

육계에서 괴사성 장염의 최근 연구 동향

이경우*

건국대학교 동물자원과학과

Recent development on controlling necrotic enteritis in poultry

Kyung-Woo Lee*

Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul 05029, Korea

Received: Apr 10, 2024
Revised: May 2, 2024
Accepted: May 9, 2024

*Corresponding author

Kyung-Woo Lee
Department of Animal Science and
Technology, Konkuk University,
Seoul 05029, Korea
Tel: +82-2-450-0495
E-mail: kyungwoolee@konkuk.ac.krCopyright © 2024 Korean Society of
Animal Science and Technology.
This is an Open Access article
distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution
Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)
which permits unrestricted
non-commercial use, distribution,
and reproduction in any medium,
provided the original work is properly
cited.

ORCID

Kyung-Woo Lee
<https://orcid.org/0000-0002-3533-7979>

Competing interests

No potential conflict of interest
relevant to this article was reported.

Funding sources

Not applicable.

Acknowledgements

Not applicable.

Abstract

Necrotic enteritis (NE) is a devastating enteric disease caused by *Clostridium perfringens* type A/G that impacts global poultry industry by compromising the performance, health, and welfare of the chickens. It is reported that a major contributing factor to NE is known to be pre-exposure to *Eimeria* spp. Earlier studies showed that NE pathogenesis was initially believed to be facilitated by α -toxin, a chromosome-encoded phospholipase C enzyme. However, recent studies have indicated that NE B-like (NetB) toxin, a plasmid-encoded pore-forming heptameric protein, as the primary virulence factor. Since the discovery of NetB toxin, the occurrence of NetB positive *C. perfringens* strains in NE-afflicted poultry flocks has been reported globally. It is now accepted that NetB toxin is primary virulent factor in NE pathogenesis. Because of the complex nature of the host-pathogen interaction in NE pathogenesis, the interaction of NetB with other potential virulent factors secreted from *C. perfringens* need better characterization. This short review will summarize the primary virulence factors involved in NE pathogenesis with an emphasis on NetB toxin and its detection in biological samples from NE-afflicted broiler flocks.

Keywords: Broiler chickens, Necrotic enteritis, Pathogenesis

서론

2050년 세계인구는 98억 명에 이를 것으로 추측하고 있으며, 이러한 인구증가는 필연적으로 충분한 식량자원 확보를 전제로 하고 있다[1]. 흔히 식량안보로 언급되는 식량은 충분하게 확보되었으며, 앞으로 인구증가에 따른 수요 증가를 감당할 수 있는가를 고민할 필요가 있는 부분이다. 하지만, 실상은 그렇지 못한 것이 현실이다. 국제연합식량농업기구인 FAO(Food and Agriculture Organization)에 따르면 2017년 기준으로 영양부족을 겪는 사람은 8억 명으로 세계인구의 약 11%에 달하고 있다. 전 지구적인 식량부족은 충분치 못한 식량 섭취를 통한 체중감소와 영양소 결핍되거나 고열량의 저급 식량 섭취로 과체중과 비만도 함께 증가하고 있다. 고른 영양섭취는 인간이 건강한 삶을 살아가는 데 필수적이며, 고기, 계란과 우유 등 양질의 동물성 단백질을 공급하는 축산산업의 중요성이 커지는 이유도 여기에 있다. 축산물 수요는 계속 증가했으며,

Availability of data and material

Upon reasonable request, the datasets of this study can be available from the corresponding author.

Authors' contributions

The article is prepared by a single author.

Ethics approval and consent to participate

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

앞으로도 더욱 그러할 것은 자명한 사실이다. 그렇다면 축산업의 큰 축을 담당하는 양계산업은 어떻게 미래를 준비해야 할 것인가? 미래 가금 산업은 인류가 절실히 필요로 하는 닭고기와 계란을 충분히 공급할 수 있는 역량이 필요한 시점이다. 이러한 역량에는 불필요하게 생산과정에서 발생하는 생산성 저하 요인을 선제적으로 파악하고, 문제점을 해결하기 위한 영양 또는 환경조절 전략을 활용하여 생산성을 최대로 유지하는 것이 중요하다고 할 수 있다.

육계는 짧은 기간에 출하하기에 생산 효율을 높이기 위해서는 골격과 내부장기의 원활한 발달이 중요하다. 특히, 최근에는 영양소의 소화 및 흡수를 담당하는 위장관의 환경이 중요하게 간주되고 있다. 육계의 괴사성 장염은 장 건강과 관련하여 흔하게 언급되는 질병이다[2]. 특히 전 세계 가금 생산 과정에서 사료 내 항생제 사용 금지로 가금산업에서 발생이 다시 증가하는 경제성 질병이라 할 수 있다. 현재 괴사성 장염 해결을 위하여 추진하는 연구 방향은 크게 두 가지 방향으로 첫 번째는 장염 질병 모델을 활용하여 장염에 효과적인 사료첨가제 개발이며, 두 번째는 장염 원인균의 환경 분포 연구와 진단법 개발로 요약할 수 있다. 본 자료에서 최근 원인균의 특신 진단법 개발을 포함하여 괴사성 장염의 최근 연구 결과에 대하여 요약하였다.

괴사성 장염

괴사성 장염(necrotic enteritis)은 주로 육계에서 클로스트리듐 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)균이 생성하는 독소에 의해 장 상피세포가 파괴되어 소장 등에 괴사성 병변이 발생하는 질병이다[3]. 괴사성 질병은 주로 2-6주령에서 주로 발생하며, 폐사를 동반하는 임상형과 체중 감소 등 생산성이 떨어지는 준임상형 두 가지 형태가 주로 보고되고 있다. 육계 산업에서는 증체 및 사료효율 등 생산성이 떨어지는 준임상형 괴사성 장염이 농가의 이익을 떨어뜨리는 큰 요인으로 작용하고 있다. 닭의 폐사 또는 장염 발생에 따른 항생제 사용 등 괴사성 장염에 따른 직접적인 경제적 손실은 대략 매년 3조원에서 7조억 원으로 추산되고 있다[4,5]. 하지만 닭고기와 계란 소비가 증감함에 따른 가금 산업 확장이 예상됨에 따라서 이러한 괴사성 장염 발생에 따른 손실도 함께 증가될 것으로 전망되고 있다. 비록 괴사성 장염에 대한 보고와 연구가 육계에 집중되고 있지만, 종계 및 케이지에서 사육되는 산란계에서도 발생이 보고되고 있다[6].

육계는 대부분 깔짚에서 사육되며, 출하 기간이 짧은 특징으로 장 건강이 쉽게 나빠질 수 있으므로 상대적으로 육계의 어린 연령에서 주로 발생하고 있다. 괴사성 장염은 계군 내에서 급성으로 발생하며 계군의 폐사율이 증가하는 특징이 있다. Fig. 1은 괴사성 장염에 걸린 닭의 소장에 발생하는 병변을 나타낸다[2]. 이러한 괴사성 장염의 병변의 그 원인균의 특징을 이해하면 쉽게 이해할 수 있다.

괴사성 장염 원인균

클로스트리듐 퍼프린젠스균(*C. perfringens*)은 운동성이 없는 혐기균으로 그람 양성균이며 동물의 장내 균총을 비롯하여 토양 등 자연에 널리 분포하고 있다[3]. 현재까지 최소 20개 이상의 특신을 분비하는 것으로 알려져 있으며, 최적 환경에서 균의 세대시간은 8-12분으로 빠른 성장 특성을 나타낸다[2]. 이러한 빠른 성장 특성은 농장에서 괴사성 장염의 임상증상이 급격하게 진행되는 것과 상관이 있는 것으로 알려져 있다. 즉, 폭시독 감염, 면역 저하, 저급 사료 등 클로스트리듐 퍼프린젠스균의 성장에 이상적인 환경하에서 균이 폭발적으로 증식하여 장염이 유발될 수 있다[3]. 일반적으로 퍼프린젠스균은 성장촉진제와 같은 사료 내 항생제 사용으로 쉽게

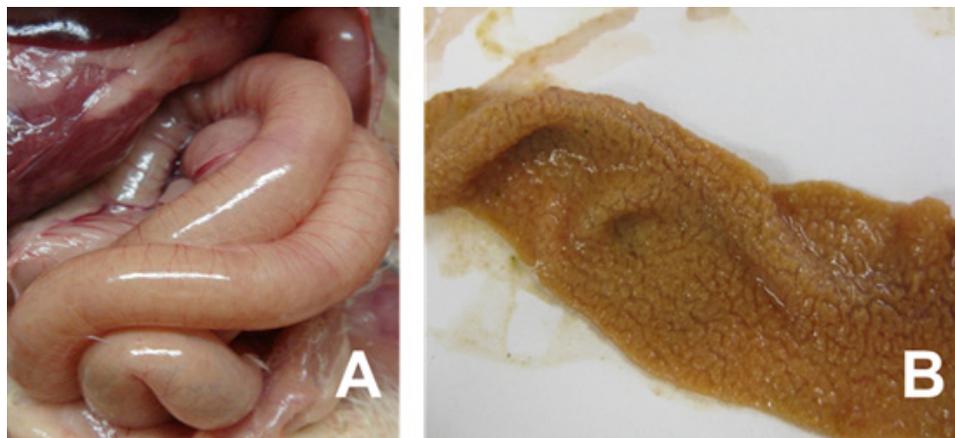


Fig. 1. Gross lesion in necrotic enteritis-affected small intestine. Panel A shows friable and dilated small intestine filled with gas. Panel B indicates jejunal mucosal exhibiting typical yellow pseudo-membrane often called as Turkish towel appearance. Adapted from Lee et al. [2] with CC-BY.

조절됐으나, 무항생제 생산방식으로 육계 산업에서 다시 발생이 증가하는 질병이다.

클로스트리움 퍼프린젠스균은 독신 6종의 분비 여부에 따라서 7종류로 분류하고 있다[2]. 가급에서 주로 문제를 일으키는 세균은 A와 G형이 주로 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 하지만 퍼프린젠스균이 분비하는 독신은 현재까지도 모두 알려지지 않고 병원성을 나타내는 독신이 추가로 발견될 수 있기에 Table 1에 제시한 분류는 언제든지 새롭게 개정될 수 있다.

NetB 독신

괴사성 장염의 원인균은 클로스트리움 퍼프린젠스균 G 유형으로 NetB 독신을 분비하는 특성이 있다. NetB 독신은 necrotic enteritis toxin beta-like의 약자로서 약 85-kb 크기의 플라스미드에 포함되어 있으며, 33-kDa의 독신 단백질 크기를 가지고 있다[7]. 특히 NetB 독신은 닭의 세포에 세포독성을 나타내며 1.6-1.8 nm의 구멍을 뚫어 괴사 병변을 일으키게 된다[8]. 퍼프린젠스균과 같은 병원성 세균은 숙주동물의 세포막에 구멍을 뚫어 세포 괴사를 일으키지만, 세균 측면에서는 증식에 꼭 필요한 아미노산과 같은 필수영양소를 얻는 수단이기도 하다.

NetB 독신은 퍼프린젠스균 G 유형이 분비하는 독신으로 2008년도에 호주에서 처음 보고된 이래로 괴사성 장염에서 NetB 독신이 자주 언급되고 있다[8]. 그렇다면 농장에서 NetB 독신을

Table 1. Toxin-based classification of *Clostridium perfringens*

Type	α -Toxin	β -Toxin	ϵ -Toxin	ι -Toxin	CPE	NetB
A	+	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	±	-
D	+	-	+	-	±	-
E	+	-	-	+	±	-
F	+	-	-	-	+	-
G	+	-	-	-	-	+

CPE, *Clostridium perfringens* enterotoxin; NetB, necrotic enteritis beta-like toxin.

가지고 있는 퍼프린젠스균의 오염 정도는 어떻게 될까? 즉, 퍼프린젠스균은 자연에 널리 존재하지만, 농장 환경에서 NetB 독신을 포함하고 있는 퍼프린젠스균 G 유형이 없다면 농장 내 괴사성 장염 발생이 없거나 낮을 확률이 높다.

퍼프린젠스균의 독신 유형을 알기 위해서는 우선 농장 등 환경에 존재하는 퍼프린젠스균을 실험실에서 분리해야 한다. 그 다음에 중합효소연쇄반응법(polymerase chain reaction, PCR)으로 분리한 세균의 DNA에서 Table 1에서 제시한 NetB와 같은 독신 분석을 통해 최종적으로 확인하는 복잡한 절차를 거치게 된다.

국가별 괴사성 장염 발생률

Fig. 2는 2010년도부터 2018년까지 괴사성 장염이 발생한 농장에서 NetB 독신을 분비할 수 있는 클로스트리움 퍼프린젠스균의 양성률을 정리한 자료이다[2]. 괴사성 장염이 발생한 농장에서 육계의 장 내용물 또는 분변에서 균을 분리하여 NetB 독신이 있는지를 조사한 연구로써, 나라마다 차이는 있지만 대부분 50% 이상의 높은 양성률을 나타내고 있다. 즉, 괴사성 장염이 걸린 닭에서 NetB 독신을 가진 균이 분리될 확률이 아주 높다는 의미로, netB 독신이 괴사성 장염 발달에 상당한 역할을 담당하는 것으로 이해될 수 있다.

2015년도 국내에서 보고한 자료에 따르면 17주의 괴사성 장염 증상을 가진 육계에서 분리한 퍼프린젠스균에서 8개 균주에서 NetB 독신 양성균이 발견되어 47% 양성률을 나타내었다[9].

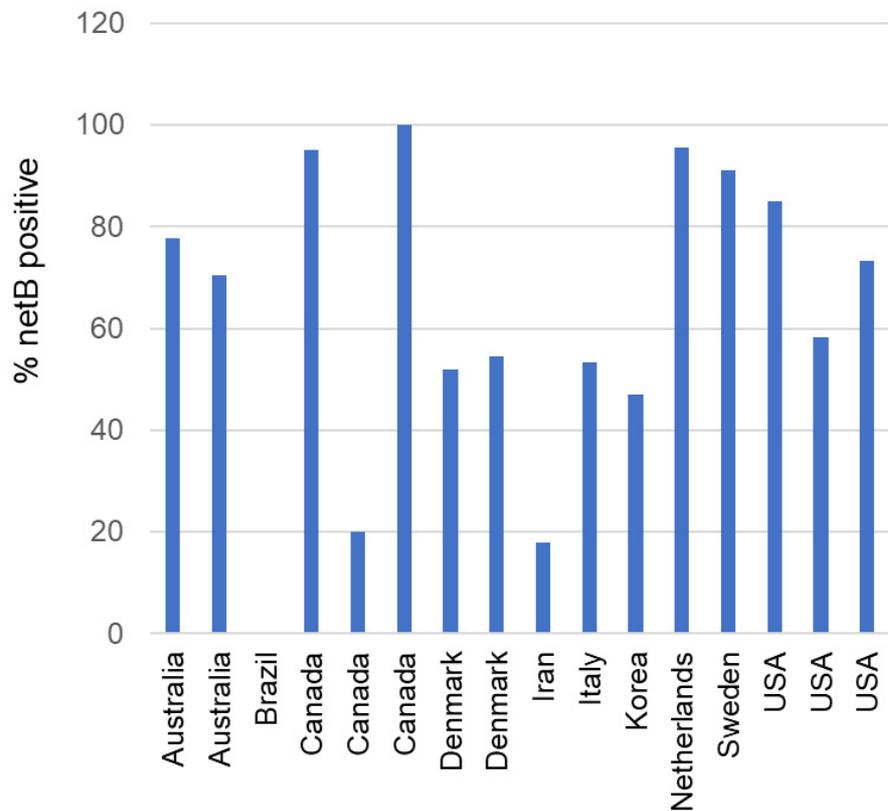


Fig. 2. Prevalence of necrotic enteritis B-like toxin gene in *Clostridium perfringens* G isolates from retail chicken meats or chickens afflicted with or without clinical or subclinical NE. Adapted from Lee et al. [2] with CC-BY.

흥미로운 사실은 2018년도 발표한 보고서에 따르면 국내 소매점에서 판매하고 있는 닭고기에서도 NetB 독신을 가진 퍼프린젠스균이 분리되었다고 보고된 바 있다[10]. 이러한 결과를 바탕으로 안전한 가금 산물을 생산하기 위해서는 농장 단계에서 퍼프린젠스균을 낮출 수 있는 전략 도입이 시급하다고 할 수 있다.

괴사성 장염의 영양학적 조절 전략

괴사성 장염은 병원성 클로스트리움 퍼프린젠스균과 다양한 영양·환경요인이 복합적으로 작용하여 발생하는 질병이다[11]. 궁극적으로 육계 산업에서 무항생제 생산방식에서 병원성 클로스트리움 퍼프린젠스균을 어떻게 효과적으로 저해할지가 가장 큰 관문이라 할 수 있다. 육계의 괴사성 장염과 콕시듐증은 장 건강에 심각한 문제를 유발하며 생산성을 떨어뜨리는 대표적인 질병으로 농가에서 꼭 해결이 필요한 질병으로 인식되는 질병이다. 특히 깔짚에서 사육하는 육계는 쉽게 퍼프린젠스균과 콕시듐 원충에 노출되어 있기에 이에 대한 세심한 배려가 필요하다고 할 수 있다. 미국과 달리 국내에서는 깔짚을 재활용하지는 않지만, 향후 축산분야에서 환경부하(즉, 분뇨문제)에 따른 깔짚의 재활용 여부와 퍼프린젠스균이 사육 환경에 흔하게 발견되는 특성을 고려한다면 쉽게 질병을 예방할 수는 없을 것으로 예상된다. 현재까지 환경·영양학적 접근법으로 퍼프린젠스균에 효과적인 첨가제를 사료에 첨가하거나 사육 환경에 살포하여 병원균의 수준을 낮추는 시도를 하고 있지만, 아직 더 많은 연구가 필요한 실정이다.

현재까지 수행된 연구에 따르면, 괴사성 장염의 영양학적 조절 전략은 특이 병변과 같이 장염 발생에 직접적으로 영향에 미치는 요인별 대응으로 구분될 수 있다. Fig. 3에 제시하였듯이 괴사성 장염은 콕시듐 원충의 감염에 따른 상피세포의 탈락으로 염증반응과 뮤신 등 장강(lumen)으로 단백질 분비가 증가하고, 여기에 클로스트리움 퍼프린젠스균의 폭발적인 증가로 독신 분비가

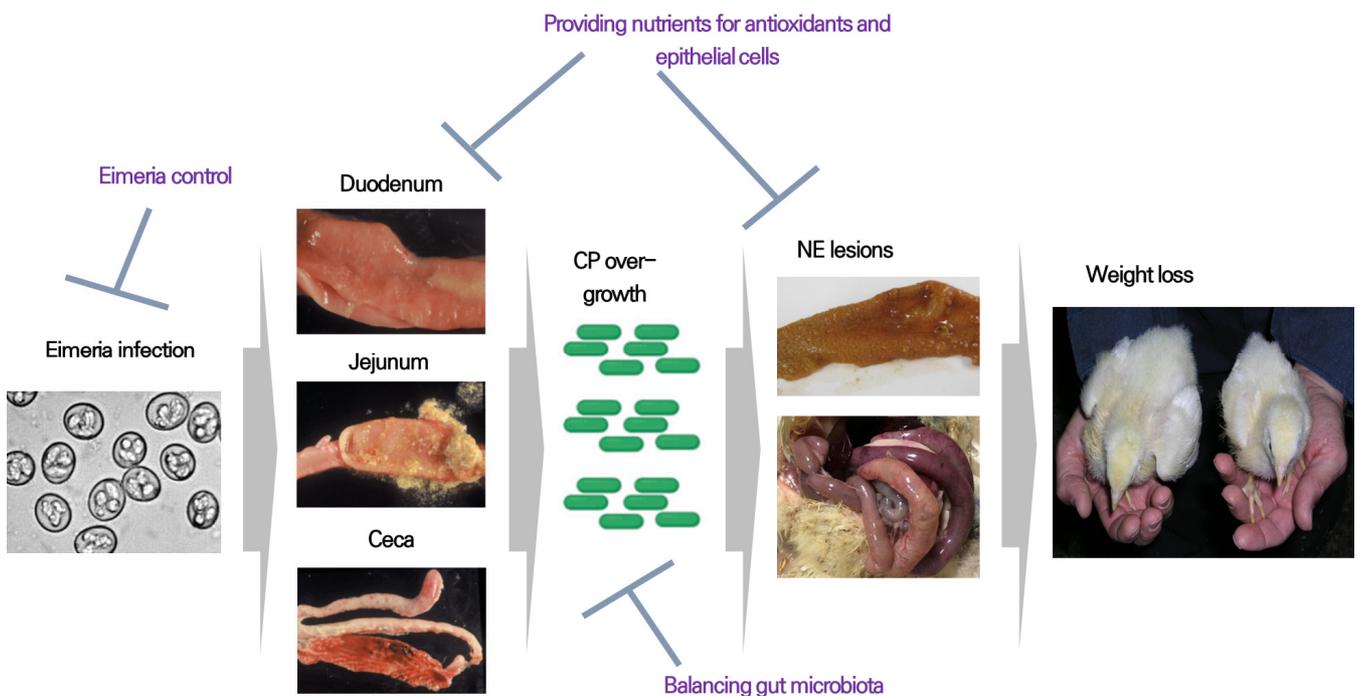


Fig. 3. Nutritional strategies controlling necrotic enteritis in broiler chickens.

증가하여 독신에 따른 괴사성 장염 특이 병변을 일으켜 생산성을 감소시키게 된다. 따라서, 영양학적 조절 전략은 괴사성 장염의 진행 단계를 억제하거나 장염에 따른 염증 또는 괴사 병변을 완화시키는 전략을 취하고 있다고 볼 수 있다. 콕시듐 감염은 백신 또는 항콕시듐제 등과 같이 물리적으로 낮추거나 천연 항콕시듐제와 같은 면역 조절 전략을 활용한 방법은 이미 보고된 바 있다. 또한, 괴사성 장염의 원인체인 클로스트리움 퍼프린젠스균에 특이적인 항균 물질을 사용하거나 장내 미생물 균총을 조절하는 첨가제의 효능이 보고되고 있다. 마지막으로, 콕시듐과 괴사성 장염 특이적인 병변을 낮추는 항산화제 역시 최근에 보고되고 있다. 비록 다양한 영양학적 접근법을 통해 괴사성 장염을 억제하려는 시도는 있지만, 아직까지 항콕시듐과 항생제와 같은 화학제제와 동등한 효과를 나타내고 있지는 않을 것으로 알려져 있다. 따라서, 장건강에 효율적인 다양한 사료첨가제의 조합으로 육계에서 괴사성 장염을 낮출 수 있는 시도가 필요한 시점이다.

괴사성 장염의 최근 연구 방향

최근 미국 농업연구청 연구에서는 퍼프린젠스균이 NetB 독신을 가지고 있더라도 이상적인 배양조건에서 NetB 단백질이 분비되지 않았다는 결과를 발표하였다[12]. 총 19개 균주의 독신 유전자와 단백질 분비량 조사를 통해 회귀계수가 +0.901로 높게 조사되었다. 이러한 연구 결과가 시사하는 바는 장염 병변을 일으키는 퍼프린젠스균 G 유형의 독신 분비 능력은 병원균마다 차이가 있음을 암시하는 것이다. 따라서 단순히 NetB 독신을 분비하는 유전정보를 균이 갖고 있더라도 장염을 일으키지 않을 수 있다는 것을 의미하는 결과로써, 괴사성 장염 연구에서 원인균의 특성 규명에 있어서 질병 발생에 중요한 역할을 하는 독신 단백질의 정량 필요성을 제시한 연구라고 할 수 있다. 이러한 연구결과를 바탕으로 최근에는 NetB 독신을 검출하는 효소결합면역흡착검사법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)을 개발하여 현장 적용 가능성을 평가한 논문이 보고되었다. 분변 또는 깔짚과 같은 환경 시료나 닭의 혈액에서 괴사성 장염 감염 후 독신 발생량을 실시간으로 검출할 수 있는 것으로 알려져 있다[13]. 또한, 괴사성 장염의 병변과 독신 단백질의 상관 분석에서 +0.527 정도의 상관성을 나타내었다. 이러한 결과는 독신 단백질 이외에 다른 요인도 질병 발생에 관여하는 것을 의미한다고 할 수 있겠다. 결과적으로 독신 단백질 진단 ELISA 개발과 원인균의 연구는 다양한 환경 시료나 혈액 샘플을 이용하여 질병에 취약한 계군의 건강 모니터링을 통해서 괴사성 장염 발생을 조기에 탐지할 수 있는 결과라는 측면으로 그 의의가 있다고 할 수 있겠다. 향후 신속 진단법을 농장 수준에서 적용하여 농장의 질병 발생 정도와 다양한 영양학적 조절 전략의 효능을 평가하는 데 과학적인 분석법으로 활용이 가능할 것으로 보인다.

결론

소비자의 무항생제 닭고기 선호와 더불어 지속 가능한 축산에서 환경부하에 따른 깔짚 재활용이 필수조건으로 생산방식이 변하게 된다면 콕시듐과 괴사성 장염과 같은 장 관련 질병 발생이 증가할 것이며, 결과적으로 육계 생산 효율에 미치는 영향이 상당할 것이다. 아직 외국과 비교하여 국내에서는 콕시듐과 괴사성 장염 등 장 건강에 관한 대응 연구는 미비하다고 할 수 있다. 따라서 괴사성 장염 질병 모델을 이용한 첨가제 개발 연구와 사육 환경 내 퍼프린젠스균 또는 독신 자체의 분포 조사를 통한 계군의 건강모니터링 조사가 필요하다고 할 수 있다.

REFERENCES

1. Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, et al. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*. 2010;327:812-8. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>
2. Lee KW, Lillehoj HS. Role of *Clostridium perfringens* necrotic enteritis B-like toxin in disease pathogenesis. *Vaccines*. 2021;10:61. <https://doi.org/10.3390/vaccines10010061>
3. Lee KW, Lillehoj HS, Jeong W, Jeoung HY, An DJ. Avian necrotic enteritis: experimental models, host immunity, pathogenesis, risk factors, and vaccine development. *Poult Sci*. 2011;90:1381-90. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01319>
4. Kaldhusdal M, Lovland A. The economical impact of *Clostridium perfringens* is greater than anticipated. *World Poult*. 2000;16:50-1.
5. Wade B, Keyburn A. The true cost of necrotic enteritis. *World Poult*. 2015;31:16-7.
6. Dhillon AS, Roy P, Lauerman L, Schaberg D, Weber S, Bandli D, et al. High mortality in egg layers as a result of necrotic enteritis. *Avian Dis*. 2004;48:675-80. <https://doi.org/10.1637/7113>
7. Lepp D, Roxas B, Parreira VR, Marri PR, Rosey EL, Gong J, et al. Identification of novel pathogenicity loci in *Clostridium perfringens* strains that cause avian necrotic enteritis. *PLOS ONE*. 2010;5:e10795. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010795>
8. Keyburn AL, Sheedy SA, Ford ME, Williamson MM, Awad MM, Rood JI, et al. Alpha-toxin of *Clostridium perfringens* is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens. *Infect Immun*. 2006;74:6496-500. <https://doi.org/10.1128/IAI.00806-06>
9. Park JY, Kim S, Oh JY, Kim HR, Jang I, Lee HS, et al. Characterization of *Clostridium perfringens* isolates obtained from 2010 to 2012 from chickens with necrotic enteritis in Korea. *Poult Sci*. 2015;94:1158-64. <https://doi.org/10.3382/ps/pev037>
10. Hu WS, Kim H, Koo OK. Molecular genotyping, biofilm formation and antibiotic resistance of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* isolated from meat supplied to school cafeterias in South Korea. *Anaerobe*. 2018;52:115-21. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.06.011>
11. Hofacre CL, Smith JA, Mathis GF. An optimist's view on limiting necrotic enteritis and maintaining broiler gut health and performance in today's marketing, food safety, and regulatory climate. *Poult Sci*. 2018;97:1929-33. <https://doi.org/10.3382/ps/pey082>
12. Lee KW, Kim WH, Li C, Lillehoj HS. Detection of necrotic enteritis B-like toxin secreted by *Clostridium perfringens* using capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis*. 2020;64:490-5. <https://doi.org/10.1637/0005-2086-64.4.490>
13. Lee KW, Lillehoj HS, Kim W, Park I, Li C, Lu M, et al. Research note: first report on the detection of necrotic enteritis (NE) B-like toxin in biological samples from NE-afflicted chickens using capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Poult Sci*. 2021;100:101190. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101190>