

건강한 산양 및 개에서 분리한 *Clostridium perfringens*의 항생제에 대한 감수성

정 회 곤

송원대학 식품영양과

Antibiotic Susceptibility of *Clostridium perfringens* Isolates from Healthy Sheep and Dogs

Hee-Kon Jung

Dept. of Food and Nutrition, Songwon College, Kwang-ju, Korea

Abstract

Identification and antibiotic susceptibility of *Clostridium perfringens* isolates from fecal specimens of healthy sheep and dogs were performed from December, 1995 to November, 1996 in Kwang-ju and Chonnam area. *C. perfringens* was isolated in 3 strains(15.0%) out of 20 healthy sheep and 2 strains(6.7%) out of 30 healthy dogs.

In antibiotic susceptibility test of *C. perfringens*, 80% of the isolates was susceptible to ampicillin, baytril, and penicillin, 60% to cephalothin, and 40% to erythromycin.

Key words : *Clostridium perfringens*, identification, antibiotic susceptibility.

서 론

*Clostridium perfringens*는 자연계에 널리 분포되어 있는 세균인데^{1,2)}, 동물의 경우에는 분변, 토양, 먼지, 오염사료 및 깔짚 등이 주요 감염원으로 알려져 있다^{3,5)}. *C. perfringens*는 정상적인 동물의 장관에서도 분리되는데, 섬유질이 많은 깔짚이나 콧수막 감염 등으로 장 점막이 손상되었을 때 급격히 증식하여 독소를 생산함으로써 괴사성 장염을 일으킨다^{6~9)}. 또한 어분이나 밀 성분이 많은 사료를 급여할 때에도 발병 가능성이 높다고 한다^{6,10)}.

닭의 괴사성 장염이 평사사육계군에서 다발하여 많은 피해가 발생되는데, 이는 분변을 통하여 *C. perfringens*가 탈출하여 접촉감염을 일으키며 본 균이 생산하는 독소에 의해서 많은 계군이 집단 폐사한 것으로 알려져 있다¹¹⁾.

Sterne & Warrack¹²⁾는 이 균이 생산하는 독소를 A, B, C, D, E 등 5가지형으로 분류하였다. *C.*

perfringens A형은 alpha, eta, theta, kappa, Mu, Nu, neuraminidase 및 enterotoxin을 생산하며, B형은 alpha, beta 및 epsilon을 생산하고, C형은 alpha 및 beta를 생산하며 D형은 alpha 및 epsilon을 생산하고 E형은 alpha, eta 및 iota 등의 독소를 생산한다¹²⁾. *C. perfringens* A형이 생산하는 장독소(enterotoxin)는 사람에게 식중독을 일으킨다는 많은 보고가 있다^{1,2,12~6)}.

본 균에 의하여 발생한 환자나 환축으로부터 본 균을 분리하여 연구한 보고는 세계적으로 많다^{1~17)}. 그러나 건강한 동물로부터 본 균을 분리하여 연구한 보고는 극히 드물기 때문에 본 연구는 건강한 산양과 개로부터 본 균을 분리하여 동정하고 항생제의 감수성을 조사하였다. 본 조사 연구가 본 균에 의한 동물의 질병 예방과 사람의 식중독 발생을 예방함으로써 축산 농가의 피해를 감소시키며 국민 보건 향상을 도모하는데, 기초 자료로서 다소라도 이용될 수 있다면 다행으로 생각하겠다.

재료 및 방법

1. 세균의 분리원

1995년 12월부터 1996년 11월까지 약 1개년 동안 광주시 및 전남지역에서 사육하고 있는 건강한 산양 20두와 건강한 개 30두, 총 50두로부터 분변을 채취하여 *C. perfringens*의 분리에 사용하였다. 표준 균주는 일본 오오사카 공중위생연구소에서 분양받은 NCTC 8239(Hobbs type 3)를 사용하였다(Table 1, 2).

2. 세균의 분리

외관상 건강한 산양과 건강한 개가 배설한 분변 1g 씩을 멸균된 0.85% saline용액에 용해시켜 sheep blood agar에 도말하여 gas pak(BBL)에 넣고 혐기배양하였다. 37°C에서 24시간 배양한 후 2중 용혈대를 보이는 세균집락수가 많거나 2중 용혈대를 나타내는 단일 세균집락임을 확인하여 생화학적 검사를 실시하였다¹⁶⁾.

3. 세균의 동정

Table 1. Fecal sources for the isolation of *Clostridium perfringens*

Sources	No. of examined animals	Location
Healthy sheep	20	Kwang-ju & Chonnam
Healthy dogs	30	Kwang-ju & Chonnam
Total	50	

Table 2. Identification of *Clostridium perfringens* isolated from fecal specimens of healthy sheep and dogs

Sources	Biochemical test					Gram stain	Hobbs type	Isolated <i>C. perfringens</i> (%)
	Lecithinase	Lactose	Gelatin	Nitrite	Motility			
Sheep (n=20)	15	14	12	10	3	3	ND	3(15.0)
Dogs (n=30)	10	10	15	12	2	2	ND	2(6.7)
Control (NCTC 8239)	+	+++	+++	+++	-	+	H3	

Remark : n : No. of strain test.

- : Negative, ± : doubt reaction, +, ++, +++ : positive.

ND : Not detected.

H3 : Hobbs type.

2중 용혈대(α , β -용혈)를 나타내는 집락을 TGC 배지(pH 7.1, Nissui, Tokyo)에 접종하여 37°C에서 12시간 동안 배양 후, km CW배지(km CW 6g, 증류수 100ml, pH7.5, Nissui, Tokyo)상의 lecithinase 반응, LG배지(tryptone 15g, yeast ext. 10g, lactose 10g, Na₂HPO₄ 5g, phenol red 50mg, gelatin 12g, 증류수 1 l, pH 7.5) 상의 가스 발생 및 액화 여부, NM배지(meat ext. 0.3g, bac-to peptone 0.5g, pot. nitrate 0.1g, galactose 0.5g glycerol 0.5g, agar 0.3g, 증류수 100ml, pH 7.2)상의 ring 형성 및 접종선 확산 여부 등 생화학적 검사, gram 염색 및 Hobbs형 시험(웰치균 A형 진단용 면역혈청, Denka Seiken Co., Tokyo) 등을 실시하여 동정하였다.^{1,2,17)}

4. 항생제 감수성 시험

분리 동정균에 대한 항생제 감수성 시험은 5종의 항생제 disc(BBL)을 사용하여 agar disc diffusion법으로 그 반응을 조사하였다.^{1,2,11,14)}

결과 및 고찰

1. *C. perfringens*의 분리율

1995년 12월부터 1996년 11월까지 약 1개년 동안 광주시 및 전남지역에서 사육하고 있는 건강한 산양 20두와 건강한 개 30두, 총 50두로부터 분변을 채취하여 조사를 실시한 결과, *C. perfringens* 분리율은 건강한 산양 20두 중에서 3균주(15.0%)가 분리되었으며 건강한 개 30두 중에서 2균주(6.7%)가 분리되었다(Table 2).

1997년 정¹⁾의 보고에 의하면 *C. perfringens*의 분

리울은 괴사성 장염에 이환된 닭 54수 중 7수(13.0%)에서 본 균이 분리되었으며 장독혈증에 이환된 새끼 돼지 66두 중 14두(21.2%)에서 본 균이 분리되었고 장독혈증에 이환된 소 9두 중 3두(33.3%)에서 본 균이 분리되어 본 조사의 분리율이 낮았는데, 이 차이는 본 조사 대상이 정상적인 동물이었기 때문으로 생각된다.

또한 1990년 조 등¹⁴⁾의 보고에 의하면 설사증 송아지 300두 중 95두(31.7%)에서 *C. perfringens*가 분리되어 본 조사의 분리율이 낮았는데, 이러한 차이는 역시 본 조사 대상이 정상적인 동물이었기 때문으로 생각된다. 특히 건강한 동물로부터 *C. perfringens*의 분리 빈도가 높은 것은 본균에 의한 동물의 질병 예방과 인체의 식중독 예방을 위해서 철저한 관리와 주의가 요망된다.

2. 분리균의 항생제 감수성

본 실험에서 분리 동정된 5균주의 *C. perfringens*의 항생제에 대한 감수성 시험 결과 ampicillin, baytril 및 penicillin에 대해서는 분리균의 80%가 감수성을 나타내었고, cephalothin에 대해서는 60%가 감수성을 나타내었으며 erythromycin에 대해서는 40%가 감수성을 나타내었다(Table 3).

1994년 김¹⁸⁾의 보고에 의하면 괴사성 장염에 이환된 닭에서 분리한 30균주의 *C. perfringens*에 대한 감수성 시험 결과는 ampicillin, cephalothin 등에 각각 90% 이상의 높은 감수성을 나타내었으며 1994년 박 등¹¹⁾의 보고에 의하면 역시 괴사성 장염에 이환된 닭에서 분리한 12균주의 본균에 대한 감수성 시험 결과는 ampicillin(91.7%), baytril(91.7%), cephalothin(83.3%), erythromycin(58.3%), penicillin(66.7%) 등의 감수성을 나타내어 본 조사 성적과 대체로 유사하였으나, 약간의 차이가 나타난 것은 본 실험에서 사용한 균주가 건강한 동물로부터 분리되었

기 때문으로 생각된다.

한편 George 등¹⁹⁾은 *C. perfringens*는 penicillin G에 감수성이 높았다고 하였으며 Marrie 등²⁰⁾은 본 균이 penicillin에 비교적 내성이 있다고 하였고 Appelbaum & Chatterton²¹⁾은 clindamycin과 metronidazole은 erythromycin과 tetracycline보다는 감수성이 높았다고 보고하였다.

이와 같이 본 실험 결과는 George 등¹⁹⁾의 보고와는 대체로 일치하였으나 Appelbaum & Chatterton²¹⁾의 보고와는 실험에 사용한 항생제의 종류가 달랐기 때문에 비교하기가 어려웠으며 Marrie 등²⁰⁾의 보고와는 상이하였다.

이러한 결과는 항생제의 남용 및 오용, 질병 예방 및 성장촉진 등의 목적으로 사료에 항생제나 호르몬제의 첨가에 의해서 본 균이 내성이 생겨 이와 같은 차이가 나타난 것으로 생각된다.

요 약

1995년 12월부터 1996년 11월까지 약 1년간 광주 시 및 전남지역에서 사육하고 있는 건강한 산양 20두와 건강한 개 30두, 총 50두로부터 분변을 채취하여 5균주의 *C. perfringens*를 분리 동정하였다. *C. perfringens*의 분리율은 건강한 산양 20두 중에서 3균주(15.0%)가 분리되었으며 건강한 개 30두 중에서 2균주(6.7%)가 분리되었다. *C. perfringens*의 항생제에 대한 감수성은 ampicillin, baytril 및 penicillin에 대해서는 분리균의 80%가 감수성을 나타내었고 cephalothin에 대해서는 60%가 감수성을 나타내었으며 erythromycin에 대해서는 40%가 감수성을 나타내었다.

참고문헌

1. 정희곤 : 닭의 괴사성 장염, 새끼 돼지 및 소의 장독혈증에서 분리한 *Clostridium perfringens*의 S-R 변이와 항균요법제의 감수성. *한국식품영양학회지*, 10(2), 166~173 (1997).
2. 정희곤 : *Clostridium perfringens* A형이 생산하는 장독소의 검출을 위한 RPLA법과 PCR 기법의 감도 비교. *한국환경위생학회지*, 23(4), 45~49 (1997).
3. Char, N. L., Khan, D. I., Rao, M. R. K., and et al. : A rare occurrence of *Clostridial* infection in poultry. *Poult. Adviser*, 19, 59~62 (1986).
4. Frame, D. D. and Bickford, A. A. : An outbreak of coccidiosis and necrotic enteritis in 16-week-old cage-reared layer replacement pullets. *Avian Dis.*,

Table 3. Antibiotic susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from fecal specimens of healthy sheep and dogs

Antibiotics	No. of susceptible strains(%)
Total (No. of strains)	5(100.0)
Ampicillin	4(80.0)
Baytril	4(80.0)
Cephalothin	3(60.0)
Erythromycin	2(40.0)
Penicillin	4(80.0)

- 30, 601~602 (1986).
5. Wicker, D. L., Isgrigg, W. N., Trammell, J. H., and et al. : The control and prevention of necrotic enteritis in broilers with zinc bacitracin. *Poult. Sci.*, **56**, 1229~1231 (1977).
 6. Truscott, R. B. and Al-Sheikhly, F. : Reproduction and treatment of necrotic enteritis in broilers. *AJVR*, **38**, 857~861 (1987).
 7. Al-Sheikhly, F. and Truscott, R. B. : The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis.*, **21**, 230~240 (1977).
 8. Helmboldt, C. F. and Bryant, E. S. : The pathology of necrotic enteritis in domestic fowl. *Avian Dis.*, **15**, 775~780 (1971).
 9. Shane, S. M., Koetting, D. G., and Harrington, K. S. : The occurrence of *Clostridium perfringens* in the intestine of chickens. *Avian Dis.*, **28**, 1120~1124 (1984).
 10. Chakraborty, G. C., Chakraborty, D., Bhattacharyya, D., and et al. : Necrotic enteritis in West Bangal. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Dis.*, **5**, 54~57 (1984).
 11. 박경윤, 정성대, 예재길, 서일복 : 국내 닭의 괴사성 장염 발생에 관한 연구. *대한수의학회지*, **34**(3), 593~599 (1994).
 12. Sterne, M. and Warrack, G. H. : The type of *Clostridium perfringens*. *J. Pathol. Bacteriol.*, **88**, 279~283 (1964).
 13. Hobbs, B. C. : *Clostridium welchii* as a food poisoning organism. *J. Appl. Bacteriol.*, **28**, 74~82 (1965).
 14. 조근성, 김종엽, 박정문 : *Clostridium perfringens*에 의한 송아지의 장독혈증에 관한 연구. *한국수의공중보건학회지*, **14**(3), 255~263 (1990).
 15. Tsukamoto, T., Ishibashi, M., Asao, T., Ohtsu, K., Shinagawa, K., Kunito, D., and Uemura, T. : Detection of strain and enterotoxin in fecal specimens of *Clostridium perfringens* food poisoning. *Jpn. J. Publ. Hlth.*, **28**, 487~491 (1981).
 16. Itoh, T. : Incidence of heat-resistant *Clostridium perfringens* in faeces of healthy subjects, serotyping of isolates and food poisoning caused by new serotype organisms. *Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. Publ. Hlth.*, **24**, 7~39 (1973).
 17. A Dey, C. W. : Anaerobic infections. *Brit. Med. J.*, **2**, 748 (1935).
 18. 김홍집 : *Clostridium perfringens* 감염에 의한 닭의 괴사성 장염에 관한 연구. 전남대학교 대학원 박사학위논문 (1994).
 19. George, W. L., Sutterend, V. L., and Rinegold, S. M. : β -lactam antimicrobials for treatment of anaerobic infections-A review of in vitro activity and therapeutic efficacy in Salton and Shokmen(eds.), β -lactam antibiotics: Mode of action, New Developments and Future Prospects, Academic Press, New York, 493~550 (1981).
 20. Marrie, T. J., Haldane, E. V., Swantee, C. A., and Kerr, E. A. : Susceptibility of anaerobic bacteria to nine antimicrobial agents and *Clostridium perfringens* to penicillin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **19**, 51~55 (1981).
 21. Appelbaum, P. C. and Chatterton, S. A. : Susceptibility of anaerobic bacteria to ten antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **14**, 371~376(1932).

(1998년 5월 4일 접수)