

수생조류에서 *Clostridium botulinum* type C에 의한 발증사례

채희선* · 김능희 · 손홍락 · 김창기 · 김선홍 · 이정학
서울시보건환경연구원

(접수 2009. 12. 1, 게재승인 2009. 12. 22)

Botulism with *Clostridium botulinum* type C in waterfowl, 101 cases

Hee-Sun Chae*, Neung-Hee Kim, Hong-Rak Son, Chang-Ki Kim,
Sun-Heung Kim, Jung-Hark Lee

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health & Environment, Seoul 427-070, Korea

(Received 1 December 2009, accepted in revised from 22 December 2009)

Abstract

Botulism in wild waterfowl has been reported in many areas of the world. In 18 October 2008 to 22, 101 dead wild ducks were found in Anyangcheon. 24 of dead birds were spotbill (*Anas poeilorhyncha*), 56 were Mallard (*Anas platyrhynchos*), 18 were green-winged teal (*Anas carolinensis*) and 3 were others. Clinical sign of the sick birds were flaccid paralysis of the neck. At autopsy, most birds had no specific lesions. Stomach is empty. In the mouse bioassay, Samples of serum and intestinal contents taken from 9 dead birds killed all the injected mice, and their toxicity was neutralized by the antitoxin against *C. botulinum* type C toxin.

Key words : Botulism, *C. botulinum* type C, Anyangcheon

서 론

*Clostridium botulinum*은 그람 양성 혐기성 간균으로 아포를 형성하며 토양 속에 광범위하게 존재한다. 이 균은 7개의 항원적으로 다른 신경독소를 생산하는데, 이 독소의 혈청형은 A~G형이 있으며, 조류에서는 A, C와 E형 독소가 중독을 일으킨다(김 등, 2008). 보툴리눔증은 전 세계 많은 지역에서 발생보고가 있으며, 우리나라에서도 김 등(2008)이 흑고니에서 보툴리눔증을 보고한 바 있으며, Kang 등(2009)은 탄천의 야생

오리에서 type C에 의한 발증사례를 보고한 바 있다.

동물들 중에서는 조류가 특히 보툴리눔에 감수성이 있으며, 아마도 곤충이나 파리의 유충, 무척추 동물의 사체 그리고 상한 음식 등을 섭취하기 때문인 것으로 보인다(Franciosa 등, 1996). 보툴리눔 독소는 신경근 연결점에서 신경전달물질인 아세틸콜린의 방출을 억제하여 근육마비 및 신경장애를 일으킨다. 독소에 감염된 조류는 비정상적인 모습을 보이는데 이는 이완성 마비로 인하여 사지의 이완, 머리와 목의 이완이 관찰되며, 결국 호흡의 실패로 폐사하게 된다(정 등, 2003년; Sugiyama, 1980).

보툴리눔 독소의 검출을 위하여 mouse bioassay와

*Corresponding author: Hee-Sun Chae, Tel. +82-2-570-3440,
Fax. +82-2-570-3442, E-mail. heedoogy@seoul.go.kr

독소중화시험, 그리고 균분리를 실시하는 것이 가장 확실한 방법이지만, 역학조사 시 환경요인과 임상증상도 더 중요한 진단의 키가 될 수 있다. 보툴리눔균은 배양의 어려움이 많아 독소유전자의 검출을 위해 polymerase chain reaction (PCR) 방법도 많이 활용되고 있다(Franciosa 등, 1996; 김 등, 2008; Lindstron과 Korkeala, 2006).

이 연구에서는 한강 안양천하류에서 원인불명의 야생조류 101마리가 2008년 10월 14일부터 10월 22일까지 폐사체가 지속적으로 발견됨에 따라 원인규명을 실시하기 위하여, 안양천의 역학조사, 임상증상, 부검소견, 미생물 검사, 마우스접종 실험 결과를 통하여 서울시에서 서식하고 있는 야생조류의 질병을 진단하고, 이로 인해 추가적인 질병확산 예방 및 도시방역의 방향을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

병력 및 부검소견

2008년 10월 14일부터 10월 22일까지 안양천에서 한강으로 유입되는 교차지점에 야생조류의 폐사체 101마리가 지속적으로 폐사하여 연구원에 병성감정이 의뢰되었다. 폐사체를 가지고 부검을 실시한 결과, 육안소견 상 별다른 병변은 관찰되지 않았으나, 위내용물이 비워져 있었다.

세균배양 및 분리

*C. botulinum*을 분리하기 위하여 폐사체의 장내용물과 안양천의 흙을 채취하여 cooked meat medium (Difco, USA)에 접종하여 36°C에서 24시간 혐기배양하였다. 증균배양액을 난황이 포함된 tryptose sulfite cycloserine (TSC) agar (Merck, France)에 도말하여 36°C에서 24시간 혐기배양하였다. TSC agar에서 진주양의 반짝이는 작은 집락을 분리하였고, 이를 다시 혈액배지에 도말하여 용혈성 여부를 판단하였다. 분리 균은 API 20A로 생화학적 검사를 실시하여 *C. botulinum*을 동정하였다. 분리균의 독소생성 능력 시험은 균 배양 후 상층액을 마우스에 복강접종 방법으로 확인하였다.

보툴리눔 독소의 검출과 동정

폐사체의 혈액은 혈청을 분리하여 0.45 μ m 필터로 여과한 뒤 2수의 ICR 마우스의 복강에 0.5ml씩 접종한 뒤 독소의 중독증상과 폐사여부를 판단하였다. 장내용물은 젤라틴인산희석액(pH 6.2)에 희석한 후 2~3분 동안 vortexing하여 잘 혼합한 후 4°C에서 2시간 동안 방치한 후 다시 vortexing하여 균질화하였다. 균질화된 용액을 15,000 \times g로 20분간 원심하여 분리된 상층액을 0.45 μ m의 필터로 여과한 후 2수의 마우스 복강에 0.5ml씩 접종한 후 관찰하였다. 동시에 장내용물의 여과액을 100°C에서 20분간 boiling한 후 2수의 마우스에 0.5ml씩 접종한 후 관찰하였다. 폐사가 관찰된 마우스의 혈청과 장내용물 0.5ml에 보툴리눔 독소에 대한 type C antiserum (질병관리본부, Korea) 0.5 μ l를 혼합하여 실온에서 45분 동안 반응시킨 후 각각 2수의 마우스의 복강에 접종하여 마우스 독소 중화시험을 실시하였다.

결과 및 고찰

2008년 10월 14일부터 10월 22일까지 한강 안양천하류에서 원인불명의 야생조류 101마리가 폐사체가 지속적으로 발견됨에 따라 원인규명을 실시하기 위하여, 병성감정 의뢰된 사체의 부검소견, 원인미생물 검사, 마우스접종 실험을 실시하였다. 안양천은 총 32.21 km로 경기도에서 시작되어 한강으로 합류하는 지천으로, 가을과 겨울에는 수면성 오리와 백로류가 주로 서식하는 것으로 알려져 있다(서울시생태정보시스템). 폐사체는 안양천에서 발생하여 한강의 교차점에서 발견되었으며, 총 101수가 2008년 10월 14일부터 22일까지 8일간 순차적으로 발생하였다. 안양천의 수풀 속에는 보툴리눔에 감염되어 움직이지 못하고 있는 오리와 마비로 인해 목을 가누지 못하는 오리가 관찰되었

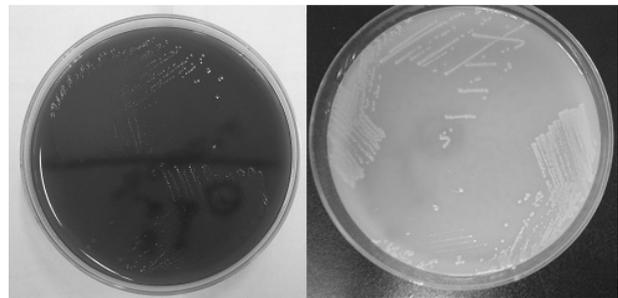


Fig. 1. *Clostridium botulinum* in Blood agar and TSC agar.



Fig. 2. Carcasse and *C. botunum*-infected duck were found around the Anyangcheon.

으며, 부분적으로는 정상적인 오리과 폐사되어 수면위에 떠다니는 모습도 관찰되었다(Fig. 1). 조류의 보툴리눔증은 ‘carcass-maggot cycle’을 보이는데 이는 감염된 사체가 상하여 구더기가 발생하고, 이를 다시 다른 개체가 섭취하여 폐사하고 다시 구더기가 발생하는 감염환이 형성된다고 한다. 따라서 폐사체는 순차적으로 발생하는 양상을 보이며, 역학조사시 건강한 개체와 이환된 개체 그리고 폐사체가 같이 발견된다고 하여 (Friend와 Franson, 1999) 이 조사결과와 일치하였다. 보툴리눔증은 폐사조류의 종류를 보면 청둥오리 24수, 흰뺨검둥오리 56수, 쇠오리 18수, 기타조류 3수였으며, 역학조사시 안양천은 강수량이 적어 침전물이 많이 쌓여 보툴리눔균이 서식하기 좋은 환경을 가지고 있었다. Boroff와 Reilly(1959, 1962)는 보툴리눔 중독의 진단을 위해서는 역학적인 특성이 중요하다고 언급한 바 있으며, 낮은 수심에서 살고 있는 조류에서 발생이 잘 된다고 하였다. 이는 침전물의 증가와 부패물질의 축적으로 인한 용존산소량의 감소로 균 증식이 증가하기 때문인 것으로 보인다.

부검소견은 간, 비장, 췌장 그리고 폐 등은 정상소견을 보였으며, 위는 비어 있었다. *C. botulinum*의 분리를 위하여 폐사체의 장내용물에서 균분리를 실시하였다. TSC agar에서 진주양의 반짝이는 집락을 분리하였으며, 혈액배지상에서는 용혈성이 관찰되지 않았다(Fig. 2). 보툴리눔 독소의 검출을 위하여 4주령의 ICR mouse에 폐사체의 혈청과, 장내용물을 복강접종한 결과 마우스는 사지의 실조와 노력성의 복식호흡을 하였으며, 호흡근의 마비로 폐사하였으며, 혈청은 5~6시



Fig. 3. Wasp-like narrowed waist appearance of the mice injected with the serum of a diseased waterfowl.

간 만에, 장내용물을 접종한 2마리는 15~16시간 만에 폐사하였다. 대조군으로 장내용물과 혈청을 끓여서 접종한 마우스는 폐사하지 않았다. Lindstron과 Korkeala (2006) 마우스에 독소 접종 시 fuzzy hair, 근의 약화, 호흡곤란으로 인한 ‘wasp-like narrowed waist’가 관찰된다고 하였으며, 본 실험에서도 같은 양상이 관찰되었다(Fig. 3). 독소중화시험결과 독성이 있다고 판단된 혈청과 장내용물이 *C. botulinum* type C antitoxin에 중화되었다.

위와 같은 역학조사, 전형적인 임상증상, 부검소견, 균 분리 및 마우스접종 실험 및 중화실험결과를 종합하여 *C. botulinum* type C에 의한 보툴리눔으로 진단하였다.

결 론

보툴리누스균은 야생조류의 서식환경에 널리 분포되어 있으므로 조류의 위장관내에서 쉽게 분리되며 폐사한 조류의 장관내(협기성)에서 급격히 증식하면서 독소를 분비한다. 이 연구에서는 한강 안양천하류에서 발생한 폐사체에 대한 원인조사를 아래와 같이 수행하였다.

2008년 12월 18일부터 22일까지, 101수의 폐사체가 안양천에서 발견되었으며, 폐사체에 대한 부검결과 위 내용물이 없었으며, 간 등 실질장기에 특이 소견은 관찰되지 않았다. 장 내용물을 채취하여 균 분리를 실시한 결과 TSC agar에서 진주양의 반짝이는 난황반응이 관찰되는 집락을 분리하였으며, Blood agar에서는 용혈성이 관찰되지 않았다. 생화학검사는 API 20A로 실시하였다. 마우스에서의 독성실험은 폐사체에서 장 내용물을 분리하여 만든 유제와 혈청을 이용하였으며, 접종시 혈청은 5~6시간, 장유제액은 15시간 전후로 폐사하였다. 항독소중화시험은 항혈청 type C와 시료를 실온에서 30분간 반응시킨 후 마우스의 복강내로 접종하여 독소의 중화능을 확인하고 보툴리눔증으로 진단하였다.

참 고 문 헌

- 김영섭, 김보숙, 신남식. 2008. 흑고니(*Cygnus olor*)의 보툴리눔독소증. 대한수의학회지 48(2): 161-165.
서울시생태정보시스템(<http://ecoinfo.seoul.go.kr>).
- 정경태, 강도현, 유천권, 최종현, 성원근. 2003. 국내 최초 보툴리누스 중독증 발생 1예. 대한임상미생물학회지 6(2): 160-163.
- Boroff DA, Reilly JR. 1959. Studies of the toxin of *Clostridium botulinum*. V. Prophylactic immunization of pheasants and ducks against avian botulism. *J Bacteriol* 77(2): 142-146.
- Boroff DA, Reilly JR. 1962. Studies of the toxin of *Clostridium botulinum*. VI. Botulism among pheasants and quail, mode of transmission, and degree of resistance offered by immunization. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 20: 306-313.
- Friend M, Franson JC. 1999. Avian botulinum. Field manual of wildlife diseases: birds. USGS Science: 271-280.
- Franciosa G, Fencia L, Caldiani C, Aureli P. 1996. PCR for detection of *Clostridium botulinum* type C in avian and environmental samples. *J Clin Microbiol* 34(4): 882-885.
- Kang MS, Kim AR, Jung BY, Kwon YK, Lee KM, Kim MJ, Joh SJ, Lee YJ, Bong YH, Shin NR, Yang CB, Kwon JH. 2009. An outbreak of type C botulism in wild ducks in Tancheon stream. *Kor J Vet Publ Hlth* 33(3): 181-184.
- Lindström M, Korkeala H. 2006. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiol Rev* 19(2): 298-314.
- Sugiyama H. 1980. *Clostridium botulinum* neurotoxin. *Microbiol Rev* 44(3): 419-448.