YF, Prescott JF, Boerlin P 2008 Multilocus sequence typing analysis of *Clostridium perfringens* isolates from necrotic enteritis outbreaks in broiler chicken populations. J Clin Microbiol 46:3957-3964.
- Cooper KK, Gonger JG, Uzal FA 2013 Diagnosing clostridial enteric disease in poultry. J Vet Diagn Invest 25:314-327.
- Cravens RL, Goss GR, Chi F, De Boer ED, Davis SW, Hendrix SM, Richardson JA, Johnston SL 2013 The effects of necrotic enteritis, Aflatoxin B1 and virginiamycin on growth performance, necrotic enteritis lesion scores and mortality in young broilers. Poultry Sci 92:1997-2004.
- Droual R, Farver TB, Bickford AA 1995 Relationship of sex,

- age and concurrent intestinal disease to necrotic enteritis in turkeys. *Avian Dis* 39:599-605.
- Elwinger K, Berndtson E, Engstrom B, Fossum O, Waldenstedt L 1998 Effect of antibiotic growth promoters and anticoccidials on growth of *Clostridium perfringens* in the caeca and on performance of broiler chickens. *Acta Vet Scand* 39:433-441.
- George BA, Quarles CL, Fagerberg DJ 1982 Virginiamycin effects on controlling necrotic enteritis infection in chickens. *Poultry Sci* 61:447-450.
- Gholamiandehkordi AR, Timbermont L, Lanckriet A, Van Den Broeck W, Pedersen K, Dewulf J, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R, Van Immerseel F 2007 Quantification of gut lesions in subclinical necrotic enteritis model. *Avian Pathol* 36:375-382.
- Johansson A, Greko C, Engstrom BE, Karlsson M 2004 Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry and distribution of tetracycline resistance genes. *Vet Microbiol* 99: 251-257.
- Kaldhusdal M, Lovland A 2000 Necrotic enteritis: the economical impact of *Clostridium perfringens* is greater than anticipated. *World Poultry* 16:50-51.
- Knap I, Lund B, Kehlet AB, Hofacre C, Mathis G 2010 *Bacillus licheniformis* prevents necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Dis* 54:931-935.
- Knarreborg A, Simon MA, Engberg RM, Jensen BB, Tan-nock GW 2002 Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl Environ Microbiol* 68:5918-5924.
- Kwon YK, Lee YJ, Mo IP 2004 An outbreak of necrotic enteritis in the ostrich farm in Korea. *J Vet Med Sci* 66: 1613-1615.
- Lanckriet A, Timbermont L, De Gussem M, Marien M, Van-craeynest D, Haesebrouck F, Ducatelle R, Van Immerseel F 2010 The effect of commonly used anticoccidials and antibiotics in a subclinical necrotic enteritis model. *Avian Pathol* 39:63-68.
- Long JR 1973 Necrotic enteritis in broiler. I. A review of the literature and the prevalence of the disease in Ontario. *Can J Comp Med* 37:302-308.
- Long JR, Pettit JR, Barnum DA 1974 Necrotic enteritis in broiler chickens. II. Pathology and proposed pathogenesis. *Can J Comp Med* 38:467-474.
- Lovland A, Kaldhusdal M, Redhead K, Skjerve E, Lillehaug A 2004 Maternal vaccination against subclinical necrotic enteritis in broilers. *Avian Pathol* 33:83-92.
- Lovland A, Kaldhusdal M, Reitan LJ 2003 Diagnosing *Clostridium perfringens* associated necrotic enteritis in broiler flocks by an immunoglobulin G anti-alpha-toxin enzyme linked immunosorbent assay. *Avian Pathol* 32:527-534.
- Martel A, Devriese LA, Cauwerts K, De Gussem K, Decostere A, Haesebrouck F 2004 Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Avian Pathol* 33:3-7.
- McOrist S, Reece RL 1992 Clostridial enteritis in free-living lorikeets (*Trichoglossus* spp.). *Avian Pathol* 21:503-507.
- Olkowski AA, Wojnarowicz C, Chirino-Trejo M, Drew MD 2006 Responses of broiler chickens orally challenged with *Clostridium perfringens* isolated from field cases of necrotic enteritis. *Res Vet Sci* 81:99-108.
- Parish WE 1961 Necrotic enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). I. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *J Comp Pathol* 71:377-393.
- Prescott JF, Sivendra R, Barnum DA 1978 The use of bacitracin in the prevention and treatment of experimentally-induced necrotic enteritis in the chicken. *Can Vet J* 19: 181-183.
- Shane SM, Gyimah JE, Harrington KS, Snider TG 3rd 1985 Etiology and pathogenesis of necrotic enteritis. *Vet Res Commun* 9:269-287.
- Slavic D, Boerlin P, Fabric M, Klotins KC, Zoethout JK, Weir PE, Bateman D 2011 Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* isolates of bovine, chicken, porcine, and turkey origin from Ontario. *Can J Vet Res* 75: 89-97.
- Songer JG 1996 Clostridial enteric diseases of domestic animals. *Clin Microbiol Rev* 216:234.
- Stuve G, Hofshagen M, Holt G 1992 Necrotizing lesions in the intestine, gizzard and liver in captive capercaillies (*Tetrao urogallus*) associated with *Clostridium perfringens*. *J Wildl Dis* 28:598-602.

- Van Immerseel F, De Buck J, Pasmans F, Huyghebaert G, Haesebrouck F, Ducatelle R 2004 *Clostridium perfringens* in poultry; an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathol* 33:537-549.
- Watkins KL, Shryock TR, Dearth RN, Saif YM 1997 *In-vitro* antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from commercial turkey and broiler chicken origin. *Vet Microbiol* 54:195-200.
- Wobeser G, Rainnie DJ 1987 Epizootic necrotic enteritis in wild geese. *J Wildl Dis* 23:376-385.
- 신남식 권수완 이기환 김양범 최재훈 박주연 유한상 김대용 권오경 1999 바다사자에서 *Clostridium perfringens* 감염에 의한 괴사성 장염증례 보고. *한국임상수의학회지* 16: 218-221.
- 장형관 2012 사료첨가용 항생제 사용금지로 인한 양계산업에 미치는 영향 및 대책방안. *대한수의사회지* 48:104-108.
- 정희곤 1997 닭의 괴사성 장염, 새끼돼지 및 소의 장독혈증에서 분리한 *Clostridium perfringens*의 S-R 변이와 항균요법의 감수성. *한국식품영양학회지* 10:166-173.
- (접수: 2013. 10. 14 수정: 2013. 10. 28, 채택: 2013. 10. 30)