

전남 서부지역 설사 자돈에서 분리한
*Clostridium perfringens*에 관한 연구

김내영, 오은희, 홍갑표, 강규칠, 정인호, 박석준

전라남도 축산기술연구소 서부지소

Studies on the *Clostridium perfringens* isolated
from piglets with diarrhea in Western area of
Chonnam province

Nae-Young Kim, Eun-Hee Oh, Khap-Pyoe Houg,
Gu-Chil Kang, In-Ho Chung, Suk-Joon Park

Western-branch of Chonnam Livestock Research Institute

Abstract

Eighteen strains of *Clostridium perfringens* were isolated from the piglets with hemorrhagic enteritis. The characteristics of the outbreaks, clinical signs and lesions were examined. The biochemical properties, type of toxins and susceptibility to antimicrobial agents against the isolates were investigated.

1. The incidence of diarrhea was appeared in 97(22.4%) of 432 piglets examined.
2. The isolation rate of *Cl perfringens* from the 97 diarrheal faeces were 18.5%(18 strains)
3. The population of *Cl perfringens* in feces were ranged 10^{8-9} cfu/g in 5(32.5%) and 10^{3-7} cfu/g in 13(67.4%) of 18 samples.
4. The toxin type of the 18 isolates investigated by mouse inoculation test was all type C strains of *Cl perfringens*.
5. As a results of antimicrobial susceptibility test, 18 isolates were higly susceptible to cephalothin, tetracycline and penicillin.

Key word : *Clostridium perfringens*, Hemorrhagic enteritis, Piglets, Toxin type, Antibiotic susceptibility.

서 론

*Clostridium perfringens*가 가축에서 최초로 분리된 이래 이 균의 병원성에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다. 돼지의 *Cl perfringens type C* 감염증은 Field와 Gibson¹⁾에 의하여 1955년 최초로 보고 되었으며 미국, 독일, 네델란드, 캐나다, 일본 등지에서도 활발히 연구가 진행되고 있다²⁻⁵⁾.

돼지 *Cl perfringens type C* 감염증은 급성 경과를 취하며 탈수, 출혈성장염, 원기소실의 임상증상을 특징으로 하는 소화기 질병이다⁶⁾.

*Cl perfringens*가 분비하는 butyric acid가 장 점막에 자극하여 장의 기능을 항진⁷⁾시켜 가축의 가스괴저를 유발시킨다⁸⁾. 이 가스는 혈액순환을 차단하고 균이 다른 실질장기의 조직에 침투되어 발병을 일으키는 중요한 역할을 한다⁹⁾.

*Cl perfringens*의 분비물질은 hematoxin 또는 hemolysin¹⁰⁻¹⁵⁾, mycotoxin¹⁶⁾, neurotoxin¹⁷⁾, necrotoxin 및 lethalt toxin¹⁸⁾, acute lethal toxin¹⁹⁾을 들 수 있으며 다른 toxin은 혈관을 자극한다¹⁹⁾. 이들 toxin이 분비되어 가축에서 enterotoxemia 및 necrotic enteritis를 일으켜 여러나라에서 많은 피해를 입고 있는 것으로 알려져 있다²⁰⁻²⁴⁾.

*B welchii*의 toxin과 antitoxin의 중화시험으로 이들 균 4가지형인 A, B, C 그리고 D를 최초로 분류하였으며²⁵⁾ 이들 toxin형을 alpha(α), beta(β), gamma(γ), delta(δ), epsilon(ϵ)^{18,26)} 및 zeta(ζ) factor로 분류하였다²⁷⁾. 또한 이들 factor가 생체내의 작용에서 α -toxin은 용혈, 치사, 그리고 괴사성, β 와 ϵ -toxin은 치사, 괴사성, γ 와 ζ -toxin은 치사성, δ -toxin은 용혈성을 나타내는 것으로 알려져 있다²⁸⁾.

최근에 Sterne와 Warrack²⁹⁾은 *Cl perfringens* A, B, C, D 그리고 E의 5가지 형으로 분류하였고 이들은 A형은 α -toxin, B형은 α , β 및 ϵ -toxin, C형은 α 및 β -toxin, D형은 β 및 ϵ -toxin, E형은 α 및 iota toxin을 분비하는 것으로 보고하였다.

α -toxin은 세포막의 lecithin을 가수분해하여 치사를 일으키고 상처내의 가스괴저로 인한 근괴사, 용혈에 의한 장독혈증³⁰⁾, toxin과 감각 지연으로 관절염을 일으킨다^{10,31-34)}.

β -toxin에서 분리된 *Cl perfringens* C형은 양, 송아지, 자돈²⁹⁾등에서 그리고 B형은 조류, 양³⁵⁾에서 enterotoxin, necrotic enteritis, hemorrhagic enteritis를 일으킨다.

ϵ -toxin은 antitoxin 친화성을 가진 prototoxin²⁹⁾이며 adeny cyclase 활동으로 혈관 삼투압을 증가³⁶⁾시켜 조직괴사, 뇌수종, 장독혈증을 일으킨다^{37,38)}. iota(ι) toxin 역시 prototoxin이나 장독혈증과 무관하다^{36,38)}.

돼지에서 분리한 *Cl perfringens type C*는 porcine subtype으로 주로 α -toxin과 β -toxin을 생성하므로 감염돈은 장점막 괴사를 동반한 급성출혈성 장염이 특징이다³⁹⁾.

이와같이 돼지에서 *Cl perfringens* 감염증의 발생이 증가되고 있으며 농가에 경제적 피해를 주고 있다. 따라서 본 연구는 우리소 관내 5개 농장에서 발생한 돼지 출혈성 장염의 분변으로부터 *Cl perfringens type C*를 분리하여 각종 생화학적 시험을 거쳐 증명하였으며 항생제 감수성과 발병농장의 역학적 상황을 파악하여 *Cl perfringens*로 인한 돼지 설사증의 예방치료 대책을 수립코저 실시하였다.

재료 및 방법

1. 표준균주 및 항독소

표준균주는 농림부 수의과학연구소에서 분양받았으며, 항독소는 Grunum와 Whitaker의 방법에 의해 제조하였다.

2. 시험재료

우리소 관내 5개 종돈장에서 사육중인 설사 자돈 97두의 분변을 직장 면봉법(Culture swab, Difco)으로 재료를 채취하였다.

3. 세균 분리 및 동정

채취한 분변을 sheep blood agar에 도말하여 gas pak(BBL)에 넣고 37°C에서 24~28시간 혐기배양한 후 이중용혈대의 집락과 단일집락을 선정하여 순수배양하고 Azuma⁴⁰⁾과 Bergeland⁴¹⁾의 방법에 따라 생물학적 특성을 확인하였다.

4. 독소형 조사

Cl perfringens type은 cooked meat medium (BBL)에서 12시간 배양한 후 80℃에서 30분간 열처리한 다음 Duncan-Stromg(DS) medium에 계대배양하여 원심한 후 집균액을 80% ammonium sulfate 포화용액과 동량으로 혼합하여 cell sonicating 하였으며, 이를 5000rpm에 10분간 원심한 후 침전물을 0.02M phosphate buffer(pH7.0)에 2~4mg/ml 조절하여 Hogh^{42,43}, Stark와 Duncan⁴⁴, Smith⁴⁵의 방법을 이용하여 분리한 상층액을 0.45µm membrane filter에 여과한 다음, 여과액과 독소별 항독소를 혼합하여 실온에 40분간 작용 후 독소별로 마우스 미정맥에 0.4ml씩 접종한 후 48시간 동안 폐사여부를 관찰하여 분리균의 toxin type을 확인하였다.

5. 항생제 감수성 시험

분리균에 대한 약제감수성시험은 Rood의 disc 확산법⁴⁶을 적용하였고, 13종의 항생제(BBL)를 부착한 후 24시간 혐기배양하여 증식억제대를 판독하였다.

결 과

1. 설사증 발생상황

관내 5개 종돈장에서 사육중인 1~3주령의 자돈 432두를 대상으로 조사한 설사증 발생상황은 Table 1과 같다.

Table 1. Occurrence rate of diarrhea in 1 to 3 weeks piglets

Farm	No of piglets		
	Examined	Diarrhea	%
A	63	18	28.5
B	120	26	21.6
C	73	12	16.4
D	85	24	28.2
E	91	27	29.6
Total	432	97	22.4

A농장에서는 조사두수 63두중 18두(28.5%)가, B농장은 120두중 26두(21.6%)가, C농장은 73두중 12두(16.4%)가, D농장은 85두중 24두(28.2%)가, E농장은 91두중 27두(29.6%)가 설사증을 보여, 총 검사두수 432두중 97두(22.4%)에서 발생되었다.

2. 설사분변에서 *Cl perfringens* 분리 빈도

5개 종돈장의 97두에서 채취한 설사분변에서의 *Cl perfringens* 분리빈도는 Table 2와 같다. A농장에서 채취한 설사변 18두에서는 4두(22.2%)에서, B농장에서는 26두중 3두(11.5%)에서, C농장에서는 12두중 1두(8.3%), D농장에서는 24두중 4두(16.6%)에서, E농장에서는 27두중 6두(22.2%)로 나타나, 총 97두중 18두(18.5%)에서 분리되었다.

Table 2. Isolation of *Cl perfringens* from piglets with diarrhea

Farm	Isolation of <i>Cl perfringens</i>		
	Examined	Isolated	%
A	18	4	22.2
B	26	3	11.5
C	12	1	8.3
D	24	4	16.6
E	27	6	22.2
Total	97	18	18.5

3. 분리균주의 생화학적 성상

돼지에서 분리한 *Cl perfringens* 18주와 표준주 *Cl perfringens* type C의 생화학적 성상을 비교한 결과는 Table 3과 같다. 즉 분리균주는 Gram 양성간균, 이중용혈대, urease 음성, H₂S 음성, glucose 및 lactose 양성 등의 성상을 보여 표준주와의 성상이 일치하였다.

4. 설사분변내 *Cl perfringens* 분포

*Cl perfringens*가 분리되었던 자돈 18두의 장관내 균량의 범위는 13두에서는 10³⁻⁷cfu/g, 5두에서는 10⁸⁻⁹cfu/g의 범위였다(Table 4).

Table 3. Comparison of biochemical properties of 18 *Cl perfringens* isolates and reference strain

Biochemical properties	Reference strain	Isolated strain
Gram staining	Positive rod	Positive rod
Cooked meat medium	Gas and foam formation	Gas and foam formation
Doublezone hemolysis	+	18/18*
Reverse CA	+	18/18
MP test	-	0/18
H ₂ S gas	-	8/18
Indole	-	0/18
Motility	+	18/18
Glucose	-	8/18
Urease	-	8/18

*No of positive/No of examined strain

Table 4. Distribution of *Cl perfringens* in diarrheal feces

No of microorganisms in faeces(cfu/g)	No of piglets
10 ³⁻⁷	13
10 ⁸⁻⁹	5

5. 분리균주의 독소형 분포

돼지 설사분변에서 분리한 18주의 toxin을 *Cl perfringens* 5형의 antitoxin 혈청에 각각 가한 후 각 형별로 구분하여 마우스 미정맥에 주사한 후 생존을 확인한 바, C형에서만 48시간 동안 생존하였고, 다른 유형에서는 폐사되어 분리균은 toxin C형으로 판정되었다(Table 5).

6. 분리균주의 항생제에 대한 감수성

분리한 *Cl perfringens* 18주의 항생제에 대한 감수성시험 결과는 Table 6에서와 같이 cephalothin(94.4%), tetracycline(99.8%), penicillin(77.7%) 등에는 감수성이 높았으나, gentami-

cin, kanamycin 등에는 낮게 나타났다.

Table 5. Toxin type of *Cl perfringens* isolated from diarrheal faeces of piglets

No of tested	Antitoxin type*				
	A	B	C	D	E
18	-	-	18	-	-

*neutralization test

Table 6. Antimicrobial drug susceptibility to isolates

Drugs	Disk potency (µg)	Susceptibility	
		No of strain	%
Cephalothin	10	17	94.4
Tetracycline	30	16	88.8
Penicillin	10	14	77.7
Chloramphenicol	30	14	77.7
Ampicillin	30	13	72.2
Erythromycin	15	11	61.1
Amikacin	30	10	55.5
Nalidixic acid	30	8	44.4
Kanamycin	30	4	22.2
Gentamicin	30	3	22.1

고 찰

*Cl perfringens*가 분비하는 여러 toxin들은 혈관투과성으로 인해 괴사성 장염을 일으키는 것으로 알려져 있으며^{13,14,16,45-52)}, 특히 어린 가축에 설사병을 유발하여 폐사, 증체율 저하 등으로 양축 농가에 경제적 손실을 끼치는 질병이다.^{20,36,37,38,43)}

돼지에서 출혈성 장염은 여러 원인에 의하여 발병되고 있지만 *Cl perfringens*가 중요한 원인균으로 작용되고 있음이 확인된 이후 많은 연구가 지금까지 진행되고 있다.^{1,4-6,53,54)} *Cl perfringens* 감염증에 대한 연구보고에서 Berge-land³⁾ 등은 평균 감염률이 52.4%, 평균 폐사율이 26.4%라고 하였으며, Hogh⁶⁾은 폐사율을 45.7~

66.7%라고 하였다. Taylor와 Gordon⁵⁵⁾은 조사한 소 24두 중 19두(79.1%)에서, 돼지 13두 중 6두(46.1%)에서 *Cl perfringens*가 분리되었음을 보고 한 바 있어, 본시험의 결과 돼지 432두 중 97두(22.4%)에서 분리되어 50% 미만의 설사 발생율은 거의 유사하였다.

*Cl perfringens*는 항독소 중화에 의해 type A, B, C, D 및 E로 구분하고 있다. 이들 유형 중 type A는 사람과 동물에서 가스괴저를, type B는 양, 염소, 조류에서 장독혈증 및 괴사성 장염을, type C는 돼지, 양, 송아지에서 괴사성 출혈성 장염을, type D는 양과 소에서 장독혈증을, type E는 양과 소에서 병원성이 있다고 하였다⁵⁶⁾.

또한 각 type별로 생성하는 독소를 보면, type A는 α 독소를, type B는 α , β , ϵ 및 γ 독소를, type C는 주 독소인 α 및 β 와 기타 γ , ζ 및 θ 독소를, type D는 α 및 ϵ 독소를, type E는 α 및 ι 독소를 각각 생산하고 있다^{42,56)}.

돼지에서 *Cl perfringens* 감염에의 보고에서 분리균주의 type을 보면, Barnes와 Moon²⁾은 enterotoxemia의 예에서 type B와 C를 분리하였고, Azuma⁴⁰⁾ 등은 신생자돈의 괴사성 장염의 예에서 분리주가 type C임을 확인하였다. 한편, Hogh⁴³⁾, Meszaros와 Pesti⁵⁴⁾ 등도 돼지에서 분리한 *Cl perfringens*가 type C임을 확인하였고, 본 시험의 자돈 설사분변에서 분리한 균주도 type별로 중화시켜 마우스에서 검증한 결과 type C로 확인되었다.

괴사성 장염의 경우 분변 1g당 감염된 *Cl perfringens*의 균량의 범위는 Rose와 Edgar⁵⁷⁾의 경우 10⁵su1/2-6cfu로 보고 한 바 있으며, 본 실험의 결과에서도 13두(67.4%)에서 10³⁻⁷cfu로 유사한 결과를 보였으나, 나머지 5두에서는 10⁸⁻⁹cfu 수준으로 분포되어 있어, 이 경우는 단위 g당 *Cl perfringens*가 다른 균종보다 월등히 높게 분리되어 장독혈증 원인균으로 판정할 수 있었다.

*Cl perfringens*의 약제에 대한 감수성은 penicillin, ampicillin, kanamycin, cephalothin 등이 우수하다고 알려져 있으나^{46,58,59,60)}, 이 실험에서는 penicillin, cephalothin이 우수하였고, ampicil-

lin, kanamycin 등에는 내성균이 많았다. 이러한 결과는 양돈농가에서 무분별한 약제의 남용에 의한 내성균의 출현으로 사료 되었다.

이 연구에서 얻어진 결과는 최근 전문화, 집약화되는 양돈경영에 있어서 문제점으로 대두되고 있는 자돈에서의 *Cl perfringens* 감염 수준을 파악할 수 있었다. 그러나 *Cl perfringens*에 의한 설사증의 효과적인 예방을 위해서는 여러지역 양돈장을 대상으로 감염률을 조사하고, 한편으로는 효과적인 백신개발과 함께 제한효소에 의한 plasmid 분석과 병원성 관련인자의 encoding gene을 밝히는 연구가 이루어져야 된다고 판단된다.

결 론

돼지에서 출혈성 장염의 발생상황을 조사하고 발병돈에서 *Cl perfringens*를 분리하여 생화학적 성장, 독소형 및 각종 항균제에 대한 감수성검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 관내 5개 종돈장에서 사육중인 1~3주령 자돈 432두 중 설사자돈 97두를 대상으로 18주의 *Cl perfringens*를 분리동정 하였다.
2. 설사분변내의 *Cl perfringens*의 균량의 범위는 5두에서는 10⁸⁻⁹/g, 13두에서는 10³⁻⁷/g이었다.
3. 분리균주의 type을 확인하기 위하여 각각의 혈청형으로 중화시킨 후 mouse 미정맥에 접종한 바 분리균주 모두가 *Cl perfringens* type C형으로 확인되었다.
4. 분리균주는 cephalothin, tetracycline, penicillin 등에는 높은 감수성을, nalidixic acid, gentamicin, kanamycin 등에는 내성율이 높게 나타났다.

참고문헌

1. Field HI, Gibson EA. 1955. Studies on piglet mortality. 2. *Clostridium welchii* infection. *Vet Rec* 67 : 31~35.
2. Barnes DM, Moon HW. 1964. Enterotoxemia in pigs due to *Clostridium perfringens*

- type C. *JAVMA* 144 : 391~1394.
3. Bergeland ME, Dermody TA, Sorensen DK. 1966. Porcine enteritis due to *Clostridium perfringens* type C. I. Epizootiology and diagnosis. *Proc US Livest Sanit Assoc* 70 : 601~606.
 4. Bergeland ME. 1977. Necrotic enteritis in nursing piglets. *Am Assoc Vet Lab Diag* : 20th Ann Proc : 151~158.
 5. Morin M, Turgeon D, Jolette J, et al. 1983. Neonatal diarrhea of pigs in Quebec : Infectious causes of significant outbreaks. *Can J Comp Med* 47 : 11~17.
 6. Hogh P. 1967. Necrotizing infections enteritis in piglets. caused by *Clostridium perfringens* type C. II. Incidence and clinical features. *Acta Vet Scand* : 301~323.
 7. Coleman, GE. 1915. Lacide butyrique et al sclerose. *Ann Inst Pasteur* 29 : 139~156.
 8. Stewart MW, West R. 1916. Study of a strain of *B welchii* isolated in France together with some notes on gastric ulcers. *J Immun* 1 : 189~199.
 9. McNae JW, Dunn JS. 1917. The method of spread fo gas gangrene into living muscle. *Brit Med J* 1 : 727~729.
 10. Schnayerson AF, Samucle SL. 1930. The relationship of two hemotoxic antigenx in *B welchii* growth products. *J Immun* 10 : 1~53.
 11. Bull CG. 1917. The Prophylactic and therapeutic properties of the antitoxin for *Bacillus welchii*. *J Expt Med* 26 : 603~611.
 12. Celark J, Sterkiewicz S. 1936. Contribution aletude des hemotoxiues de la gangrene gazeuse. *Compt Rend Soc Biol(Paris)* 122 : 143~144.
 13. Henry H, On B. 1922. *Welchii* haemotoxin and its neutralization with antitoxin. *J Path Bacteriol* 25 : 1~18.
 14. Kadisch E. 1923. Das Hamotoxin des Frankelschen Gasbrandbazillus. *Biochem Zeitschr* 142 : 29~35.
 15. Wuth O. 1923. Serologische and biochemische studien über das hamolysin des Frankelschen Gasbrandbazillus. *Biochem Zeitscher* 142 : 19~28.
 16. Bennetts HW. 1932. "Pulpy kidney" a postmortem change in experimental infectious enterotoxemia. *Aust Inst Sci Ind Pamphlet No 35* : 26~29.
 17. Weinberg M, et Barotte J. 1929. Toxines du *Bacillus perfringens* etserums antiperfringens. *Comp Rend Soc Biol(Paris)* 100 : 733~734.
 18. Genny AT. 1933. Some anomalies in the titration of antigens and antibodies. *Intern Soc Micro(2nd Cong)* 383.
 19. Shiraishi S. 1931. Studien uber welch-Fraenkelsche Bacillen mitbesoondern Berücksichtigung ihrer toxine and antitoxin. *Japsan. J Exp Med* 9 : 613~618.
 20. Dill DA. 1933. Report on pulpy kidney disease of lambs : an acute enterotoxemia of bacterial origin. *Vet J* 89 : 399~407.
 21. Kummeneje K, Bakken G. 1973. *Clostridium perfringens* enterotoxemia in reindeer. *Nord Veterinaemed* 25 : 196~202.
 22. Marrie TJ, Haldane EV, Swartee CA, et al. 1981. Susceptibility of anaerobic bacteria to nine antimicrobial agents and *Clostridium perfringens* to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 19 : 51~55.
 23. Martin WJ, Garder M, Washington JA II. 1972. In vitro antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens. *Antimicrob Agents Chemother* 1 : 148~158.
 24. Staneck JL, Washington JA II. 1974. Antimicrobial susceptibilities of anaerobic bacteria. Recent clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 6 : 311~315.
 25. Wilsdon AJ. 1931. Observations on the cla-

- ssification of *Bacillus welchii*. *Univ Cambridge Inst Anim Path*(2nd Rpt of the Director) 53~85.
26. Glenny AT, Barr M, Clewellyn-Jones M, et al. 1933. Mutiple toxins produced by some organisms of the *Cl welchii* group. *J Path Bacteriol* 37 : 53~74.
 27. Prigge R. 1936. Experimentelle untersuchungen über die serologischen eigenschaften des Fraenkel^f schen Gasbaxillus (*B perfringens*). *Intern Soc Mic*(2nd Cong) 175~178.
 28. Dalling T. 1936. Opener : the prophylaxis and serum treatment of human and animal disease caused by anaerobic bacteria. *Intern Soc Microbiol*(2nd Cong) 491~493.
 29. Sterne M, Warrack GH. 1964. The types of *Clostridium perfringens*. *J Pathol Bacteriol* 88 : 279~283.
 30. Al-Sheikhly F, Truscott RB. 1977. The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens *Avian Dis* 21 : 256~286.
 31. Mansson E, Norberg R, Olhagen B, et al. 1971. Arthritis in pigs induced by dietary factors. Microbiological, clinical and histological studies. *Clin Exp Immun* 9 : 677~693.
 32. Mason JH. 1935. The production of immunity against *Cl welchii* type B. Wilsdon(the "lamb dysentery Bacillus") onderstepoort. *J Vet Sci Anim Iad* 5 : 391~416.
 33. McEwen AD, Paludis B. 1929-30. A new species of pathogenic anaerobic bacterium. *J Comp Path Therap* 43 : 1~21.
 34. Hansen MV, Elliott LP. 1980. New presumptive identification test for *Clostridium perfringens* : Reverse CAMP test. *J Clin Microbiol* 12 : 617~619.
 35. Smith LDS. 1979. Virulence factors of *Clostridium perfringens*. *Rev Infect Dis* 1 : 254~260.
 36. Hart B, Hooper DT. 1967. Enterotoxemia of calves due to *Clostridium welchii* type E. *Aust Vet J* 43 : 360~363.
 37. Gay CC, Blood DC, Wilkinson JS. 1975. Clinical observation of sheep with fatal symmetrical encephalomalacia. *Aust Vet J* 51 : 266~269.
 38. Moore RW, Greenlee HH. 1975. Enterotoxemia in chinchillas. *Lab Anim* 9 : 153~154.
 39. Hogh P. 1969. Necrotizing infectious enteritis in piglets, caused by *Clostridium perfringens* type C. II. Pathological changes. *Acta Vet Scand* 10 : 57~83.
 40. Azuma R, Hamaoka T, Shioi H, et al. 1983. Case report of necrotic enteritis in neonatal pigs cause by *Clostridium perfringens* type C. *Jpn J Vet Sci* 45 : 135~137.
 41. Bergeland ME. 1972. Pathogenesis and immunity of *Clostridium perfringens* type C enteritis in swine. *JAVMA* 160 : 568~571.
 42. Hogh P. 1967. Necrotizing infectious enteritis in piglets, caused by *Clostridium perfringens* type C. I. Biochemical and toxigenic properties of the *Clostridium*. *Acta Vet Scand* 8 : 26~38.
 43. Hogh P. 1969. Necrotizing infectious enteritis in piglets caused by *Clostridium perfringens* type C. III. Bacteriological diagnosis. *Acta Vet Scand* 10 : 84~100.
 44. Stark RL, Duncan LL. 1972. Purification and biochemical properties of *Clostridium perfringens* type A enterotoxin. *Infect Immun* 6 : 662~673.
 45. Smith LDS. 1980. Clostridial infections. In : Stephen BH, et al. *Isolation and Identification of Avian Pathogens*. Endwel New York Creative Printing Company Inc : 33~35.
 46. Rood JI, Maher EA, Somers EB, et al. 1978. Isolation and characterization of mu-

- ltiply antibiotic resistant *Clostridium perfringens* strains from porcine feces. *Antimicrob Agents Chemother* 13 : 871~880.
47. Bull CG, Pritchett IM. 1917. Identity of the toxins of different strains of *Bacillus welchii* and factors influencing their production in vitro. *J Expt Med* 26 : 867~883.
 48. Bull CG, Pritchett IW. 1917. Toxins and antitoxin and protective inoculation against *Bacillus welchii*. *J Exp Med* 26 : 119~138.
 49. Ford WW, Williams GH. 1919. Observation on the production of an antihaemotoxin for the haemofoxin of *Bacterium welchii* (*Bacillus aerogenes capsulatus*). *J Immunol* 4 : 385~392.
 50. George WL, Sutterend A, Rinegold SM. 1981. *Beta-lactam antimicrobials for treatment of anaerobic infections. A review of in vitro activity and therapeutic efficacy in salton and shockmen*(Editors), *B-lactam antibiotics : Mode of action, new developments and future prospects*. New York Academic Press. 493~550.
 51. Gilsert SJ. 1934. Pulpy kidney disease(enterotoxemia) of sheep in Palestine. *J Comp Path Therap* 47 : 255~258.
 52. Kojiman K. 1923. Über aktivierung der bildung giftiger substanzen von *Bacillus emphysematos* Frankel olurch einige katalysatoren. *Zeitschr Immunitatsf* 37 : 203~210.
 53. Gubash SM. 1991. Improved egg yolk agar plate medium for the detection of clostridial phospholipase *C* activity. *Res Microbiol* 142 : 87~93.
 54. Meszaros J, Pesti L. 1965. Studies on the pathogenesis of gastroenteritis in swine. *Acta Vet Acad Sci Hung* 15 : 465~470.
 55. Taylor AW, Gordon WS. 1938. A survery of the types of *Cl welchii* present in soil and in the intestinal contents of animals and man. *Anim Dis Res Assoc* 5 : 271~277.
 56. Sterne M, Warrack GH. 1964. The types of *Clostridium perfringens*. *J Path Bacteriol* 88 : 279~383.
 57. Rose AL, Edgar G. 1936. *Aust Vet J* 12 : 212.
 58. Martin WJ, Gardner M, Washington JA. 1972. *In vitro* antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolates from clinical specimens. *Antimicrob Agents Chemother* 1 : 148~158.
 59. Marrie TJ, Haldane EV, Swantee CA, et al. 1981. Susceptibility of anaerobic agents and demonstration for decreased susceptibility of *Clostridium perfringens* to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 19 : 51~55.
 60. Appelbaum PC, Chatterton SA. 1978. Susceptibility of anaerobic bacteria to ten antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 14 : 371~376.