

송아지 설사증에 대한 백화사설초와 어성초의 치료 효과

설기양 · 윤영민 · 김병선* · 최귀철* · 이경갑¹

제주대학교 수의학과, *한국마사회

(게재승인: 2007년 9월 28일)

The Therapeutic Effect of *Oldenlandiae Herba* and *Houttuynia Cordata* on Calf Diarrhea

Ki-yang Seul, Young-min Yun, Byung-sun Kim*, Gui-cheol Choi* and Kyoung-kap Lee¹

Department of Veterinary Medicine, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

* Equine Hospital, Korea Racing Association, Gwacheon, 427-711, Korea

Abstract : The purpose of this study was to elucidate the effect of *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* on calf diarrhea in farms. We examined the antibacterial and antiviral effect of *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* extracts *in vitro*. And we divided diarrheal calves into three groups in farm; *Oldenlandiae herba* administration group(10 calves), *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* administration group(10 calves) and control group(7 calves). We estimated the therapeutic effect of the calf diarrhea by using clinical signs, CBC, AST, BUN, creatinine, and measurement of lymphocyte distribution in whole blood. *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* extracts by ethanol(98%) had antibacterial and antiviral effect. In the condition of diarrhea, the fecal condition of *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* group was relieved more than that of others group during experimental period. PCV and fibrinogen concentrations were high in control group. AST and BUN were within normal range in all groups. Administration of *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* was not toxic to the liver and kidney. And *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* extracts also affected the lymphocytes distribution in blood. From these results, we suggested that administration of *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* should be effective on the dairy calf diarrhea in farms.

Key words : *Oldenlandiae herba*, *Houttuyniae cordata*, antibacterial effect, antiviral effect, calf diarrhea.

서 론

송아지 사육농가에 많은 경제적 손실을 일으키는 송아지 설사증은 포유기간 중 최소 1회 이상 발생하며, 높은 이병율(96.7%)과 높은 폐사율(18.3%)이 보고되고 있다(16). 주된 원인체로는 rotavirus, coronavirus, 장독혈성 *E. coli*, *Salmonella* spp.와 *cryptosporidium* 등이 있다(6). 송아지 설사증 치료는 대부분 농가에서 항생제 및 대증요법에 의존하며 자가 치료를 실시함으로써 항생제 남용과 여러 약물의 오용으로 많은 경제적 손실과 국민 보건에 악영향을 미치고 있다. 이를 해결하기 위해서 최근 천연물을 이용한 치료 및 예방에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

백화사설초(*Oldenlandiae herba*)는 꼭두서니과의 1년생 초본으로 ursolic acid, oleanolic acid, β -sitosterol 등의 물질을 함유하고 있으며, 항균, 항염, 항고지혈증 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다(5). 또한 백화사설초의 성분을 분석

한 결과 steroid계 물질이 함유되어 있으며(18), 주요 성분인 ursolic acid와 oleanolic acid는 *staphylococcus aureus*와 *microsporium lenisum*에 대한 항균 효과와 항염증효과(3)가 확인되었다. 민간에서는 요로감염, 맹장염, 급/만성 기관지염 등에 사용하여 왔으며, 항암효과가 탁월한 것으로 알려져 있다(4,8).

어성초(*Houttuyniae cordata*)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로서, 아시아의 동남부와 우리나라의 중부 일부지방, 울릉도, 제주도, 안면도에 자생하는 식물이다(18). 어성초의 잎과 꽃에는 quercitrin, quercetin, reynoutrin, hyperin, aristolactams, isoquercitrin, decanoyl acetaldehyde 등이 함유되어 있으며, 이들 중 quercitrin은 항균작용, 혈관수축작용과 강력한 이뇨작용(11), decanoyl acetaldehyde는 살모넬라성 장염과 같은 그람 음성균에 대한 항균작용, 대장균, 파라티푸스균, 임균, 백선균 등을 살균 및 정균작용이 입증되었다(12).

면역 활성 증가에 관한 논문에서 백화사설초는 B 세포 활성을 증가시키고(14), 어성초는 마우스의 자연 살해세포의 활성 증진, 전신성 아나필락시스 쇼크를 억제시키는 작용과 사람의 B 세포와 T 세포 활성을 증가시킨다는 보고가 있다(9).

¹Corresponding author.
E-mail : leekk@cheju.ac.kr

본 연구에서는 백화사설초와 어성초의 실험실내 항균 및 항바이러스 효과를 조사하고, 임상적으로 설사증이 확인된 송아지를 대상으로 백화사설초와 어성초를 경구 투여하여 설사 완화정도, 혈액학적검사, 혈청화학검사와 림프구 분포 분석을 통해서 설사증에 대한 치료효과를 알아보았다.

재료 및 방법

1. 항균 효과 평가

실험 재료 및 균주 : 백화사설초와 어성초는 (주)RNL Bio에서 제공받았으며, 균주는 *E. coli*(KCTC No. 2441), *E. coli* 0157(ATCC No. 43894), *S. typhimurium*(KCTC No. 2930)과 *S. enteritidis*(KCTC No. 1925)를 수의과학검역원에서 제공받아 사용하였다.

항균 실험 : 각 식물체를 분쇄기를 사용하여 미세하게 분쇄한 후 98%, 75% 및 25% 에탄올 및 증류수(DW)로 침출시킨 후, 상등액을 취하여 여과하고 얻어진 여과액은 진공회전 농축기로 농축하여 동결 건조시켰다. 4종(*E. coli*, *E. coli* 0157, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*)의 세균을 접종한 배지 위에 paper disk를 놓고 각 추출분말을 물에 녹여 30 μ l(ursolic acid 0.4%)씩 투여한 후 37°C에서 24시간 동안 배양시켜 저해 직경을 측정하였다. 동일 실험을 3회 반복하여 항균능을 평가하였다.

2. 항바이러스 효과 평가

항바이러스 실험 : Bovine rotavirus(BRV)는 MA-104 cell, bovine coronavirus (BCV), bovine herpesvirus(BHV) 및 bovine viral diarrhea virus(BVDV)는 MDBK cell을 사용하였다. 각 cell은 96 well microplate에 배양하여, 바이러스 접종 전에 바이러스 감작배지에 희석하였고, 바이러스를 각 well당 추출액 50 μ l씩 접종시켜 2시간동안 혼합기를 이용하여 바이러스를 흡착시켰다. 2배 계단 희석된 백화사설초(ursolic acid 0.4%)와 어성초 추출물을 50 μ l씩 분주하여 37°C에서 4시간 배양하였다. 각 well당 세포유지배지를 50 μ l씩 분주하여 24시간 동안 배양하여 바이러스 억제 효과를

확인하였다.

3. 임상 실험

실험재료 : 실험에 사용한 백화사설초와 어성초는 각각(주)RNL Bio의 백화사설초 추출 분말과 어성초 건조 분말 형태로 제공받아 사용하였다.

실험동물 : 제주도 대단위 목장에서 설사증을 나타내는 1~2주령의 홀스타인 송아지 27마리를 백화사설초 단독 투여군(10두), 백화사설초와 어성초 혼합제 투여군(10두)과 대조군(7두)으로 나누어 실험하였다. 각 군의 송아지들은 모두 개별적으로 사육되었으며, 실험기간 동안 모두 대용유를 급여하였다.

군분류 및 약물 투여방법 : (1) 백화사설초 단독 투여군은 백화사설초 추출 분말(ursolic acid : 0.2%)을 증류수에 녹여 10% 용액으로 만들어 백화사설초 추출 분말 35 mg/kg을 매일 1회 3주 동안 경구투여하였다. (2) 백화사설초와 어성초의 합제 투여군은 백화사설초 추출 분말과 어성초 건조 분말을 혼합하여 증류수에 녹여 10%용액으로 만들어 백화사설초 추출 분말 35 mg/kg과 어성초 건조 분말 1 g/kg을 매일 1회 3주 동안 경구투여하였다. (3) 대조군 : 동일 조건으로 사육하면서 동량의 음수만을 급여하였다.

분변평가 및 혈액 혈청검사 : 분변상태 평가는 설사증 송아지의 설사 정도를 4개 등급으로 나누어 3일 간격으로 분변의 상태를 평가하였다(Table 1).

혈액은 실험전과 약물투여 후 3일 간격으로 3주 동안 정맥에서 10 ml씩 채취하여 혈액검사를 위해 항응고제 tube(3K EDTA, SEWON MEDICAL, Korea)에 2 ml, 나머지는 혈청검사를 위해 plain tube(Becton Dickinson, USA)

Table 1. The grade of diarrhea condition in calf diarrhea

Grade of diarrhea	Condition of feces
0	Normal
1	Slightly diarrhea
2	Diarrhea
3	Watery diarrhea

Table 2. Anti-bacterial effect of *Oldenlandia herba* and *Houttuynia cordata* extracts

		98%	70%	30%	Water
		EtOH	EtOH	EtOH	
<i>E. coli</i>	A	+	-	-	-
	B	+	-	-	-
<i>E. coli</i> 0157	A	+	-	-	-
	B	+	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	A	+	-	-	-
	B	+	-	-	-
<i>S. enteritidis</i>	A	+	-	-	-
	B	+	-	-	-

A : *Oldenlandia herba* B : *Houttuynia cordata*

+ : Inhibitory zone : \geq 2 mm, - : Inhibitory zone : $<$ 2 mm

에 분주하였다. Plain tube에 분주된 혈액은 원심분리기(MF600, Hanil, Korea)를 이용하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 림프구 CD4⁺, CD8a⁺와 CD19⁺ 검사를 위해서는 실험 전, 약물 투여 후 1, 2, 3주에 경정맥에서 5 ml 채혈하였다. 분변은 실험 첫날 채취하여 설사증 원인 검사에 사용하였다.

혈액검사로 PCV는 microhaematocrit 법(Hawksley Co, UK)으로 고속원심분리기(HA-200, Hanil)로 원심분리(12,000 rpm, 5분간)하여 측정하였고, RBC, WBC은 자동혈액 분석기(ABC coulter, Vetcom, Korea)로, 총단백질(TP)과 섬유소원은 굴절계(Atago Co, Japan)로 측정하였다.

혈청검사로 AST활성도, BUN과 creatinine 농도는 AST, BUN, creatinine 측정시약(Bayer Health Care Co, USA)을 이용하여 Express 550/Plus wet type(Chiron, USA)으로 측정하였다.

림프구 분포 분석 : 림프구중 CD4⁺, CD8a⁺와 CD19⁺ 세포 분포를 위해서 EDTA tube에 5 ml의 정맥혈을 채혈하여 원심관에 옮겨 원심분리 한 후(2000 rpm, 10분), Buffy coat 부위를 pasteur pipett으로 최대한 채취하였다. ACK lysis buffer(NH₄Cl 0.15 M, KHCO₃ 10 mM, Na₂ EDTA 0.1 mM, pH 7.2)와 혈액을 동량 혼합하여 1 분 동안 방치하여 적혈구가 용혈시켰다. 13,000 rpm으로 10초 동안 원심분리하여 적혈구가 용혈된 상층액을 제거한 후 PBS로 남은 pellet이 깨끗하게 될 때까지 세척하였다. 남은 pellet을 재부유하여 백혈구가 1×10⁶/μl되도록 조정하였다. 백혈구가 1×10⁶/μl이 되도록 E-tube에 각각 넣었다. FSS(FACS staining solution; FBS 5%, sodium azide 0.1%, in PBS)를 첨가하여 다시 혼합 후 13,000 rpm에서 10초간 원심분리하여 상층

액을 버린 후 남은 pellet과 용액(약 100 μl 정도 상층액)을 재부유시켰다. 각각의 림프구 특이 단클론 항체(anti-mouse bovine CD4⁺, CD8a⁺와 CD19⁺(VMRD, Inc)를 1 μl씩 첨가시킨 후 혼합하였다. 4°C에서 30분간 배양 후, FSS 700 μl를 첨가하고 혼합하여 원심분리하였다. 위 과정을 2회 반복하여 1차 항체를 제거하였다. 마지막 원심분리 후 상층액을 제거하고 남은 pellet을 재부유시킨 후, fluorescein isothiocyanate (FITC)가 부착된 goat anti-mouse IgG(2차 단클론항체(Jackson Immunoresearch, USA) 1 μl을 첨가하고 혼합시켰다. 4°C에서 30분간 배양하였다. FSS 700 μl를 첨가하고 잘 혼합한 후 원심 분리하였다. 위 과정을 2회 반복하여 2차 항체를 제거한 후, 마지막 원심 후 상층액을 제거하고 남은 pellet을 재부유시켰다. Sample당 고정액(1% paraformaldehyde in

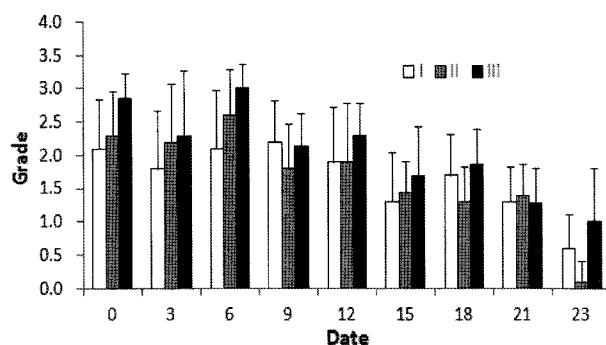


Fig 1. The changes of diarrhea grade in each group during treatment. I : *Oldenlandia herba* extract administration group, II : *Oldenlandia herba* and *Houttuynia cordata* extract administration group, III : control group

Table 3. Anti-viral effect of *Oldenlandia herba* and *Houttuynia cordata* extract

	Extract	BRV ¹⁾	BCV ²⁾	BVDV ³⁾
<i>Oldenlandia herba</i>	EtOH 98%	1280*	640	320
	EtOH 30%	640	320	320
	Water	320	320	160
<i>Houttuynia cordata</i>	EtOH 98%	640	320	160
	EtOH 30%	640	640	160
	Water	640	640	160

¹⁾BRV : Bovine rotavirus, ²⁾BCV : Bovine coronavirus, ³⁾BVDV : Bovine viral diarrhea virus
* ; dilution ratio of extract (0.4 % solution) (serial dilution : 2^x)

Table 4. Cause of calf diarrhea in Jeju farms

Group	No. of Head	Cause of diarrhea(head)		
		Bacteria	Virus	Parasite
I	10	9	1	1
II	10	10	0	0
III	7	7	0	1

Bacteria ; *E. coli*, Virus ; Coronavirus, Parasite ; Coccidium

I : *Oldenlandia herba* extract administration group

II : *Oldenlandia herba* and *Houttuynia cordata* extract administration group

III : control group

다. 처리된 시료는 유동세포분석기(FACS Calibur, BD Bioscience, USA)를 이용하여 분석하였다(1,2,7).

통계처리 : 본 실험에서 얻어진 측정치는 평균±표준편차 나타내었다. 각 군간 유의성은 SAS program Ver 9.1(SAS Institute, Cary, NC)을 이용하여 분산분석(ANOVA) 하였다. 유의성은 5% 유의수준에서 검증하였다.

결 과

항균 효과

백화사설초와 어성초의 98% EtOH 추출물이 4가지 균주 (*E. Coli*, *E. Coli* 0157, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*) 모두에서 항균효과를 나타내었다(Table 2).

항바이러스 효과

백화사설초와 어성초 추출물 ursolic acid 0.4% 기준으로

계단 희석하여 항바이러스 효과를 조사한 결과 백화사설초 98% 에탄올 추출물이 낮은 농도에서도 BRV에 대해서 항바이러스효과를 나타내었으며, 희석배수에 다소 차이를 보였으나 모두가 항바이러스 효과를 나타내었다(Table 3).

송아지 설사 원인

27두의 설사를 보이는 송아지에서 분변을 채취하여 원인을 조사한 결과 Corona virus가 1 두, 원충인 Coccidium이 2 두로 조사되었고, 나머지는 세균에 의한 설사로 확인되었다(Table 4).

송아지 분변 상태

송아지 27 두에 대한 백화사설초와 어성초를 3주 동안 투여한 결과 각 군의 설사 완화정도는 유의적인 차이는 인정되지 않았으나 실험기간 동안 대조군에 비해 백화사설초, 백화사설초와 어성초 합계 투여군에서 설사 완화정도가 경미

Table 5. The changes of hematological value before and after *Oldenlandia herba*, *Houttuynia cordata* administration in calf diarrhea(Mean±SD)

Date	Group	PCV (%)	RBC (x10 ⁴ /μl)	WBC (/μl)	TP (g/100 ml)	FIB (mg/100 ml)
0	I	32.6 ± 4.6	832 ± 128	8700 ± 3568	5.6 ± 0.7 ^B	400 ± 163
	II	32.9 ± 7.2	856 ± 166	9390 ± 2393	5.7 ± 0.6 ^C	360 ± 127
	III	27.4 ± 6.6	704 ± 153	8071 ± 2432	6.0 ± 0.8 ^D	400 ± 200
3	I	31.5 ± 6.1	885 ± 174	7450 ± 2787 ^A	5.3 ± 0.7	300 ± 170
	II	32.8 ± 6.8	967 ± 130	10030 ± 2685	5.2 ± 0.7	280 ± 103
	III	28.4 ± 6.4	930 ± 130	14386 ± 5351 ^A	5.3 ± 0.6	343 ± 151
6	I	32.8 ± 5.3	821 ± 124	7020 ± 1742	5.3 ± 0.7	460 ± 165
	II	33.6 ± 6.7	855 ± 155	7880 ± 2607	5.1 ± 0.5	340 ± 135
	III	28.9 ± 4.9	745 ± 142	7086 ± 1377	5.1 ± 0.6	486 ± 279
9	I	30.3 ± 4.9	795 ± 123	6460 ± 1276	5.4 ± 0.6	420 ± 148
	II	32.2 ± 5.1	816 ± 129	7830 ± 2786	5.2 ± 0.4	400 ± 94
	III	29.7 ± 5.9	766 ± 149	7986 ± 2336	5.2 ± 0.5	486 ± 157
12	I	28.1 ± 4.1	736 ± 97	6210 ± 1362	4.9 ± 0.6	360 ± 126
	II	30.1 ± 6.1	821 ± 149	8230 ± 2961	4.9 ± 0.4	340 ± 97
	III	28.0 ± 7.4	752 ± 201	7814 ± 1791	5.1 ± 0.5	400 ± 163
15	I	28.6 ± 3.3	758 ± 92	6280 ± 1549	5.0 ± 0.6	380 ± 148
	II	29.0 ± 5.3	797 ± 108	8030 ± 2480	4.9 ± 0.3	300 ± 141
	III	26.7 ± 6.5	729 ± 171	6943 ± 1987	5.1 ± 0.4	486 ± 279
18	I	28.5 ± 2.5	774 ± 65	7610 ± 1306	4.7 ± 0.5	380 ± 148
	II	28.4 ± 4.4	769 ± 107	7020 ± 1895	4.5 ± 0.3	420 ± 148
	III	24.4 ± 5.9	695 ± 153	6414 ± 2126	4.6 ± 0.4	429 ± 138
21	I	28.0 ± 2.6	739 ± 66	6990 ± 1858	4.6 ± 0.6 ^b	380 ± 199
	II	27.9 ± 4.3	775 ± 111	7870 ± 3196	4.7 ± 0.3 ^c	320 ± 193
	III	24.3 ± 5.0	694 ± 138	6329 ± 1359	4.5 ± 0.3 ^d	400 ± 115

A:a, B:b, C:c, D:d : Significantly differential pairs with same column($p < 0.05$)

I : *Oldenlandia herba* extract administration group

II : *Oldenlandia herba* and *Houttuynia cordata* extract administration group

III : control group

하였다. 그리고 백화사설초와 어성초 합제를 투여한 군에서 실험 종료 시기에 설사를 보이는 송아지가 대조군에 비해 감소하였다(Fig 1).

혈액학적 검사

혈액검사는 세 군 모두 각 항목에서 정상범위 내에서 증감을 나타냈으며, 실험 3일째 백혈구는 백화사설초군은 $7,450 \pm 2,787/\mu$ 로 대조군의 $14,386 \pm 5,351/\mu$ 보다 유의성 있게 낮았다($p < 0.05$). PCV는 백화사설초와 어성초 합제 투여군이 0일째 $32.9 \pm 7.2\%$ 에서 21일째 $27.9 \pm 4.3\%$ 로 감소하였다. 적혈구는 세 군 모두 감소하였으며, 총혈장단백 농도는 백화사설초군이 5.6 ± 0.7 g/100 ml에서 3주 후에는 4.6 ± 0.6 g/100 ml로 유의적으로 감소하였고($p < 0.05$), 백화사설초 어성초 합제 투여군은 5.7 ± 0.6 g/100 ml에서 3주 후에는 4.7 ± 0.3 g/100 ml로 감소하였으며($p < 0.05$), 대조군이 6.0 ± 0.8 g/100 ml에서 3주 후에는 4.5 ± 0.3 g/100 ml로 감소하였다($p < 0.05$). 섬유소원 농도는 백화사설초군이 0일째 400

± 163 g/100 ml에서 3주 후에는 380 ± 199 g/100 ml로 감소하였고, 백화사설초 어성초 합제 투여군은 0일째 360 ± 127 mg/100 ml에서 21일째 320 ± 193 mg/100 ml로 감소하였다. 그러나 각 군간에 유의적인 차이는 없었다(Table 5).

혈청학적 검사

AST 활성은 대조군이 0일째 40.6 ± 7.1 IU/L에서 21일째에는 68.3 ± 5.0 IU/L로 증가하였다($p < 0.05$). BUN 농도는 18일째에 대조군이 9.6 ± 1.8 mg/100 ml, 백화사설초군이 7.1 ± 1.3 mg/100 ml로 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$). Creatinine 농도는 백화사설초 투여군이 0일째 1.5 ± 0.2 mg/100 ml에서 21일째에 1.2 ± 0.3 mg/100 ml로 감소하였고, 백화사설초와 어성초 합제 투여군은 0일째 1.5 ± 0.2 mg/100 ml에서 21일째에는 1.1 ± 0.2 mg/100 ml로 감소하였으며($p < 0.05$), 대조군은 0일째 1.3 ± 0.2 mg/100 ml에서 21일째에는 1.1 ± 0.1 mg/100 ml로 감소하였다(Table 6).

Table 6. The AST activity, blood urea nitrogen and creatinine concentration before and after *Oldenlandiae herba*, *Houttuyniae cordata* administration in calf diarrhea

Date	Group	AST(IU/L)	BUN(mg/100 ml)	Creatinine(mg/100 ml)
0	I	45.5 ± 6.3	7.2 ± 1.8	1.5 ± 0.2
	II	38.2 ± 4.7	6.1 ± 1.7	1.5 ± 0.2 ^D
	III	40.6 ± 7.1 ^b	4.8 ± 1.1 ^c	1.3 ± 0.2
3	I	44.8 ± 9.3	8.0 ± 1.8	1.4 ± 0.2
	II	41.0 ± 6.8	7.8 ± 1.4	1.4 ± 0.2
	III	41.4 ± 5.4	6.4 ± 1.5	1.3 ± 0.2
6	I	51.4 ± 11.9	7.3 ± 0.9	1.4 ± 0.1
	II	43.5 ± 6.6	8.1 ± 1.4	1.3 ± 0.2
	III	50.4 ± 5.1	7.5 ± 1.7	1.3 ± 0.2
9	I	47.8 ± 11.4	8.3 ± 1.5	1.3 ± 0.4
	II	42.8 ± 8.0	8.5 ± 1.8	1.3 ± 0.5
	III	41.4 ± 5.5	8.1 ± 2.1	1.4 ± 0.4
12	I	51.3 ± 9.9	7.9 ± 1.3	1.3 ± 0.2
	II	48.5 ± 8.1	8.8 ± 2.3	1.3 ± 0.2
	III	49.8 ± 6.4	9.0 ± 1.7	1.4 ± 0.1
15	I	47.1 ± 7.3	8.0 ± 1.4	1.4 ± 0.3
	II	41.8 ± 8.7	8.2 ± 1.7	1.3 ± 0.2
	III	42.1 ± 5.7	10.2 ± 3.3	1.3 ± 0.1
18	I	47.8 ± 8.1	7.1 ± 1.3 ^a	1.2 ± 0.2
	II	46.6 ± 8.6	7.9 ± 1.4	1.3 ± 0.4
	III	49.8 ± 10.2	9.6 ± 1.8 ^A	1.3 ± 0.1
21	I	47.1 ± 5.5	8.1 ± 1.6	1.2 ± 0.3
	II	46.1 ± 7.7	8.8 ± 1.6	1.1 ± 0.2 ^d
	III	68.3 ± 5.0 ^B	8.7 ± 1.1 ^C	1.1 ± 0.1

Aa, Bb, Cc, Dd : Significantly differential pairs with same column($p < 0.05$)

I : *Oldenlandiae herba* extract administration group

II : *Oldenlandiae herba* and *Houttuyniae cordata* extract administration group

III : control group

Table 7. The changes of circulating CD4⁺, CD8a⁺ and CD19⁺ positive lymphocyte before and after *Oldenlandia herba*, *Houttuynia cordata* administration in calf diarrhea

Date	Group	CD4 ⁺ (%)	CD8a ⁺ (%)	CD19 ⁺ (%)
0	I	4.2±1.1	5.0±1.8	4.9±0.4
	II	4.3±1.4	3.6±0.4	5.0±3.7
	III	4.2±0.9	4.1±0.9	5.0±1.2
7	I	6.1±0.8	6.5±0.9	11.2±1.5 ^A
	II	7.8±2.7	6.7±1.4	10.1±1.4
	III	7.4±1.1	7.0±0.9	7.5±1.8 ^a
14	I	10.7±1.3	4.5±0.3 ^c	21.0±6.4
	II	11.1±0.8 ^B	6.3±0.8 ^C	15.8±2.5
	III	8.7±1.3 ^b	6.6±1.1 ^C	21.4±7.8
21	I	6.3±1.7	5.9±1.7	19.2±7.4
	II	3.8±0.6	5.5±0.7	14.9±6.4
	III	5.5±2.3	5.6±1.1	18.7±2.4

A,a, B,b, C,c : Significantly differential pairs with same column($p < 0.05$)

I : *Oldenlandia herba* extract administration group

II : *Oldenlandia herba* and *Houttuynia cordata* extract administration group

III : control group

림프구 분포 분석

림프구 분포 실험에서에서 CD4⁺는 14일 째에 백화사설초와 어성초 합제 투여 군이 11.1±0.8%로 대조군의 8.7±1.3%에 비해 유의성 있게 높은 분포를 나타냈고 ($p < 0.05$), CD8a⁺는 14일 째에 백화사설초 투여군이 4.5±0.3%를 나타내어 다른 두 군에 유의성 있게 낮은 분포를 나타냈다($p < 0.05$). CD19⁺는 7일 째에 백화사설초 투여군이 11.2±1.5%로 대조군의 7.5±1.9%에 비해 유의적으로 높은 분포를 나타냈다($p < 0.05$)(Table 7).

고 찰

신생 송아지에서 질병 발생을 조사한 보고에 의하면 소화기 질병 발생률은 약 50.6%이고 호흡기로 인한 질병 발생률은 약 4.3%, 혼합감염의 경우에는 약 16.5%의 비율을 나타내고 있다(13). 신생 송아지에서 가장 높은 발생율을 보이는 소화기 질병, 즉 송아지 설사증은 중요한 관리 대상이 되고 있다.

송아지 설사는 60일령 이내에 가장 발생빈도가 높으며 각종 요인이 단독 혹은 혼합되어 설사를 일으키게 된다. 특정한 병원체나 미생물로 인한 설사는 치료 또한 어렵다. 이러한 설사증을 유발시키는 원인 중 coronavirus는 58.2%로 보고되었으며, 혈변 등의 증상을 나타낸다(6,13). Rotavirus는 69.2%가 나타났고, 송아지 설사에서 콕시듐의 감염이 21.2%로 보고되었으며(13), 콕시듐의 병원성은 생활사중 분열소체와 배우자세포의 두 단계에서 나타나며, 이 둘이 장점막세포를 파괴하고 이어 장상피의 탈락을 초래한다. 이 장상피의 탈락이 설사의 원인이 되는데 탈락이 심하면 장관강내로 출혈을 일으키고 그 결과 나타나는 출혈성빈혈은 치명적이다(15).

어성초 정유 분획물 중 일부는 그람 양성균인 *Bacillus subtilis*에 대해서 항균성을 가지고 있고, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* 및 *Yersinia enterocolitica* 등과 같은 그람 음성균에 대해서도 비교적 높은 항균 작용을 나타내는 것으로 보고 되어있다(10). 항균 효과와 항바이러스 효과를 확인한 실험에서는 98% EtOH 추출물에 대해서 4가지 균주에 대해 항균효과가 나타났는데, 이는 백화사설초와 어성초의 성분 중 EtOH에서 추출되는 물질이 많았을 것으로 생각되며, 어떤 성분이 효과가 있는지를 확인하기 위해서는 성분분석 실험이 추가되어야 할 것이다.

일반적으로 소장 병변에 기인한 설사는 양이 많고 액상변이거나 수양성이다. 반면에 대장 병변에 기인한 설사는 양이 적은 연변이며 과량의 점액을 함유하고 있다고 하였는데(15), 어린 송아지는 양이 많은 설사를 보이다가 점차 수양성으로 변화되는 것이 관찰되었다. 이는 소장성 설사에서 대장성 설사로 이행되는 것으로 생각된다. 이 실험에서는 1-2 주령의 송아지들로 암, 수 구분 없이 사용하였으며, 처음에는 모두 설사를 하고 있었으며 설사 등급에만 차이가 존재하였고, 실험 기간 동안 폐사한 송아지는 없었다. 실험 기간이 환절기인 11-12월이었음에도 불구하고 홀스타인 송아지에서는 폐사율을 나타내지 않았다. 하지만 환경온도가 급격하게 떨어지거나 비가 오는 등 환경적인 요인들로 인하여 설사가 심해지는 것을 확인할 수 있었다.

송아지가 태어나서 1-2 주령에서 1 개월령까지는 PCV가 약간 감소된다고 보고되었다(15). 본 연구에서 혈액학적 검사는 PCV가 실험시작부터 점점 감소하였는데 RBC는 백화사설초 군과 백화사설초와 어성초를 합제하여 급여한 군이 다른 두 군에 비해 높은 수치를 나타냈다. 이 등(2000)에 의

하면 소화기 질병군에서 백혈구는 높은 수치가 나타나고, 총혈장단백 농도는 감소되는 것으로 보고되어 있으나, 본 연구에서는 WBC가 3일째 되는 날 대조군에서 가장 높은 수치를 나타냈는데, 이는 대조군이 다른 군에 비하여 설사를 일으키는 개체가 많았기 때문에 백혈구가 증가된 것으로 생각된다. 총혈장단백 농도는 3군 모두 정상 범위 안에 모두 비슷한 수준으로 나타났으며, 점차 감소하는 경향을 보이는 것은 면역항체의 일부가 감소하여 나타나는 것으로 생각된다. 섬유소원 농도는 대조군이 다른 두 군에 비하여 높은 수치를 유지하였는데 이는 대조군이 장염에 의한 염증반응과 관련이 있는 것으로 생각되어, 백화사설초 투여가 설사의 예방에 효과가 있는 것으로 사료된다.

AST 활성은 각 군에서 증감을 보였으나 정상수치였다. BUN농도는 각 군에서 모두 증가하는 경향을 나타냈으나 정상수치보다 적은 수치를 보였는데 이는 단백 사료의 급여와 관계가 있다고 생각된다. Creatinine 농도는 각 군 모두 감소하였다. 간장과 신장관련 수치의 변화를 보이지 않은 것으로 보아 약물처치에 의한 혹은 설사증에 의한 간장과 신장의 손상은 없는 것을 알 수 있었다.

림프구 중에 CD4⁺는 T-helper 세포의 표면 항체로서 대식세포를 활성화 시키며, 세포 외의 병원체에 대하여 직접적으로 작용하는 체액성 면역반응의 중간 매개자인 항체를 분비할 수 있게 하는 B 세포 활성화 효과분자로서 본 연구에서는 CD4⁺가 백화사설초와 어성초 합제 투여군이 대조군에 비해 유의적으로 높은 분포를 나타내었다. 이는 백화사설초와 어성초가 면역반응을 향상시킨 것으로 생각된다. 반면에, 세포 내에 있는 병원체에 대한 숙주방어에 필수적인 cytotoxic-T세포의 표면 항체인 CD8a⁺는 14일째 백화사설초 군에서 낮은 수치를 나타냈다. 체액성 면역인 B 세포의 표면 항체인 CD19⁺는 백화사설초군과 백화사설초와 어성초의 합제군이 대조군에 유의성 있게 높은 분포를 나타냈는데, 이는 세포 외 공간의 미생물을 파괴하는 역할을 가지는 B 세포의 활성을 백화사설초와 어성초가 향상시키는 것으로 생각된다. 하지만 이러한 연구는 환경적인 요인에 따라 변화가 크기 때문에 안정적인 연구 조건 하에서 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상에서 백화사설초와 어성초는 항균 및 항바이러스 효과를 가지고 있었다. 송아지 설사 등급 평가에서 대조군에 비해 백화사설초 투여군과 백화사설초 어성초 합제 투여군이 감소하는 경향을 나타내어 천연물 제제인 백화사설초와 어성초는 송아지 설사증에 효과가 있는 것으로 사료되며, 향후 송아지 설사 치료 및 예방을 위한 천연물제제를 이용한 사료 첨가제 개발의 가능성을 확인하였다.

결 론

송아지 설사증에 대해 백화사설초와 어성초를 급여한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

백화사설초와 어성초 EtOH 추출물(98%)은 항균 및 항바

이러스 효과를 나타내었다. 설사 등급의 평가에서 백화사설초와 어성초의 합제를 투여한 군이 다른 두 군에 비해서 설사 정도가 완화되었다. 혈액검사에서 세균 모두 정상 범위 내에 있었으나, 섬유소원 농도는 대조군이 높은 수치를 유지하였다. 혈청화학검사에서 AST 활성도와 BUN 농도는 정상 범위 내에서 증감을 나타냈다. 림프구 분포 실험에서 CD4⁺는 14일째에 백화사설초와 어성초 합제 투여군이 유의적으로 높은 분포를 나타냈고, CD19⁺는 7일째에 백화사설초 투여군이 유의적으로 높은 분포를 나타내었다.

이상의 결과에서 백화사설초와 어성초는 항균, 항바이러스 및 면역활성 효과를 가지고 있으며, 임상적으로 송아지 설사증 치료에 효과가 있음을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

참 고 문 헌

1. Ebling TL, Fox LK, Byrne KM. Isolation of bovine mammary lymphocytes for fluorescent activated flow cytometry. *Methods Cell Sci* 2000; 22: 239-245.
2. Fischer K, Andreesen R, Mackensen A. An improved flow cytometric assay for the determination of cytotoxic T lymphocyte activity. *J Immunol Methods* 2002; 259: 159-169.
3. Gupta MB, Nath R, Gupta GP, Bhargava KP. Antiulcer activity of some plant triterpenoids. *Indian J Med Res* 1981; 73: 649-652.
4. Liu J. Oleanolic acid and ursolic acid. *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 92-94.
5. Liu J. Pharmacology of Oleanolic acid and Ursolic acid. *J Ethnopharmacol* 1995; 49: 57-68.
6. Smith BP. Alterations in alimentary and hepatic function. In: *Large Animal Internal Medicine*. Mosby. 2001: 117-124
7. Tarrant JM. The role of flow cytometry in companion animal diagnostic medicine. *Vet J* 2005; 170: 278-288.
8. Yoshida Y, Wang MQ, Liu JN, Shan BE, Yamashita U. Immunomodulating activity of chinese medicinal herbs and *Oldenlandia diffusa* in particular. *Int J Immunopharmacol* 1997; 19: 359-370.
9. 강윤희, 수종의 한약물이 백서의 자연살해세포(Natural killer cell) 활성에 미치는 영향. 박사학위논문, 경희대학교, 1986.
10. 강정미, 차인호, 이영근, 류홍수. 어성초 휘발성 정유성분의 동정과 분획물의 항특성 및 항균활성. *한국식품영양과학회지* 1997; 26: 209-213.
11. 강정미, 차인호, 이영근, 류홍수. 어성초 휘발성정유성분의 동정과 분획물의 항특성 및 항균활성. Prep-HPLC에 의한 분획물의 항특성과 항균활성. *한국식품영양과학회지* 1997; 26: 214-221.
12. 김근영, 정동욱, 정희중. 어성초의 화학성분 및 항미생물 활성. *한국식품영양과학회지* 1997; 29: 400-406.
13. 김두, 유영수, 유한상, 윤충근. 한우 송아지의포유기간 중의 설사발생에 관한연구. *대한수의학회지* 1990; 30: 255-260.

14. 백진호, 어성초 부위별 추출물의 항고혈압 생리활성 분석 및 화학 성분에 관한 연구. 석사학위논문, 서울대학교, 1998.
15. 이방환, 강정부, 권오덕, 김덕환, 김두, 진종욱, 양만표, 윤화영, 이경갑, 이근우, 이정길, 이주현, 이채용, 이현범, 이희석, 정병현, 최희인, 한홍율. 대동물내과학. 교육문화원. 2004: 161-168.
16. 이주목, 권오덕, 김남수, 최경성, 박명규, 김민석, 김철민. 신생송아지의 특이 및 비특이 혈청요법을 통한 질병예방법 개발. 농림부 최종 연구보고서, 전북대학교. 2000.
17. 이춘우. 어성초에서 분리한 Quercitrin과 카드뮴독성의 억제효과에 관한 연구. 석사학위논문, 원광대학교, 2002.
18. 정인석, 백화사설초의 유도성 산화질소 생성 기전에 관한 연구. 박사학위논문, 원광대학교, 2002.