

경주에서 분리된 탄저균에 대한 연구

이준규·이은미·차우양·김정화·김영환·이양수·김우현·정종식
경상북도가축위생시험소 동부지소

Investigation on *Bacillus anthracis* isolated from Kyong-Ju

Jun-Gue Lee, Eun-Mi Lee, Woo-Yang Cha, Jung-Hwa Kim,

Young-Hoan Kim, Woo-Hyun Kim, Yaung-Su Lee, Jong-Sik Jyeong

Kyung Buk Veterinary Service Laboratory(Kyong-Ju)

Abstract

The present study was conducted to investigate results of *B. anthracis* isolated from Anthrax in the Kyong-Ju of Feb. 12. 1994.

1. In biochemical feature, *B. anthracis* was a gram-positive rod, non-motility, sporulation, capsulation. It was positive in gelatinase, starch hydrolysis, glucose. But negative in urease, arabinose, mannitol, xylose.
2. *B. anthracis* grew well on BA, Br A, TSA after incubation for 24 hours. The organism grew well on BA, Br. A, NA, TSA after incubation for 72 hours. The media grew well on Br A instead of BA.
3. On 5% blood agar by laboratory animal, β -hemolysis was produced from 36 hours to 48 hours incubation. There was perfect β -hemolysis after incubation for 48 hours. On the other side β -hemolysis was begun on 5% goat blood agar after incubation for 60 hours.
4. In the test of antimicrobial susceptibility, *B. anthracis* was very sensitive to AM, CF, TE, ENR, GM, AN, DFX, S, P, TYLO, N, KM, C, E, Lins+Sp, NN, CC, CFP, CB were sensitive one by one. *B. anthracis* was no-sensitive to L, XNL, TIA, CL, SXT.
5. *B. anthracis* had never sensitivity to direct inoculation of rat and chicken, after subcutaneous inj. It was very sensitive to mouse and goat, hamster, guinea pig, rabbit had a sensibility one by one.
6. The dead laboratory animal which had been inoculated with *B. anthracis* preserved at 37°C incubation, *B. anthracis* didn't cultivate on non-dissected animal after 80 hours but cultivate

on dissected animal after 360 hours.

7. The rapidly death could cause high concentration, died from 420 after S.C.
8. The blood smeared samples of hamster from inoculation with *B. anthracis*, spore germinated in 37°C after 5 hours, in 32°C after 6 hours, in room temperature after 9 hours, in -4°C to -20°C after 10 hours.
9. *B. anthracis* inoculated to laboratory animal after SC or PO. Mice and rats feces didn't cultivated with *B. anthracis* after SC, but did cultivated with *B. anthracis* after PO.
10. In the test of disinfectant, *B. anthracis* was high effective to HgCl₂, formalin, effect phenol, cresol, but non-effect NaOH, ethanol.

Key Words : Anthrax, *Bacillus anthracis*, Antimicrobial susceptibility, Disinfectant, Spore germination.

서 론

탄저는 포유동물의 급성·열성 전염병으로서 비장의 종대, 피하점막의 부종 및 출혈을 특징으로 하는 법정 전염병이며, 때로는 사체의 자연공(코, 입, 항문, 눈)에서 암흑색을 띤 혈액이 유출되기도 하며, 부검시 사후강직이 없고 혈액응고가 불량하며, 가축뿐만 아니라 사람에서도 발병하는 인수공통전염병으로서 더욱 중요한 질병중의 하나이다.^{1,4~9,11)}

탄저균은 침입문호에 따라 피부탄저(Cutaneous Anthrax), 폐탄저(Pulmonary Anthrax), 장탄저(Alimentary Anthrax)로 구분하며, 특히 피부탄저는 사람에서 가장 흔히 발생하는 형태로, 감염된 동물을 직접 취급하거나 오염된 배설물 취급시 피부의 상처부위로 침입하며, 잠복기는 1~5일 정도이고 발병초기는 감염부위에 소양감 있는 구진이 생기고, 이어서 수포, 궤양, 검은 가피로 변하고 부종이 생기며, 이로 인해 저혈압이 일어날 수도 있다.^{4~9,15)} 소수의 환자에서는 발열, 근육통, 두통이 일어나며, 심한 경우는 감염부위

의 임파선염이 발생하여 균혈증 및 뇌염이 유발되기도 하는데 치료하면 거의 완치가 가능하며, 치료하지 않을 경우 24%정도 사망한다.

폐탄저는 감염된 동물의 가죽, 털, 뼈 등을 취급하는 작업장에서 탄저균에 오염된 공기를 사람이 흡입함으로써 발생하는 형태이며, 코를 통해 폐에까지 이행되고, 잠복기는 1~6일이며, 초기에는 열이 올랐다 내렸다 하는 감기증세와 유사한 증상을 보이며 피로감, 근육통, 기침 등이 나타나고 후기에는 심한 호흡곤란, 청색증, 저산소증, 객혈, 천명음, 흉부통증, 발한증상이 나타나고 악화되면 균혈증, 쇼크, 뇌염 등으로 인한 호흡곤란으로 1~2일후에 사망한다. 폐탄저는 잘 발생되지 않지만 발생시는 거의 치명적이어서 적절한 치료를 할 경우에도 사망률이 80~100%정도이다.

장탄저는 이번 경주예에서 처럼 감염된 고기를 섭취하므로써 발병하게 되는 형태로 잠복기는 2~5일이고, 먼저 구강과 인후두 부위에서 증상을 유발하는 즉 입술과 목의 종창 및 통증, 목주위의 임파선염, 기관지 압박, 호흡곤란 증세를 일으키며, 이어서 체열, 심한 복통, 토혈, 전신장기의 출

혈, 복수형성, 설사 증세가 나타나고 병이 악화되면 뇌염, 독혈증, 쇼크 등으로 사망하게 된다.

탄저는 *Bacillus anthracis*가 병원체로서 그람양성간균이며, 운동성이 없고, 산소 존재하에서 spore를 형성하며, 동물체내 또는 혈액·혈청을 포함한 배지에 배양할때 capsule을 형성하며, 배지에서 배양한 균은 연쇄상으로 낚싯대 모양을 이루는 호기성 균이며 한천평판에서 곰보유리모양 또는 측모상의 집락을 형성하는 것이 특징이다.^{5,9,10,12~14)}

탄저에 대한 기록은 Carbon Malin(1769), Chabert(1780)부터였으며, Barthelemy(1823)가 동물간에 전염되는 질환이라는 것을 처음으로 증명하였고, Pollender(1849)는 폐우 혈액중에서 간상의 균체를 발견한 바 있으며, Davaine and Rayer(1850)는 동물의 혈액으로부터 비운동성의 균체를 증명하였고, Brauel(1857)은 비운동성 소형균체로, 인축간에 전염되는 Zoonoses라는 것을 처음으로 밝혀냈다.

Davaine(1863)은 탄저로 죽은 동물 사체의 혈액내에는 선상 간균이 있다는 것을 증명하고 이 간균을 "Bacterides"라 명명하였으며, 가토에 인공감염시키는데 성공하고 사람의 피부감염시 악성농양을 형성하며, 또한 guinea pig를 감염 치사시키는 것을 관찰하였다.

Tiegel(1871)과 pasteur와 Joubert(1877)는 Davaine의 "Bacterides"를 세균 여과후 동물 접종하면 발병되지 않으나, 여과하지 않고 접종하면 감염폐사하는 것을 관찰하여 "Bacterides"가 탄저의 원인체임을 추시하였다. 실제적으로 탄저의 원인균이 *Bacillus anthracis*라는 것은 1876년 Koch가 인공배양에 성공함으로써 증명하였다.^{1,16,17)}

그후 탄저는 세계적으로 보고되고 있으며 인도, 중국, 아세아, 시베리아, 러시아, 북아프리카, 남미의 일부지역, 멕시코와 우리나라에서 중요시하

는 전염병 중의 하나이다.

1994년 2월 12일 경주시 배반동의 한 농가에서 사육한우 23두 중 1두에서 발생한 탄저 감염우는 폐사직전 주민들에 의해 밀도살되어 160명이 섭취하였고, 그중 39명이 발병(입원 또는 통원치료)하여 발병률이 25%였으며, 연령이 증가할수록 그 비율이 높아 50대 이상은 발병률이 40% 이상이었고, 60세 이상 중 3명은 5~11일 사이에 사망하였다. 잠복기는 2일 이하가 38%, 3~5일이 34%, 6일 이상이 28%였으며, 복막염 수술을 받은 환자도 2명이나 되고, 4개월 이상 입원환자도 3명이나 되었다. 생간 섭취자는 24명중 21명이 발병하며 88%의 발병율이었으며, 생고기를 먹은 사람은 67%, 곰국을 먹은 사람도 2명이 발병하였다.

이에 본건에서 분리된 탄저균의 생화학적 성상과 방역일선에서 필요하다고 생각되는 제반 실험들을 실시하여, 탄저균 분리동정 및 방역대책 수립의 기초자료로 삼고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

· 공시세균 : 1994년 2월 12일 경주시 배반동의 폐사한우에서 분리된 *Bacillus anthracis*를 사용하였다.

· 실험에 사용한 동물 및 혈액 : mouse(ICR계), rat(sprague-dawley계), guinea pig(hartley계), hamster(golden), 토끼(울릉도산), 토종 닭, 거위, 재래 산양, 면양, 돼지, 한우 혈액 등을 사용하였다.

· 배 지 : 산양 또는 면양의 7% blood agar(BA), brucella agar(Br A), DNase agar(DNA), mueller hinton agar(MHA), nutrient agar(NA), sabouraud dextrose agar(SDA), trypticase soy agar(TSA), eosin methylene

blue agar(EMBA), MacConkey agar(MA), mannitol salt agar(MSA), salmonella shigella agar(SSA)를 사용하였으며, Difco 제품이였다.

2. 방 법

· 생화학적 검사 : Cowan¹³⁾의 방법을 참고로 하여 일반적인 검사를 실시하였다.

· 인공 배지 배양성 검사 : 탄저균을 BA, Br A, DNA, MHA, NA, SDA, TSA, EMBA, MA, MSA, SSA에 37°C 24시간, 32시간, 48시간, 60시간, 72시간 배양후 집락 크기를 측정하였다.

· 실험동물별 용혈성 시험 : rat, guinea pig, hamster, rabbit, cattle, goose, chicken, goat, swine 등의 혈액을 채취하여 5% 혈액배지를 만들어 시간대별로 72시간까지 배양 판독하였다.

· 항생제 감수성 시험 : 항생제 감수성 정도를 알아보기 위하여 sensi-disc(BBL)를 사용하였다.

· 실험동물 폐사시간 측정 : mouse, rat, guinea pig, hamster, rabbit에 균부유액을 9억/ml의 농도로 만들어 각각 피하접종하여 폐사시간을 측정하였다.

· 폐사체에서의 균분리 시험 : 37°C 부관기에 폐사체를 개봉 또는 밀봉상태로 보존하면서 시간대별로 부검하고, 잡균을 없애기 위하여 75°C 30분간 열처리하여 Nutrient broth에 증균하여 분리하였다.

· 공격력에 대한 폐사시간 측정 : *Bacillus anthracis* 균수를 달리하여 각각 mouse에 공격하여 폐사시간을 측정하고, 균을 재분리하여 탄저균에 의해 폐사된 것을 확인하였다.

· 탄저균을 접종한 실험동물의 분변에서 균 회수 시험 : 탄저균을 실험동물별 경구 및 피하로 접종한 후 분변에서 균 회수를 시도하였다.

· 아포 형성 시간 : hamster에 일정량의 균을

피하주사하여 죽기직전 심장채혈한 후 혈액도말 표본을 만들어 온도별로 보관하여 아포형성 시간을 측정하였다.

· B. Anthracis 저항성 시험 : formalin(duksan), HgCl₂(이화학공업), NaOH(duksan), phenol(duksan), ethyl alcohol(duksan), cresol(avondale, 영국)을 농도별, 시간별로 탄저균에 처리하여 BA에 도말, 배양하여 사멸정도를 검사하였다. 또한 *Bacillus anthracis*의 가열과 고압멸균에서의 저항성도 검사하였다.

결 과

경주 배반동의 폐사 한우 비장에서 분리된 *B. anthracis*의 특성은 (표 1)에서와 같이 gram 염색성은 양성이었으며, 비장의 직접도말염색표본에서는 독립된 간균으로 나타나고, 배지에서 배양균은 낚싯대 모양의 연쇄를 이루었으며, 실온에서 24시간 정도 방치한 배지에서는 spore가 형성되었고, 집종동물체에서 직접도말염색한 탄저균은 ravigar염색에서 capsule을 관찰할 수 있었다.

비장 유제액을 100°C 30분간 증탕시켜 상층액을 여과지로 여과 후 ascoli진단액으로 반응시켰을 때 흰색링을 관찰할 수 있었으며, penicillin 0.5IU를 함유한 배지에서 팽화한 균체가 진주상의 연쇄를 이루었고, 운동성, urease, citrate, arabinose, mannitol, xylose에서는 음성이었고, gelatinase, starch hydrolysis, glucose, anaerobic-glucose에서는 양성반응을 보였다.

보통 한천 배지에서 37°C 24시간 배양시 탄저균 집락은 표면이 매끄럽지 않고 그 변연이 곱슬머리처럼 뻗어나온 모양(medusa head shape)을 보였다.

(표 2)에서 보는 것과 같이 배지종류에 따른 탄저균의 집락크기 비교에서 24시간까지는 BA,

Table 1. Characteristics of *Bacillus anthracis* isolated from Kyoug-Ju city

Test	Result	Test	Result
Gram stain	+	Citrate	-
Spore	+	Gelatinase*	+
Capsule	+	Starch hydrolysis	+
Ascoli	+	Glucose	+
Pearl	+	Anaerobic glucose	+
Agar-gel diffusion	+	Arabinose	-
Motility	-	Mannitol	-
Urease	-	Xylose	-

* a week culture

Table 2. Comparison of growth rate

Agar	Colony size cultured at 37°C for(cm)				
	24hr	36hr	48hr	60hr	72hr
B A	0.55×0.55 (0.55)	0.7×0.75 (0.73)	0.9×1.0 (0.95)	1.1×1.1 (1.1)	1.1×1.2 (1.15)
Br A	0.5×0.6 (0.55)	0.7×0.75 (0.73)	0.9×1.0 (0.95)	1.0×1.1 (1.05)	1.0×1.1 (1.05)
D N A	0.1×0.1 (0.1)	0.25×0.3 (0.28)	0.35×0.45 (0.4)	0.52×0.54 (0.53)	0.65×0.8 (0.73)
M H A	0.3×0.35 (0.33)	0.45×0.5 (0.48)	0.6×0.65 (0.63)	0.75×0.8 (0.78)	0.75×0.8 (0.78)
N A	0.2×0.3 (0.25)	0.7×0.75 (0.725)	0.9×1.0 (0.95)	1.1×1.1 (1.1)	1.1×1.2 (1.15)
S D A	0.05×0.05 (0.05)	0.3×0.3 (0.3)	0.35×0.45 (0.38)	0.4×0.5 (0.45)	0.45×0.5 (0.48)
T S A	0.4×0.45 (0.43)	0.65×0.65 (0.65)	0.75×0.75 (0.75)	0.8×0.8 (0.8)	0.8×0.85 (0.83)
EMBA, MA, MSA, SSA	-	-	-	-	-

Table 3. Hemolysis test in blood agar plate of *Bacillus anthracis*

Laboratory animal	Culture time			비) 고
	24 hr	48 hr	72 hr	
Cattle	-*	+**	+	* : non-hemolysis ** : β-hemolysis
Chicken	-	+	+	
Goat	-	-	+	
Goose	-	+	+	
Guinea pig	-	+	+	
Hamster	-	+	+	
Rabbit	-	+	+	
Rat	-	+	+	
Swine	-	+	+	

Table 4. Plate diffusion tests used antibiotics

Antibiotics	Potency (μg)	Result (mm)	Zone diameter interpretive standard	
			Resistant (mm)	Sensitive (mm)
Amikacin(AN)	30	26	14	17
Ampicillin(AM)	10	29	11	14
Carbenicillin(CB)	100	23	17	23
Cephalotine(CF)	30	29	14	18
Cefoperazone(CFP)	75	23	15	21
Chloramphenicol(C)	30	22	12	18
Clindamycin(CC)	2	20	14	17
Colistin(CL)	10	0	8	11
Danofloxacin(DFX)*	5	29	15	21
Enrofloxacin(ENR)**	10	32	17	22
Erythromycin(E)	15	22	13	18
Gentamicin(GM)	10	22	12	13
Kanamycin(KM)	30	23	13	18
Lincomycin(L)	2	16	16	21
Neomycin(N)	30	22	12	17
Penicillin(P)	10	28	11	22
Streptomycin(S)	10	21	11	15
Trimethoprim-sulfa methoxazole(SXT)	1.25+ 23.75	0	10	16
Tetracycline(TE)	30	30	14	19
Tobramycin(NN)	10	18	12	15
Tiamulin(TIA)***	.	13	23	28
Tylocin(TyLO)***	.	32	22	26
Ceftiofur(XNL)***	.	19	19	24
Lincomycin-spectino mycin(LIN+SP)***	.	24	16	20

* : Difco 제품

** : Bayer 제품

*** : 덴마크 ROSCO사 제품

Br A에서 가장 컸으며, 72시간에서는 BA, NA, Br A, TSA, MHA, DNA, SDA순이었으며, NA 집락의 모양은 길쭉한 비정형이었으며, EMBA, MA, MSA, SSA에서는 전혀 배양되지 않았다.

실험동물별 혈액배지에서의 β -용혈성 시험은 (표 3)에서와 같이 24시간까지는 거의 용혈이 일어나지 않았고, 36시간 부터 서서히 용혈이 일어나기 시작하여 대부분의 동물에서 48시간에 β -용혈이 일어났으며, 산양에서는 60시간 정도 부터 용혈이 일어나기 시작하였다.

탄저균에 대한 항균제 감수성정도를 알아보기 위하여 Sensi-Disc를 사용하여 조사한 결과 (표 4)에서와 같이 대부분의 항균제에 중등도 이상의 감수성을 나타내었으며, AM, CF, TE, ENR

등이 가장 감수성이 컸고, GM, AN, DFX, S, P, TyLO, N, KM, C, E, LIN+SP, NN, CC, CFP, CB의 순이었으며, L, XNL, TIA는 저항성을 나타내었고, CL, SXT는 전혀 감수성이 없었다.

실험동물별 탄저균에 대한 감수성 및 평균폐사 시간을 측정하기 위하여 9억 /ml 농도의 균부유액을 피하접종하였다. 그 결과 (표 5)에서와 같이 rat와 chicken에서는 전혀 감수성이 없었고, mouse가 가장 민감한 감수성을 나타내어 평균 28시간에 폐사하였고, goat는 35시간, hamster 37시간, guinea pig 45시간, rabbit 54시간 순으로 감수성을 나타내었다.

탄저균을 접종하여 폐사한 실험동물(mouse,

Table 5. Inoculation test of *Bacillus anthracis* on animals

Animals	Body weight	Inoculation quantity	Inoculation heads	Mean time of death
Mouse	16~20g	0.1~0.2ml	40	28hrs
Rat	90g	0.2~0.8ml	15	—*
Guinea pig	500g	0.3~0.5ml	15	45
Hamster	160g	0.3~0.5ml	20	37
Rabbit	1.9kg	0.3~0.5	10	54
Goat	25kg	0.5	1	35
Chicken	0.8kg	0.3~0.5ml	3	—

*. : Normal state

Table 6. Isolation test from laboratory animals inoculated *B. anthracis*

Keeping time in 37°C	8hrs	12	24	36	48	60	72	80	96	120	240	360
Non-dissected	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Dissected	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

guinea pig, hamster, rabbit)을 개복한 것과 개복하지 않은 것을 각각 37℃ 부란기에 보존하였다가 시간별로 실질장기를 NB에 넣어 잡균을 없애기 위해 70℃ 30분간 처리한 후 37℃ 18~24시간 증균하고 증균액을 BA에 도말배양하여 탄저균의 생존유무를 관찰하였던 결과 (표 6)과 같이 개복하지 않은 폐사체의 경우 72시간까지는 탄저균이 분리되었으나, 80시간 이후부터는 분리되지 않았으며, 개복하여 보존한 사체의 경우는 360시간 이후에서는 탄저균이 분리되었다.

(표 7)은 탄저균의 접종경로와 접종량에 의한 폐사시간을 측정하여 *B. anthracis*를 균수를 달리하여 각각 mouse에 공격하여 폐사시간을 측정하였고, 폐사체는 부검, 배양하여 탄저균에 의

해 폐사한 것을 확인하였으며, *B. anthracis*의 접종균수는 접종후 잔여분을 SPC법(표준한천 평판배양법)으로 계산하였다. 그 성적을 보면 1.78×10^7 개의 피하접종 및 근육주사에서는 36시간 1.78×10^6 은 44시간, 1.78×10^5 은 79시간, 1.78×10^4 은 50시간, 1.78×10^3 은 48시간의 폐사시간을 나타내었고, 3.12×10^7 개의 피하접종에서는 22시간, 3.12×10^6 은 40시간, 3.12×10^5 은 42시간, 3.12×10^4 은 43.5시간, 3.12×10^3 은 113시간, 4.2×10^7 개의 피하접종에서는 16시간, 4.2×10^6 은 48시간, 4.2×10^5 은 79시간, 4.2×10^4 은 115시간, 4.2×10^3 은 96시간, 4.2×10^2 은 235시간의 폐사시간을 나타내었다.

실험동물(hamster)에 일정량의 균을 피하접종

Table 7. Leathal time by inoculation number

S. C and I. M		S. C			
Number	Leathal time	Number	Leathal time	Number	Leathal time
1.78×10^7	36hrs	3.12×10^7	22hrs	4.2×10^7	16hrs
1.78×10^6	44	3.12×10^6	40	4.2×10^6	48
1.78×10^5	79	3.12×10^5	42	4.2×10^5	79
1.78×10^4	50	3.12×10^4	43.5	4.2×10^4	115
1.78×10^3	48	3.12×10^3	113	4.2×10^3	96
.	.	.	.	4.2×10^2	236

Table 8. Period of spore formation

℃\Hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
37℃	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++
32℃	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++
실 온	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
-4℃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
-20℃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

하여 패혈증을 유발시킨 후 폐사직전 심장채취한 혈액으로 도말표본을 만들어 온도별로 보관하고 염색하여 현미경 검사로 아포형성시간을 측정하였던 결과 (표 8)에서와 같이 37℃에서는 5시간부터 아포가 형성되기 시작하여 7시간부터는 전체가 형성되었고, 32℃에서는 6시간부터 시작되어 9시간째 대부분 형성하였고, 실온서는 9시간, -4℃, -20℃에서 10시간째부터 형성되었다.

탄저균의 분변을 통한 배설 유·무를 알아보기 위하여 탄저균을 실험동물별로 피하 및 경구 투여한 후 분변을 채취하여 NB에 넣고 70℃ 30분간 가열하고 37℃에서 18~24시간 배양후 BA에

도말배양하였을때 (표 9)에서와 같이 피하접종한 mouse와 rat의 분변에서는 탄저균이 회수되지 않았고, 경구투여한 mouse, rat, chicken의 분변에서는 탄저균이 회수되었다.

소독약제의 효과를 알아보기 위하여 각종 소독약제의 농도를 각각 달리하여 제조하고 여기에 탄저균을 접종한 후 시간대별로 배양하여 사멸여부를 조사하였다. Formalin에 대한 탄저균의 저항성 정도는 (표 10)에서와 같이 농도 1%에서는 6일째부터, 3%, 5%에서는 1일째부터, 7%에서는 4시간이후부터, 9% 이상에서는 접종직후부터 탄저균이 배양되지 않았다.

Table 9. *B. anthracis* isolation test from feces classified by inoculation route.

Inoculation route	Laboratory animals	Isolation
S. C	mouse	-
	rat	-
P. O	mouse	+
	rat	+
	chicken	+

Table 10. Formalin resistant of *B. anthracis*

Time Concentrations (%)	Inoculation after	10 min	20 min	30 min	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	1 day	2 day	3 day	5 day	6 day	7 day	8 day	12 day
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 11. Mercuric chloride(HgCl₂) resistant test of *B. anthracis*

Time Concentrations (%)	Inoculation after	10 min	20 min	30 min	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	1 day	2 day	3 day	5 day	6 day	7 day	8 day	12 day
0.001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
0.005	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.01	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.02	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.05	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

승홍에서는 (표 11)에서와 같이 0.001%에서 8 일째, 0.005%에서 1일째, 0.01%에서 2시간째, 0.02%와 0.03%에서는 30분째, 0.05%에서는 10분째, 0.07% 이상에서는 접종직후부터 탄저균이 배

양되지 않았다.

수산화나트륨에서는 (표 12)에서와 같이 0.5%에서는 7일째, 1%에서는 2일째, 3%~50%까지는 1일째부터 탄저균이 배양되지 않았다.

Table 12. Sodium hydroxide(NaOH) resistant test of *B. anthracis*

Time Concentrations (%)	Inoculation after	10 min	20 min	30 min	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	1 day	2 day	3 day	5 day	6 day	7 day	8 day	12 day
0.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
30	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
50	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 13. Phenol resistant test of *B. anthracis*

Time Concentrations (%)	Inoculation after	10 min	20 min	30 min	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	1 day	2 day	3 day	5 day	7 day	8 day	9 day	10 day	13 day
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

페놀에서는 (표 13)과 같이 1%~3%까지는 11일째까지 탄저균이 배양되었으며, 5%에서는 9일째, 7%에서 2일째, 9%, 10%에서 1일째부터 탄저균이 배양되지 않았다.

크레졸은 (표 14)에서와 같이 0.1%, 0.5%, 1%

에서는 8일째까지 탄저균이 배양되었으며, 5%, 10%에서 1일째부터, 20% 이상에서 접종직후부터 탄저균이 배양되지 않았다.

에탄올에 대해서는 전 농도에서 11일까지 탄저균이 배양되었다.

Table 14. Cresol resistant test of *B. anthracis*

Time Concentrations (%)	Inoculation after	10 min	20 min	30 min	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	1 day	2 day	4 day	5 day	6 day	7 day	11 day
0.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

고 찰

탄저는 초식동물의 질병으로 가축화된 모든 동물과 야생동물에 감염되기 쉬우나, 조류는 저항성이 있으며, 사람은 감염된 동물의 접촉이나 섭취에 의해 2차적으로 감염된다.¹⁾

*Bacillus anthracis*는 외독소(exotoxin)를 분비하며 산소의 존재하에서 내생아포(subterminal endospore)를 형성하여 건조, 열 및 일반적인 소독제에 저항한다. 또 이균은 일반배지에서 잘 자라며, 비용혈성으로 균자체는 열에 불안정하여 60℃이상 가열시 파괴되나 아포가 형성된 균은 태양열을 받지않는 조건에서는 토양에서 30년 이상 생존이 가능하다고 한다.¹⁾

국내에서는 1978년 제주도 소 1두가 탄저에 감염된 이래 16년만에 다시 경주에서 발생하여 사람에게 많은 피해를 입혔다. 현재의 상황으로 볼 때 탄저가 국내에서 완전히 근절된 것이 아니라, 예방주사와 효과와 항생물질을 무분별하게 사용하므로 다만 억제되어 왔는지 모른다.

경주에는 폐사한 한우 비장에서 분리한 탄저균의 일반적인 특성은 gram양성간균이었으며, 배양된 균은 낚싯대 모양의 연쇄를 이루며, 24시간동안 실온에 방치한 배지에서는 아포가 형성되었다. James H.G와 John F.T¹⁾는 50% 혈청이 포함된 배지에 65%의 CO₂에서 배양하면 capsule이 형성된다고 하였다. 실제로 일반배지 배양에서는 capsule을 관찰할 수 없었고, 동물체 직접도말 표본에서만 capsule을 관찰할 수 있었다.

James H.G와 John F.T¹⁾는 탄저진단에 있어 ascoli반응은 다른 *Bacillus sp*와 교차반응이 일어날 가능성이 있기 때문에 진단법으로 인정하지 않는다고 하였으며, 본건의 경우에서도 비장유체액과 분리된 탄저균부유액은 양성반응을 나타내기는 했지만, 다른 실질장기와 근육에 있어서는

확인할 수 없었다.

penicillin 0.5IU를 함유한 배지에서 팽화된 진주상의 균체를 볼 수 있었으며 운동성, urease, citrate, arabinose, manitol, xylose에서는 음성 이었고, gelatinose, starch hydrolysis, glucose, anaerobic-glucose에서 양성반응을 보인 성적은 Cown ST.¹³⁾의 성적과 일치하였다.

보통 한천배지에서 탄저균의 집락은 촉모상(medusa head shape)을 나타내었으며, 배지 종류에 따른 집락의 크기는 24시간까지는 BA, Br A, TSA, MHA, DNA, SDA순으로 작아졌으며, EMBA, MA, MSA, SSA에서는 전혀 배양되지 않았다. 이 실험의 결과로 탄저균 배양시 배지제조 용이성 등을 감안할때 BA 대응으로 Br A가 가장 좋으며, 그 다음은 TSA이고, NA는 집락은 크지만 길쭉한 비정형이었다.

James H.G와 John F.T.¹⁾는 *B. anthracis*가 BA에서 좁은 용혈대를 형성하고, 유탄저 *Bacillus sp*에서는 대개 넓은 용혈대를 형성한다고 하였고, A. Buxton과 G. Fraser,²⁾ Elmer W. Koneman,³⁾ 최⁵⁾ 등은 탄저균은 용혈이 일어나지 않거나, 약간 용혈성을 보인다고 하였다. 본 실험에서는 동물별 혈액배지에서 β-용혈은 24시간까지는 일어나지 않았고, 36시간부터 서서히 용혈이 일어나기 시작하여 대부분의 동물에서 48시간에 완전한 용혈이 일어났으며 산양에서는 60시간정도에서 용혈이 시작되었다. 이 결과로 시간경과에 따라 용혈성에 차이가 있으므로 늦어도 24시간안에 판독하는 것이 좋으며, 36~48시간 이후에는 판별이 곤란한 것으로 사료된다.

일반적으로 탄저병 초기에 penicillin 1,000,000~3,000,000IU를 매일 근육주사하거나 Terramycin 2~4g을 정맥주사하고 12시간마다 1~2g을 주사하면 효과있고, streptomycin 10g을 1일 2회 주사하거나 sulfathiazole, chloramphenicol,

erythromycin도 효과가 있다고 한다.^{1,4~9)} 본 실험에서 대부분의 항생제가 중등도 이상의 감수성을 나타내었으며, 특히 AM, CF, TE, ENR이 감수성이 좋았고, GM, AN, DFX, S, P, TyLO, N, KM, L, C, E, Lins+SP, NN, CC, CFP, CB의 순으로 감수성이 낮아졌으며, L, XNL, TIA는 저항성을 나타내었고, CL, SXT는 전혀 감수성이 없었다. 이와 같이 대부분의 약제에서 감수성이 좋은 것은 탄저균이 아직 항생물질에 노출이 적었기 때문으로 사료되며, 위 실험 결과로 보아 탄저의 이환축과 동거축에 대한 관리대책에 있어 항생제 필요시 우선적으로 AM, C, TE, ENR을 선택함이 좋으리라 사료된다.

조⁹⁾는 guinea pig, rabbit, mouse, rat는 *B. anthracis*에 감수성이 있고 chicken은 감수성이 없다고 하였고, 강 등⁴⁾은 chicken이 감수성이 있다고 하였고, A. Buxton²⁾등은 rat는 좀 강한 감수성을 가진 strain을 제외하고는 저항한다고 하였다. 일반적으로 소, 면양, 산양, 말, 노새, 돼지, 개 등에서는 감수성이 있다고 한다.^{1,5,8)} 본 실험에서는 rat와 chicken에서 전혀 감수성이 없었으며, 이는 조⁹⁾와 A. Buxton²⁾ 등의 보고와 부분적으로 일치하였다. mouse가 가장 민감한 감수성을 나타내어 평균 28시간에 폐사하였고, goat는 35시간, hamster는 37시간, guinea pig는 45시간, rabbit는 54시간 순으로 폐사하였다. 위의 결과로 미루어 탄저실험에서 실험동물 선정시 mouse가 가장 좋으며, rat와 chicken은 적합하지 않다고 사료된다.

梁등¹⁰⁾은 탄저로 폐사한 사체는 사후 강직이 없으므로 부패균과 혐기성균의 증식이 신속하여 사후 48시간이 되면 사체에서 탄저균 분리가 곤란해지고 사후 72~80시간이 지나면 생균은 거의 없어진다고 하였다. 본 실험에서 개복하지 않은 상태로 37℃에 보존하였을 경우는 72시간까지 탄

저균이 분리되었으나, 80시간부터는 분리되지 않았으며, 이는 梁등¹⁰⁾의 보고와 거의 일치하였다. 그러나 개복한 상태로 37℃ 보존했을 경우는 360시간 이후에서도 탄저균이 분리되었다. 이는 개복하였을 때 탄저균이 산소와 접촉하여 아포를 형성하였기 때문으로 사료된다. 위 실험의 결과로 보아 가축방역상 탄저로 의심되는 사체의 처리에 있어서 부검하지 않고 바로 매몰하거나 소각하는 것이 더 없이 중요하다 할 것이다.

탄저균을 mouse에 1.78×10^7 개를 피하접종하였을 때 36시간에서 폐사하였고, 3.12×10^7 은 22시간, 4.2×10^7 은 16시간. 1.78×10^6 은 44시간. 1.78×10^5 은 79시간, 1.78×10^4 은 50시간, 1.78×10^3 은 48시간, 3.12×10^6 은 40시간. 3.12×10^5 은 42시간, 3.12×10^4 은 43.5시간, 3.12×10^3 은 113시간, 4.2×10^6 은 48시간, 4.2×10^5 은 79시간, 4.2×10^4 은 115시간, 4.2×10^3 은 96시간. 4.2×10^2 에서는 235시간만에 폐사하였다. 위의 결과에서는 대체적으로 균 접종량이 많을수록 폐사시간이 빠른 것을 관찰할 수 있었고, 동물개체에 따라 차이가 많이 나는 것을 볼 수 있었다. 특히 10^7 개를 기준으로 폐사 시간차가 많이 났으며, 420개 정도의 탄저균을 피하접종하였을 때 다소 시간은 길었지만 폐사한다는 것은 주목할 만한 일이다.

탄저균으로 패혈증을 유발시킨 실험동물의 혈액으로 도말표본을 만들어 온도별로 보관하였을 때 A. Buxton등²⁾은 37℃에서는 8시간, 32℃에서는 10시간, 26℃에서는 18시간, 21℃에서는 24시간에 아포를 형성한다고 하였다. 본 실험에서는 37℃에서는 5시간부터 형성되기 시작하여 9시간째 대부분 형성하였고, 실온에서는 9시간, -4℃, -20℃에서는 10시간째부터 형성되었다. 이것은 A. buxton등²⁾의 보고보다는 약간 빨리 아포가 형성되나, 온도가 높을수록 빨리 형성된다는 것은 일치한다. 같은 온도에서 아포형성시간이 차이나

는 것은 실험자의 실험방법, 판독 또는 실험재료 등에 기인한 것으로 사료되고, 온도가 높을수록 아포가 빨리 형성된다는 것은 아마도 추운지방보다 더운지방에서 중요시하는 것과 관계 있을 것이며, 또한 영하의 온도에서 아포가 늦게 형성된다는 사실은 매우 흥미있는 일이라 생각된다.

탄저균을 실험동물별로 피하 및 경구투여하여 분변에서 탄저균을 배양하였을 때 피하접종한 mouse, rat에서는 탄저균이 회수되지 않았고, 경구접종한 mouse, rat, chicken의 분변에서는 탄저균이 회수되었다. 이 사실은 rat와 chicken에서 발병은 하지 않으면서 분변으로 균을 배설하므로서 탄저균 전파의 매개체가 될 수 있다는 점에서 중요하다고 사료된다.

보통 탄저균에 효과적인 소독제로서는 10% formalin이 가장 좋다⁴⁾고 하고, 0.1% 승홍수에 20분, 0.2% 승홍수에는 10분, 5% 석탄산액 또는 5% 가성소다액에서는 10분에 탄저균이 사멸된다고 한다.^{1, 7-9)} Formalin시험서는 1%에서 6일째, 3%, 5%에서 1일째, 7%에서 4시간 이후부터, 9%이상에서는 처리직후부터 탄저균이 배양되지 않았다. 승홍 시험에서는 0.001%에서 8일째, 0.005%에서 1일째, 0.01%에서 2시간째, 0.02%와 0.03%에서는 30분째, 0.05%는 10분째, 0.07% 이상에서는 처리직후부터 탄저균이 배양되지 않았다. 수산화나트륨에서는 0.5%에서는 7일째, 1%에서는 2일째, 3%~50%까지는 1일째부터 탄저균이 배양되지 않았다. 페놀에서는 1%~3%까지는 11일째까지 탄저균이 배양되었으며, 5%에서는 9일째, 7%에서 2일째, 9%, 10%에서는 1일째부터 탄저균이 배양되지 않았다. 크레졸은 0.1%, 0.5%, 1%에서는 8일째까지 탄저균이 배양되었으며, 5%, 10%에서 1일째부터, 20% 이상에서 처리직후부터 탄저균이 배양되지 않았다. 에탄올에 대해서는 10%에서 99.9%까지의 전 농도에서 11일까지 탄저균

이 배양되었으며, 소독효과가 전혀 없었다. 위의 실험결과로 볼 때 일반적으로 알려진 10% formalin, 0.1% 승홍수에 대해서는 아주 효과가 좋으며, 페놀과 크레졸은 알려진 농도보다 높은 각각 9%이상과 20% 이상의 농도에서 탄저균에 대해 효과가 있었다. 수산화나트륨과 알콜은 탄저균에 대해 효과가 없었으며, 특히 알콜은 전 농도에 걸쳐 전혀 효과가 없었다.

결 론

1994년 2월 12일 경주시 배반동의 폐사한우에서 분리한 *Bacillus anthracis*로 여러가지 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 생화학적 검사에서 그람양성, 비운동성이며, 아포와 협막을 형성하고, ascoli test, pearl test, gelatinase생성, starch hydrolysis생성, glucose 분해능 등은 양성이며, urease, citrate, arabinose, mannitol, xylose 등에서는 음성이었다.
2. 각종 배지에서 배양성은 24시간까지는 BA, Br A, TSA에 가장 좋았고, 72시간까지는 BA, Br A, NA, TSA에서 배양성이 좋았다. colony 배양성으로는 BA대용으로 Br A가 가장 좋았다.
3. 각종 동물 적혈구에 대한 β -용혈성시험은 대부분의 동물 적혈구가 36시간부터 용혈이 시작되어 48시간에 완전히 일어났으며, 산양 적혈구는 60시간부터 용혈이 시작되었다.
4. 항균제에 대한 감수성은 AM, CF, TE, ENR에 감수성이 가장 컸고, 그 다음은 GM, AN, DFX, S, P, TyLO, N, KM, CE, C, E, Lins+SP, NN, CC, CFP, CB의 순이었으며, L, XNL, TIA에는 저항성을 나타내었고, CL, SXT에는 전혀 감수성이 없었다.
5. 탄저균을 피하접종하였을 때 rat와 chicken

은 전혀 감수성이 없었고, mouse가 가장 감수성이 좋았고, 그 다음은 goat, hamster, guinea pig, rabbit의 순이었다.

6. 탄저균 접종으로 폐사된 사체를 37℃ 부란기에 보존하였을때 개복하지 않은 경우에는 80시간 이후부터 탄저균이 검출되지 않았고, 개복한 상태에는 360시간이후에도 검출되었다.

7. 탄저균을 실험동물에 접종시 대체적으로 접종균수가 많을수록 빨리 폐사하였으며, 단지 420개의 피하주사에서도 폐사하였다. 1994년 2월 12일 경주시 배반동의, 탄저로 감염되어 폐사한소에서 분리한 *Bacillus anthracis*로 여러가지 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

8. 탄저균을 접종한 hamster의 혈액도말표본을 37℃에 보존시는 5시간, 32℃에서는 6시간, 실온에서는 9시간, -4℃와 -20℃에서는 10시간째에 아포를 형성하기 시작했다.

9. 탄저균을 실험동물의 피하 및 경구접종하였을때 피하접종한 mouse, rat의 분변에서는 탄저균이 회수되지 않았고, 경구접종한 mouse, rat, chicken의 분변에서는 탄저균이 회수되었다.

10. 탄저균에 대한 가장 좋은 소독제는 formalin과 승홍이었으며, phenol과 cresol은 소독력이 약하였으며, NaOH는 소독력이 거의 없었고, ethanol은 전혀 소독력이 없었다.

참 고 문 헌

1. Gillespid JH, Timonet JF. 1981. Hagan and Bruner's Infectious Disease of Domestic Animals, 7th ed, Conell University Press, Ithaca, p.190~197.
2. Buxton A., Fraser G. 1977. Animal Microbiology Volume 1, Brackwell Scientific Publications, London, p.195~203.
3. Koneman EW, Allen SD, et al. 1988. Color Atlas and Textbook, of Diagnostic 3th ed, Microbiology, Lippincott company, United States of America. p.345~347.
4. 姜鎬祚 등 韓國獸醫公衆保健學會編 1986. 수의공중보건학. 文運堂. p.345~347.
5. 崔源弼 등. 수의전염병학교수협지. 1994. 수의전염병학. 경북대학교 출판부 p.58~62.
6. 李鉉凡. 1987. 돼지질병학. 유한문화사. p.97~99.
7. 李鉉凡. 1986. 家畜疾病學. 유한문화사 p.266~269.
8. 李芳煥. 1976. 家畜臨床診療學. 가림출판사. p.611~615.
9. 趙炳律. 家畜傳染病. 文運堂. p.1~10.
10. 梁川良 외. 新編수의미생물학. p.377~382. 동경주식회사. 양형당.
11. 金익중 외 1994. 환자의 혈액에서의 Bacillus anthracis 분리. 대한 미생물학회지. 29(3) : p.245~248.
12. 李鍾勳. 1988. 병원미생물학. 수문사. p.260~262.
13. Cowan ST. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, London, 2nd. ed.. p.70~72.
14. 鄭東孝. 1987. 食品 衛生物學. 先進 文化史. p.36~375.
15. 朴노찬. 1994. 경북지역에서 발생한 탄저병에 관하여. 경북수의사회지. 30(4) : p.214~226.
16. 崔哲淳 외. 경북도내 발생한 탄저의 역학적 조사와 분리 균주에 대한 생물학적 성장조사 가축위생연구소보 제11권 : p.71~86.
17. 鄭一鉉. 禹浚植. 1967. 集團的으로 發生한 炭疽病에 對하여. 중앙의학. 12(3) : p.245~249.