

國內 닭의 괴사성 장염 발생에 관한 연구

박경윤 · 정성대 · 예재길 · 서일복*

바이엘동물의약연구소
서울대학교 수의과대학*
(1994년 7월 29일 접수)

Studies on the necrotic enteritis of chicken in Korea

Kyoung-yoon Park, Sung-dae Jung, Jae-gil Yeh, Il-bok Seo*

Bayer Veterinary Medical Research Institute
College of Veterinary Medicine, Seoul National University*
(Received July 29, 1994)

Abstract : This study was carried out to investigate the necrotic enteritis of chicken in Korea. Epidemiological, pathological and microbiological examination were done on 12 naturally occurred cases of necrotic enteritis of chicken. And the susceptibility of isolated bacteria to antimicrobial agents was also examined.

The results obtained were as follows;

1. The *Clostridium perfringens* infection, necrotic enteritis of chicken, occurred in the chickens mainly raised in floor pens. Necrotic enteritis of chicken was occurred coincidentally with coccidiosis and Gumboro disease frequently. And several cases were recurred at 2-3 weeks after recovery.
2. Clinical signs of the infected chickens were depression, decreased appetite, reluctance to move, diarrhea, ruffled feathers and acute death within several hours.
3. The characteristic biochemical properties of isolates were 2-band hemolysis, no motility, positive reaction of reverse CAMP test and the formation of LV precipitate in egg yolk medium.
4. Gross lesions of the infected chickens were distention of intestine with gas, thickened mucosa and formation of thick pseudomembrane in intestine. Livers were friable with yellowish brown color and, in some case, showed demarcated necrotic foci.
5. Histopathological findings of the infected chickens were severe necrosis of the intestinal mucosa and attachment of numerous large bacilli to the mucosal surface of necrotic villi. In liver, necrosis of liver tissue and numerous large bacilli in the necrotic foci were also observed.
6. In susceptibility test to antimicrobial agents, 12 isolates of *Clostridium perfringens* were highly sensitive to ampicillin, baytril, cephalothin and penicillin.

Key words : *Clostridium perfringens*, necrotic enteritis, biochemical properties, antimicrobial susceptibility.

서 론

닭의 괴사성 장염은 *Clostridium perfringens*의 감염

에 의해 원기소실, 출혈성 설사, 괴사성 장염을 보이고 수 시간내 폐사를 일으키며, 주로 평사 사육하는 계군에서 발생하는 닭의 세균성 질병이다.

닭의 괴사성 장염은 1961년 영국의 Parish¹³에 의해 처음 발병 보고된 이후 호주, 인도, 페루, 독일, 캐나다, 덴마크, 중국 등 전세계 대부분의 지역에서 보고되었다^{4,9,28}.

우리나라에서는 닭에서의 *Clostridium perfringens* 감염증에 대한 보고는 없으나 예 등¹⁰이 자돈에서, 조 등이 자돈과 송아지의 *Clostridium perfringens* 감염증에 관하여 조사 연구하였다^{11,12}.

닭에서의 괴사성 장염은 평상 사육하는 육계나 종계에서 주로 발생하고 있으며, 원인균이 산생하는 독소에 의해 수 시간내에 폐사를 일으키고 동거 감염이 이루어 지므로 일단 발병하면 발생 계군내 피해가 매우 크다.

본 연구는 닭의 괴사성 腸炎 病巢로부터 *Clostridium perfringens*를 분리하여 생화학적 성상과 항균제에 대한 감수성을 조사하였으며, 조직학적 병변과 발병 농장의 역학적 상황을 아울러 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료 : 1990년부터 1993년까지 바이엘 동물의약연구소에 의뢰된 닭 가검물 중에서 괴사성 장염 소견을 보인 12例를 조사하였다.

細菌의分離 : 닭의 괴사성 장염 소견을 보이는 개체의 장관 및 간에서 가검재료를 채취한 후 sheep blood agar에 도말하여 gas pak(BBL)에 넣고 혐기배양하였다.

37℃에서 24시간 배양한 후 二重 溶血帶를 보이는 세균집락수가 우세하게 많거나 二重 溶血帶를 나타내는 단일 세균집락임을 확인하고, 이를 순수배양하여 Hogh^{13,14}의 방법에 따라 생화학적 성상검사를 실시하였다.

표준 균주 : 본 실험에 사용한 *Clostridium perfringens* 표준균주는 미국 NVSL(National Veterinary Service Labs, Iowa)에서 분양받은 *Clostridium perfringens* C를 사용하였다.

Reverse CAMP test : *Clostridium perfringens*에 의한 分離株의 용혈증폭현상을 확인하기 위하여 Hansen and Elliott¹⁵의 방법으로 reverse CAMP(Christie, Atkins and Munch-Peterson) test를 실시하였다. 즉 *Streptococcus agalctiae*(ATCC 3813)와 *Clostridium perfringens* 分離株를 서로 교차방향으로 혈액배지에 접종하여 배양한 후 두 균주의 근접부위에서 탄환모양의 증폭된 용혈현상을 관찰하였다.

LV precipitate 반응 : LV(lecitho-vitellin) precipitate

반응은 Gubash¹⁶의 방법에 따라 실시하였다.

즉 EY-TS(egg yolk-triple salt) medium에 공시균을 접종하고 18시간 배양한 후 증식된 세균집락 주위에 백탁대가 형성됨을 관찰하였다.

항균물질에 대한 감수성 조사 : 각종 항균물질에 대한 감수성 조사는 disk 확산법으로써 Rood et al¹⁷의 방법에 따랐다.

공시 disk는 BBL社에서 제조한 것으로 접종후 24시간 혐기배양하여 증식억제대를 판독하였다.

병리학적 검사 : 괴사성 장염 소견을 보이는 개체의 간장과 장관을 10% 인산염완충 포르말린에 고정한 다음 절편을 만들어 조직 처리 후 파라핀포매 과정을 거쳐 4μm 두께로 조직표본을 만들고 hematoxylin-eosin으로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

발생상황 : 1990년부터 1993년까지 한국 바이엘화학 동물의학 연구소에 의뢰된 병성감정 건 중에서 임상 증상, 부검 소견, 균 분리 동정, 병리 조직학적 관찰을 통하여 괴사성 장염이 발생한 것으로 확인된 12개 발병 농장을 조사한 결과, 괴사성 장염의 집단 발생은 평상사육 계군에서만 나타났으며, 케이지사육 계군에서는 개체별로는 관찰되나 집단발병 사례는 없었다(Table 1). 발병 계군은 록시듬증, 감보로병등 다른 질병과 복합적으로 발병한 사례가 많았으며, 또한 치료된 지 2-3주 후에는 대부분 재발병 하는 양상을 보였다.

Table 1. Occurrence of necrotic enteritis according to the raising type of chicken

Type of chicken	No of flock	Raising type	
		Floor	Cage
Broiler GPS	1	1	-
PS	7	7	-
CC	3	3	-
Layer CC	1	-	1
Total	12	11	1

임상 증상 : 괴사성 장염을 일으킨 닭은 갑작스런 원기소실, 식욕절폐, 움직이기를 싫어하며 깃털이 거칠어지고, 혈액섞인 설사변을 보였으며, 수시간내 폐사를 일으키는 급성경과를 보였다.

육안 및 병리조직학적 소견 : 괴사성 장염으로 폐사된 닭은 장관내 가스가 차고 장점막이 비후되어 있었으며, 장출혈과 함께 혈액성 삼출물이 차 있거나 두터운

위막이 점막면에 형성되어 있었다(Fig 1).

간은 암적색으로 발적되어 있거나 또는 황갈색조로 변색되어 있었으며 경도가 취약하였다. 개체에 따라서는 한계 분명한 다양한 크기의 괴사부위가 나타났다(Fig 2).

슬라이드글라스에 간 단면을 직접도말하여 그람염색 후 현미경으로 관찰하였을 때 많은 수의 그람양성 간균체가 관찰되었다.

병리조직학적으로는 소장내 대부분의 용모가 괴사 탈락되었으며 점막고유층에서 혈관의 확장과 출혈이 관찰되었다. 괴사된 용모의 점막면에는 무수히 많은 간균이 부착되어 있었다(Fig 3). 간장에서는 간균의 집락소가 여러 곳에 형성되어 있었으며 이 집락소 주변의 간세포의 대부분은 괴사되어 있었다(Fig 4).

分離株의 生化學的 性像 : 닭에서 분리한 *Clostridium perfringens* 12주와 표준주 *Clostridium perfringens* type C의 생화학적 성상을 비교한 결과 Gram 양성의

간균, 二重 溶血性, urease 음성, H₂S 음성, glucose, lactose 및 galactose를 분해하고 운동성이 없는 등의 성상을 보여 분리주와 표준주의 성상이 일치하였다(Table 2).

*Streptococcus agalactiae*에 의한 분리주의 용혈증폭현상을 관찰하기 위하여 reverse CAMP test를 한 결과 표준주와 분리주 모두 탄환모양의 증폭된 용혈현상을 나타내었다.

LV precipitate 형성시험을 위해 EY-TS 배지에 分離株와 표준주를 접종배양 하였을 때 집락주위에 큰 백탁대를 형성하였다.

항균제에 대한 감수성 : 야의 분리주 *Clostridium perfringens* 12주의 각종 항균제에 대한 감수성은 Table 3과 같다.

ampicillin, baytril, cephalothin, penicillin 등의 항균제에 감수성이 우수하였다.

Table 2. Biochemical properties of 12 *Clostridium perfringens* isolates compared with *Clostridium perfringens* type C reference strain

Biochemical properties	Reference strain	Isolated strains
Gram staining	Positive, rod	Positive, rod
Cooked meat medium	Gas and foam formation	Gas and foam formation
Litmus milk	Stormy fermentation	Stormy fermentation
Double zone homolysis	+	12/12*
Lecithinase	+	12/12
Reverse CAMP test	+	12/12
H ₂ S gas	-	0/12
Indole	-	0/12
Motility	-	0/12
Glucose	+	12/12
Lactose	+	12/12
Galactose	+	12/12
Urease	-	0/12

* : No of positive/No of examined strains

Table 3. Susceptibility of 12 isolataes of *Clostridium perfringens* to antimicrobial drugs

Drugs	No of susceptible strains	% of susceptible strains
Amikacin	1	8.3
Ampicillin	11	91.7
Baytril	11	91.7
Cephalothin	10	83.3
Colistin	1	8.3
Erthromycin	7	58.3
Gentamycin	1	8.3
Neomycin	1	8.3
Penicillin	8	66.7
Streptomycin	1	8.3
Trimethoprim-sulfamethoxazole	3	25.0
Tetracyclin	3	25.0

고 찰

닭에서 괴사성 腸炎의 자연 발생은 2주령에서 6개월령 사이의 계군에서 주로 보고되고 있으나 특히 평사에서 사육하는 2-5주령의 육계 계군에서 발병이 많은 것으로 보고되었다^{4,6,9,18,19}

분변, 토양, 먼지, 오염된 사료나 깔집 혹은 장내용물에서 분리되는 *Clostridium perfringens*는 오염된 사료^{20,21}나 깔집²²이 주요 감염원인 것으로 여러 발생 사례에서 밝혀졌다.

정상적인 닭의 장관에서도 분리되는 *Clostridium perfringens*는 섬유질이 많은 깔집²³, 곡시듬 감염^{24,26} 등 장 점막을 손상시키는 요인이 있을 때 급격히 증식하여 독소를 생성함에 따라 괴사성 장염을 유발한다고 하였다. 또한 어분^{6,23}이나 밀²⁷성분이 많은 사료를 급여할 때도 발병 가능성이 높아진다고 하였다.

닭의 괴사성 장염이 평사사육 계군에서 많이 발병하여 피해를 입는 것은 일단 발병시 분변을 통해 다량의 원인균이 배출되어 동거감염을 일으키게 되고 이들 세균이 생성하는 독소에 의해 많은 수의 개체들이 폐사하는 것으로 사료된다.

닭의 괴사성 장염은 *Clostridium perfringens* type A^{7,23,28,29} 혹은 *Clostridium perfringens* type C에 의해 유발되는데 α 독소는 A형, C형 모두에서 산생되며 β 독소는 C형에서만 산생되는 것으로 알려져 있다.

철면조에서는 주로 *Clostridium perfringens*에 의해 케양성 장염이 발병하는데 장에서의 특징적인 케양과 함께 간의 괴사, 비장의 종대 및 출혈이 주요 병변으로 나타나는 반면, 닭에서의 *Clostridium perfringens*에 의한 괴사성 장염의 경우에는 감염부위가 대개 공장과 회장에 국한되며 맹장이나 간에서는 병변을 보기 어려운 것으로 알려져 있다⁵. 그러나 본 조사에서는 괴사성 장염이 발생된 개체에서 장관 병변과 함께 간에서도 현저한 병변을 볼 수 있었으며, 이는 세균이 문맥을 따라 장관으로부터 간장으로 이행하여 감염된 것으로 사료된다. 장과 간에서 *Clostridium perfringens*가 분리된 개체의 장 점막에서 다수의 *Clostridium perfringens*가 관찰될 뿐만 아니라 간 실질에서도 많은 수의 균체를 확인할 수 있었다.

닭에서 분리한 *Clostridium perfringens*는 주로 철면조에서 케양성 장염을 일으키는 *Clostridium colinum*과 몇 가지 생화학적 성상을 통해서도 구별되는데 운동성, 유당, 포도당 및 galactose의 분해능, r-CAMP test, lecithinase 생성 유무등에서 차이를 보인다. 본 실험에서 시험한 분리주는 모두 *Clostridium perfringens*인 것으

로 나타났다.

CAMP 시험법은 Group B hemolytic Streptococci의 同定시험에 활용하고 있으나 *Clostridium perfringens*의 同定시험 목적으로 reverse CAMP 시험법을 활용하고 있다¹⁵. 본 실험에서 분리주에 대한 reverse CAMP 시험을 실시한 결과 모두 양성반응을 보였다.

Gusbach¹⁶는 Clostridia속군의 phospholipase C activity를 확인하고자 egg yolk agar plate에 가검균을 접종하여 95.5% 이상 백탁대가 형성됨을 보고하였다. 본 실험에서는 분리주를 egg yolk agar plate에서 배양하였을 때 12주 모두 집락주위에 백탁대가 형성됨을 확인하였다.

*Clostridium perfringens*의 약제감수성 시험 결과 penicillin, ampicillin, carbenicillin, cephalothin 등에 감수성이 우수하다고 알려져 있다^{30,31}.

본 실험에서도 분리주 12주의 항균제에 대한 감수성은 ampicillin, baytril, cephalothin, penicillin에 민감한 것으로 나타났다.

결 론

닭에서 괴사성 腸炎의 발생 사례를 조사하고, 괴사성 장염의 육안 병변 및 병리조직학적 소견을 관찰하였으며, 원인균인 *Clostridium perfringens*를 분리하여 생화학적 성상 및 각종 항균제에 대한 감수성을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 닭의 괴사성 장염은 모두 평사사육 계군에서 발생하였으며, 케이지사육 계군에서는 개체별로는 관찰되거나 집단적인 발병 사례는 없었다. 또한 곡시듬증, 감로병과 함께 발생하는 경우가 많았으며, 대부분 2-3주 후에 재발병하는 양상을 보였다.

2. 본 병의 임상증상은 원기소실, 혈액 섞인 설사, 깃털 불량과 함께 수시간내 폐사하는 급성경과를 보였다.

3. 분리균은 2중 용혈성, reverse CAMP 양성, LV precipitate 반응시 집락주위 백탁대를 형성하는 특징을 보였다.

4. 육안 병변은 주로 장과 간장에서 관찰되었으며, 장 점막의 비후, 장 출혈 및 점막면에 두터운 위막의 형성이 특징이었으며 간의 종창과 다양한 크기의 괴사 반점의 소견도 관찰되었다.

5. 병리조직학적으로는 장용모의 괴사탈락과 더불어 용모의 점막면에 많은 수의 균체가 부착되어 있었으며, 간장에서는 간균의 집락소를 중심으로 주변의 간세포가 넓게 괴사되어 있었다.

6. 분리한 *Clostridium perfringens* 12株의 각종 항균제에 대한 감수성은 ampicillin, baytril, cephalothin,

penicillin등에 감수성이 우수하였다.

Legends for figures

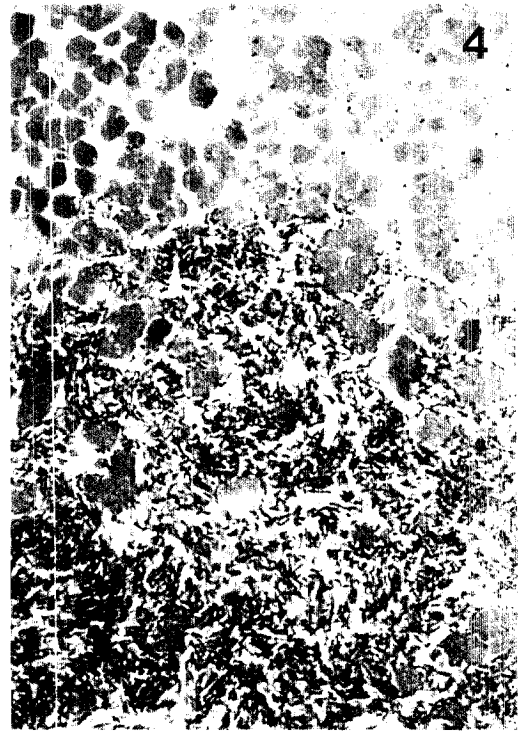
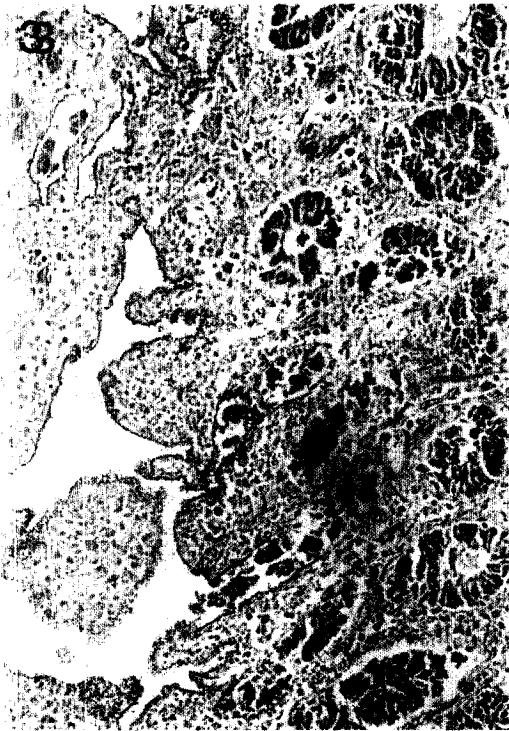
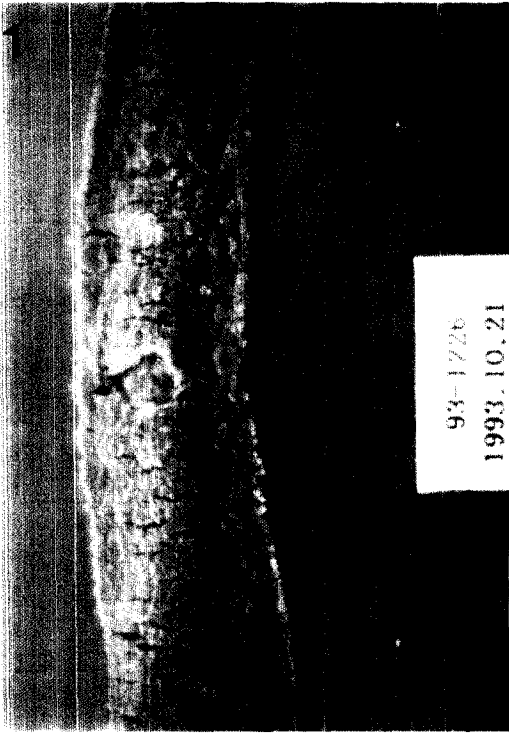
- Fig 1. Gross lesion of small intestine of a broiler affected with necrotic enteritis. Note thick pseudomembrane of mucosal surface of whole jejunum.
- Fig 2. Gross lesion of liver infected with *Clostridium perfringens*. Note sharply demarcated numerous necrotic foci.
- Fig 3. Microscopic findings of intestine from a chicken affected with necrotic enteritis. Note brush hair-like Gram-positive bacilli on the mucosal surface of villi. H & E, $\times 200$.
- Fig 4. Microscopic findings of liver infected with *Clostridium perfringens*. Note numerous Gram-positive bacilli surrounded by necrotic liver cells. H & E, $\times 530$.

참고 문헌

1. Parish WE. Necrotic enteritis in the fowl(*Gallus gallus domesticus*). I. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *J Comp Pathol* 1961; 71: 377-393.
2. Parish WE. Necrotic enteritis in the fowl. II. Examination of the causal *Clostridium welchii*. *J Comp Pathol* 1961; 71: 394-404.
3. Parish WE. Necrotic enteritis in the fowl. III. The experimental disease. *J Comp Pathol* 1961; 71: 405-413.
4. Gardiner MR. Clostridial infection in poultry on western Australia. *Aust Vet J* 1967; 43: 359-360.
5. Ficken MD. Necrotic enteritis. In: Calnek BW et al. *Disease of Poultry 9th ed*. Ames: Iowa State University Press, 1991; 264-267.
6. Johnson DC, Pinedo C. Gizzard erosion and ulceration in Peru broilers. *Avian Dis* 1971; 15: 835-837.
7. Long JR. Necrotic enteritis in broiler chickens. I. A review of the literature and the prevalence of the disease in Ontario. *Can J Comp Med* 1973; 37: 302-308.
8. Morch J. Necrotic enteritis in broilers in Denmark. *Proc 15th World's Poult Congr Expo* 1974; 290-292.
9. Tsai SS, Tung MC. An outbreak of necrotic enteritis in broiler chickens. *J Chin Soc Vet Sci* 1981; 7: 13-17.
10. 예재길, 박경윤, 조성근. 國內 돼지의 *Clostridium perfringens* type C 감염증에 관한 연구. *大韓獸醫學*

會誌 1993; 33: 419-427.

11. 曹性根, 金鍾琰, 朴政文. 仔豚의 *Clostridium perfringens* 感染症에 관한 調査 研究. *農試論文集(家畜衛生篇)* 1991; 33: 25-31.
12. 曹性根, 金鍾琰, 朴政文. *Colstridium perfringens*에 의한 송아지의 腸毒血症에 관한 研究. *韓國獸醫公衆保健學會誌* 1990; 14: 255-263.
13. Hogh P. Necrotizing infectious enteritis in piglets, caused by *Clostridium perfringens* type C. I. Biochemical and toxigenic properties of the *Clostridium*. *Acta Vet Scand* 1967; 8: 26-38.
14. Hogh P. Necrotizing infectious enteritis in piglets, caused by *Clostridium perfringens* type C. IV. Bacteriological diagnosis. *Acta Vet Scand* 1969; 10: 84-100.
15. Hansen MV, Elliott LP. New presumptive identification test for *Clostridium perfringens*: Reverse CAMP test. *J Clin Microbiol* 1980; 12: 617-619.
16. Gubash SM. Improved egg yolk agar plate medium for the detection of clostridial phospholipase C activity. *Res Microbiol* 1991; 142: 87-93.
17. Rood JI, Maher EA, Somers EB, et al. Isolation and characterization of multiply antibiotic resistant *Clostridium perfringens* strains from porcine feces. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1978; 13: 871-880.
18. Bains BS. Necrotic enteritis of chickens. *Aust Vet J* 1968; 44: 40.
19. Bernier G, Filion R. Necrotic enteritis in broiler chickens. *J Am Vet Med Assoc* 1971; 158: 1896-



- 1897.
20. Char NL, Khan DI, Rao MRK, et al. A rare occurrence of clostridial infection in poultry. *Poult Adviser* 1986; 19: 59-62.
 21. Frame DD, Bickford AA. An outbreak of coccidiosis and necrotic enteritis in 16-week-old cage-reared layer replacement pullets. *Avian Dis* 1986; 30: 601-602.
 22. Wicker DL, Isgrigg WN, Trammell JH, et al. The control and prevention of necrotic enteritis in broilers with zinc bacitracin. *Poult Sci* 1977; 56: 1229-1231.
 23. Truscott RB, Al-Sheikhly. Reproduction and treatment of necrotic enteritis in broilers. *Am J Vet Res* 197; 38: 857-861.
 24. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis* 1977; 21; 230-240.
 25. Helmboldt CF, Bryant ES. The pathology of necrotic enteritis in domestic fowl. *Avians Dis* 1971; 15: 775-780.
 26. Shane SM, Koetting DG, Harrington KS. The occurrence of *Clostridium perfringens* in the intestine of chicks. *Avian Dis* 1984; 28: 1120-1124.
 27. Chakraborty GC, Chakraborty D, Bhattacharyya D, et al. Necrotic enteritis in West Bangal. *Indian J Comp Microbiol Immunol Dis* 1984; 5: 54-57.
 28. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of crude toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis* 1977; 21: 241-255.
 29. Wijewanta EA, Seneviratna P. Bacteriological studies of fatal *Clostridium perfringens* type-A infection in chickens. *Avian Dis* 1971; 15: 654-661.
 30. Martin WJ, Gardner M, Washington JA. *In vitro* antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolates from clinical specimens. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1972; 1: 148-158.
 31. Appelbaum PC, Chatterton SA. Susceptibility of anaerobic bacteria to ten antimicrobial agents. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 1978; 14: 371-376.
-