

사라리 축우폐사의 원인에 관한 연구

정종식, 박노찬, 김정화*, 김영환, 조광현, 조민희, 손재권, 김영욱*

경상북도 가축위생시험소, 경상북도 가축위생시험소 동부지소*

Study on etiological agents of sudden death in cattle at the region of Sarari in Korea

Jong-Sik Jyeong, No-Chan Park, Jung-Hwa Kim*, Young-Hoan Kim,
Kwang-Hyun Cho, Min-Hee Cho, Jae-Kweon Son, Young-Wook Kim*

*Kyongbuk Veterinary Service Laboratory
Eastern Branch, Kyongbuk Veterinary Service Laboratory**

Abstract

This study was conducted to investigate the epidemiological, clinicopathological, microbiological, pathological observations and other tests from sudden death in feedlot cattle at the region of Sarari in Korea during the period from 1994 to 1999.

Massive or sporadic occurrence of sudden death has been observed in 101 heads of 47 farmhouse. There were 20.8% in spring, 29.7% in summer, 16.8% in autumn, 32.7% in winter, and 62.3% in reproductive, 27.7% in growing, 5.0% in beef cattle, 5.0% in calf in prevalence of sudden death in cattle. Enterotoxemia(88.0%), pneumonia(3.5%), intestinal diarrhea(3.5%), liver abscess(1.5%) and indigestion(1.5%) were detected from 67 heads of sudden death cattle.

In clinical observations, cattle were generally died of sudden recumbency with convulsions followed anorexia, depression, ataxia, muscular tremor, tachycardia and dyspnea without any premonitory symptoms. Epidemiological surveys showed no evidence that other factors such as pesticide, insecticide, fertilizer, chemical drugs and those of others caused sudden death.

Macroscopically, there were coagulation disorders of blood, congestion, edema and haemorrhage of lung, congestion and haemorrhages, watery and blood-tinged contents of small intestine. Histopathologically, we observed pulmonary congestion and haemorrhage, necrotic intestinal mucosa accompanied with haemorrhage and congestion, and also increased globule leukocytes between bronchial epithelia with mild pneumonia.

Clinicopathologically, only elevation of blood glucose and aspartate aminotransferase(AST)

was detected. Magnesium and calcium deficiency were not detected, but parasites were detected highly in normal and dead cattles.

Microbiologically, *Clostridium(Cl) perfringens* were detected from small intestinal contents of 94% (63/67) of sudden death cattle and 51% (51/101) of slaughter cattle, and the population were 10^{6-8} cfu/ml after 16~32 hours. Consequently, it was proved that the cause of death in cattle was enterotoxemia.

Pathogenic test of mouse and goat inoculated with *Cl perfringens* type A toxin has been demonstrated as similar observation to natural cases.

In antimicrobial susceptibility test, ampicillin, bacitracin, polymycin, cephalothin, penicillin, choramphenicol, erythromycin, tetracycline were highly susceptible, and amikacin, gentamicin, kanamycin, neomycin, streptomycin, sulfamethoxine, sulfamethazine were resistant. *Cl perfringens* were resisted for 4 hours in 3% formalin, 20 minutes in 4% phenol, 20 minutes in 0.5% mercuric chloride and 40 minutes in 0.1% sodium hydroxide, respectively.

The useful method to prevent from occurrence of enterotoxemia in feedlot cattle was a dietary administration of antibiotics and miyari acid.

Key words : Cattle, *Clostridium perfringens*, Enterotoxemia, Sudden death.

서 론

국제무역기구(WTO)의 설립에 따라 축산물을 포함한 국제무역이 무한경쟁 시대로 돌입함과 아울러 소비자인 국민들의 식품 안전에 대한 욕구 증진으로 한우 사육농가에서도 국내외적으로 여러 어려운 문제점에 노출되어 있는 상황이다. 이러한 과제들을 극복하고 외국 축산물의 수입에 대한 자생력을 강화하려면, 우선 질병 발생을 억제하여 생산성을 향상시키고 소비자의 욕구 충족을 위한 축산물의 안전성을 확보하여야 한다¹⁾.

한편 한우의 역할도 과거의 역우 위주에서 육우 위주로 변함에 따라 소규모 사육에서 대규모·집단사육 형태로 바뀌고, 급여사료도 과거의 농업 부산물과 조사료에 의존하던 것이 현재는 배합사료를 위주로 한 사육방법으로 전환되었다. 따라서 사육방식이 생체 증량에만 전념함으로서 운동량이 절대 부족하여 질병발생이 많고, 또한 발병형태도 개체질병에서 집

단질병의 양상을 띠고 있어 집단폐사도 다발하고 있는 경향이다²⁾.

그 동안 이루어졌던 국내에서의 한우폐사 원인조사 사업을 간략히 언급하면, 이미 1960년대 말부터 경북지방을 시작으로 1971년 충북, 1973년 경남 등에서 가축위생시험소를 중심으로 이루어졌고, 대한수의사회에서도 가축지방병 사인조사위원회를 구성하고 임상검사지침³⁾을 마련하여 1971년부터 전국적인 조사사업에着手하게 되었다. 1968년에 경북 금릉군 어모면 군자동의 한 자연부락에서 16두의 한우가 연속 폐사하여 경북가축위생시험소에서 당시 가축위생연구소의 협조와 경북대학교 수의학과 및 생물학과와 공동으로 원인조사를 한 결과 산발성 우뇌척수염, 악성 카탈열, 약물 중독 등으로 추정한 바 있고, 이어 1971년에는 충북 옥천의 폐사우 사인 조사 결과가 중독증으로 추정되었으며, 1971년에 대규모로 실시된 대한수의사회 지방병 사인조사위원회에서 전국적으로 조사활동을 실시한 결과 초류원(草類源) 청산중독과 약

물중독으로 결론 내린 바 있다. 경북의 경우, 1971년과 1972년에는 피해지역이 금릉으로부터 영일, 선산, 의성, 안동 등으로 확대됨에 따라 경북대학교 수의학과 교수진과 학동으로 병인 구명 사업을 계속하였던 바 약물중독의 범주에 속하는 유기수은의 만성중독으로 판정하였고, 국립과학수사연구소에서는 가검물 중 일부에서 유기염소제를 검출하기도 했다. 이어 1973년에는 경상대학교 연구진이 경남지역 일원에서 조사한 바 한우 폐사의 원인은 농약의 만성중독이라고 보고하였고, 1975년에는 경북가축위생시험소, 경북대학교 수의학과 및 개업수의사가 공동으로 조사한 결과 한우폐사 원인은 비소중독 18건, 유기염소 중독 8건, 유기수은 중독 3건, 산독증, 고사리 중독 및 장독혈증 각 1건 등 다양한 원인의 중독으로 결론 지우기도 하였다. 이어 1977년도에는 경북가축위생시험소와 경북대학교 수의학과의 공동조사결과 장독혈증에 의한 폐사건이 증가함을 밝혔고, 1981년의 조사 결과는 중독증이 추가되었다^{4~6)}.

그러나 이러한 각 조사결과 제시한 사인에 대한 대처방안으로서는 미흡하기 그지없었다. 우선 그 원인이 명확하지를 못하고 단지 추정하는 수준이었고, 예방대책 수립 및 시행이 불가한 상황이었다. 즉, 항상 시험연구사업의 종결을 보지 못하고 단지 시간의 경과에 따른 발생상황의 변화로 문제가 해소됨으로서 유야무야되는 행태가 한국 축우 집단폐사 원인 조사사업의 마무리가 되어 왔음은 주지의 사실이다.

그러던 중 경북 경주시 서면 사라리의 한 자연부락에서 1980년대 초부터 1990년대 초까지 10여 년간 연속적으로 100여 두의 축우가 폐사되고 있음이 뒤늦게 경북가축위생시험소에 알려졌고, 그 피해 상황이 너무나 커기에 원인구명 사업을 착수하게 되었다.

집단폐사가 발생되는 예를 보면 대부분 전구 증상 없이 갑자기 폐사체로 발견되거나 약간의

증상이 있는 후에 치료할 시간적 여유도 없이 폐사하는 소위 急死病 형태였다. 이러한 급사병은 모든 동물에서 발생하고 있으나 사라리에서는 특히 소에서만 문제시되고 있다⁷⁾.

개체별 급사는 심장의 파열, 아급성 복막염, 사독(蛇毒), 두부 외상에 의한 출혈, 물리적 자극, 칼슘제제 과다 주입, 수액의 급속 주입, 페니실린 거부반응 등이 있으며, 집단적 급사는 일사병, 감전사, 고창증, 저마그네슘혈증, 청산염 중독, 불소제 중독, 곰팡이성 폐렴, 비타민E 및 셀레니움 결핍증, 유독식물 중독증 등이 있다. 사료에 혼합 급식됨으로서 발생되는 예로는 모넨신, 유기인제, 납, 농약 등과 백신이나 혈청의 주입에 의한 과민반응이 있고, 전염성 질병으로는 탄저, 기종저, 출혈성 폐혈증, 장독혈증 등이 알려져 있다⁷⁾.

경북지역에서의 급사병에 관한 조사 보고로는 이 등⁴⁾이 유기인제에 관한 병리학적 연구를 발표한 바 있고, 비육우 목장에서 집단 발생한 방목우의 고사리 중독과 청예 옥수수대를 과다 섭취한 비육우의 질산염 중독 예를 발표한 바 있으며⁵⁾, 한우의 급성 폐사성 질병의 병인학적 연구와 세균성 장독혈증에 의한 급성폐사에 관한 발생 예를 보고한 바 있다⁶⁾.

장독혈증은 *Clostridium*(Cl)균에 의해 발생되는 질병으로서 거의 모든 온혈동물에서 감염 발병하며, 그 증상에 따라 다양한 병명으로 불려지고 있고, 이 균속에는 *Cl perfringens*를 포함하여 6~7종이 발견되고 있다^{8~11)}. 어린양의 과식병, 양의 적리 및 struck, 신생 자우의 출혈성 장독혈증, 괴사성 장염 등을 주 증상으로 하는 이 질병은 주로 *Cl perfringens*에 의해 발병되는 것으로, 이 균은 장관내에서 정상 세균총으로 존재하는 협기성의 그람 양성 간균이다. 이 병은 주로 어린 일령의 동물에서 사료의 급변이나, 과식 등에 의한 장내 세균총의 변화로 인해 *Clostridium*균이 급속하게 증식하여 독소

를 생산하는 결과로 발생하게 된다^{8~11)}.

국내에서의 장독혈증 발생에는 1997년 이¹²⁾가 한우의 급성폐사 사례를 조사하여 *Clostridium perfringens*에 기인된 장독혈증으로 보고한 바 있으며, 조 등^{13,14)}이 자돈과 송아지의 *Clostridium perfringens* 감염증에 관하여 조사·연구하였다. 외국 예를 보면 Van Kruinigen¹¹⁾은 사료의 변경, 과식 등에 의해 장내 세균총의 변화로 본병이 발생된다고 보고하였고, Worrall 등¹⁵⁾은 물소농장에서 사육장소의 변경 후에 8일간에 걸쳐서 *Clostridium perfringens*에 의해 18두가 폐사한 예를 보고한 것으로 보아 장독혈증 발생과 사육조건의 변화가 매우 깊은 관련이 있음을 알 수 있다.

또한 장독혈증은 장내 정상세균인 *Clostridium perfringens*가 여러 가지 요인에 의해 갑자기 다량 증식하여 발병되므로 소장내 균수 측정은 장독혈증 진단에 상당한 도움을 주는 것으로 알려져 있으며, 장내용물에서 10^6 cfu/ml 이상의 균이 검출될 경우 장독혈증으로 판정할 수 있다고 하였다¹²⁾. 近藤房生과 尾形¹⁶⁾은 소의 설사변에서 *Clostridium perfringens* 균수의 범위는 $10^{2\sim 6}$ cfu/g 이었으며, 건강변에서 10^4 cfu/g 수준의 균수가 분포되어 있음을 확인하였다. 조 등⁷⁾의 보고에 따르면 설사변에서 균수 분포양상은 95두 중 35두에서 $10^{6\sim 7}$ cfu/g 범위였고, 나머지 61두의 분변에서는 $10^{2\sim 6}$ cfu/g 수준이며, 건강한 개체의 분변내 균수는 $10^{1\sim 5}$ cfu/g 범위였다고 하였다.

*Clostridium perfringens*는 편성협기성의 아포 형성 간균으로 토양중에 분포하고 사람·동물의 장관내에 상재하며 α , β , ϵ 및 ζ 의 4종 독소의 생성에 의해 A, B, C, D, E의 5가지형으로 분류되고 있다. 이 균은 사람에서 가스괴저, 식중독, 일반적 감염증 즉 균혈증, 창상감염, 수술 후 감염증 등의 원인이 되며, 가축에 있어서는 장독혈증 및 괴사성 장염을 일으킨다⁹⁾.

장독혈증의 원인균인 *Clostridium perfringens*는 형별에 따라 생산하는 독소의 종류가 다소 상이하

므로 이를 균의 형별에 따라 약간의 차이가 인정되고 있다. α 독소생산 A형균에 의한 양과 재래산양의 yellow lamb disease, α 및 β 독소생산 B형균에 의한 양의 lamb dysentery와 양과 재래산양의 hemorrhagic enteritis, β 독소생산 C형균에 의한 양, 자돈, 송아지 및 닭의 necrotic enteritis와 양의 struck, ϵ 독소생산 D형균에 의한 여러 동물의 enterotoxemia와 양의 pulpy kidney disease, ζ 독소생산 E형균에 의한 양과 송아지의 enterotoxemia 등이 알려져 있으며, *Clostridium perfringens*가 급성장염을 일으키는 것은 강력한 독소가 원인이며, 항독소에 의해 생산된 독소의 중화작용도 있음이 알려져 있다⁹⁾.

*Clostridium perfringens*는 사람에서도 가장 광범위하게 연구된 혐기성세균이며, Willis¹⁷⁾는 *Clostridium perfringens*의 모든 형별 균주들은 α -toxin(phospholipase C)를 생산한다고 하였다. Sato 등¹⁸⁾은 단클론항체를 이용한 독소의 정량을 ELISA기법을 적용한 바 있으며, Timothy 등¹⁹⁾은 면양과 산양에 *Clostridium perfringens* type D를 지속적으로 심이지장에 주입하여 장독혈증을 유발시켰던 바 25시간 내에 폐사하였으며, toxoid 백신 적용시 산양에서는 효과적이지 못하였다고 한 바 있다. Taylor 등²⁰⁾은 출혈성 장염을 일으킨 2년생 소에서 *Clostridium*을 분리하고, 송아지에 순수 배양된 균액을 경구로 시험 접종하여 같은 임상증상과 병리학적인 변화를 관찰하였으며, *Clostridium*도 소의 장염 원인체라고 하였다.

경주시 서면 사라리는 80년대 초부터 현재에 이르기까지 지속적으로 한 지역에서만 축우가 원인 모르게 심급성으로 집단 폐사하고 있는 지역이다. 자연부락 단위인 사라리에서 현재까지 집단 폐사가 다발하고 있으나, 이웃 마을인 운대리에는 전혀 집단 폐사가 없었으며, 사라리 지역 내에서도 소 이외의 가축인 개, 염소 등 다른 동물은 전혀 폐사가 발생되

지 않고 있다.

따라서 이 마을은 소 사육에 대한 의욕 상실로 사육호수가 점차 감소하고 있으며, 정부에 확실한 대책을 요구하고 있어 가축위생시험소에서 원인 구명을 위해 폐사우를 부검하고 다방면으로 각종 실험을 실시해 왔다.

본 고에서는 1994년부터 1999년까지 6년 동안 경주시 서면 사라리에서 발생되고 있는 축우 폐사의 원인구명을 위해 이 지역에 대한 역학조사, 수질 및 토양 검사, 해부 및 병리조직학적 검사, 폐사우와 정상 도축우 소장내용물에서 *Clostridium perfringens*의 분리 및 정량, 분리균의 실험동물 접종시험, 소독제 및 항균제에 대한 감수성 검사 및 최소발육저지농도(MIC)의 측정과 시험우를 입식 사육하면서 생균계 및 항균제의 예방효과 측정 등을 실시하였던 바 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

역학조사

집단폐사가 발생되고 있는 경주시 서면 사라리 지역에 대해 1994년부터 1999년까지 6년간 소 사육농가를 대상으로 폐사우에 대한 임상증상, 연도별 및 연령별 폐사상황, 계절별 발생상황 등 역학적 조사를 실시하였다.

부검 및 조직학적 검사

폐사된 가검물에 대해 부검을 실시하여 육안적 소견을 조사하였고, 병변부 등 각종 조직을 10% 중성 formalin에 고정한 후 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매 절편을 제작하여 H-E 염색하여 광학현미경으로 병리조직학적 소견을 관찰하였다²¹⁾.

임상병리학적 검사

발병우 가검물에 대해 혈액내 백혈구와 적혈

구 검사를 실시하고, 혈청내 glucose, AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase), 칼슘, 마그네슘 등의 함량 검사는 서울의과학연구소에 의뢰하여 실시하였다. 집단폐사가 발생되는 지역과 비발생 지역을 대상으로 벗진 및 토양 검사는 경상북도 농업기술원에 의뢰하였으며, 수질검사는 경북대학교 기초과학연구소에 의뢰하여 ICP-AES 장비를 이용하여 실시하였다. 또한 분변내 기생충의 감염상황은 부유법 및 침전법을 이용하여 충란을 조사하였다²¹⁾.

중금속 및 유기염소계 검사

중금속 검출을 위해서는 실질장기 조직 1g을 질산 혹은 초단파분해장치(Star System 6 : CEM)로 균질화하여 Thermo Jarrell Ash로 측정하였다.

유기염소계 검출을 위해서는 지방조직 0.5g에 활성화된 C₁₈ bulk 2g을 유발에 취한 다음 1분간 부드럽게 혼합하여 균질화한 후 여과지 2장을 놓은 10ml 유리주사기에 활성화된 florisol 2g을 넣고, 다시 여과지 1장을 덮은 다음 컬럼 내 용물이 3.5ml가 되도록 압축한 후 균질화시킨 혼합물을 옮겨 담고 다시 그 위에 여과지 1장을 넣어 혼합물의 부피가 약 7.5ml가 되도록 압축 충진하였다. 주사기 끝에 플라스틱 피펫팁을 부착하고 8μl의 acetonitrile을 가하여 농약을 추출하였으며, 용출액은 눈금이 있는 원심분리관에 모아 용출된 최종용량이 5ml가 되도록 맞춘 다음 3~4차례 혼합하여 2μl를 GC-ECD(Hewlett-Packard 5890 II)에 주입하여 분석하였다.

*Clostridium perfringens*의 분리 및 동정

폐사우 및 정상 도축우에서 채취한 소장 점막을 백금선으로 긁어 면양혈액배지 상에 도말하여 협기상태에서 37°C 20~24시간 배양하여 *Clostridium perfringens*로 의심되는 집락을 선정하여

Ewing²², Duncan과 Dorothy²³ 등의 방법에 준하여 균을 분리하였다. 혐기배양은 GASPAK® SYSTEM(BBL)을 사용하였다. 분리된 균의 동정을 위해서는 운동성, gelatin 액화능, indole, urease, maltose, arabinose, fructose, xylose 및 mannose 생산능 등 각종 생화학적 검사를 실시하였다²².

독소형 검사

Toxin 정제 : *Cl perfringens* A, B, C, D 및 E형을 cooked meat medium에 4시간 배양하고 75°C, 20분간 가열한 후 다시 Ducan과 Strong medium에 접종하여 37°C에서 8시간 배양하였다. 배양액을 5,000rpm에 원심하여 짐균한 액을 80% ammonium sulfate 포화용액과 1:1로 혼합하여 cell sonication하고, 30분 후 3,000 rpm에 20분간 원심 후 상층액을 회수하여 10,000rpm에 30분간 원심하여 침전 단백질을 0.02M phosphate buffer(pH 6.8)에 2~4 mg/ml되게 조절하였다. 부유된 액을 다시 15% ammonium sulfate 포화용액으로 처리하고, 30분 후에 같은 조건으로 원심분리 후 침전단백질을 동일 buffer에 용해시킨 후 같은 buffer를 이용하여 Sephadex G-100 column(2.5×70cm, 20ml/h)에서 정제된 것을 독소로 사용하였다^{16,23}.

Antitoxin 생산 : 정제된 toxin에 0.3% formalin을 처리하여 실온에서 24시간 경과한 후 freund complete adjuvant(Difco)를 toxin과 동량으로 혼합(0.1 mg/ml)한 액을 마우스 복강내에 0.3ml를 접종하였다. 그리고 14일 후에 freund complete adjuvant가 첨가된 toxin 0.3 ml를 마우스에 접종하고, 다시 14일 후에 toxoid만 0.3ml를 접종한 후 1주일 후에 채혈하여 그것을 antitoxin으로 이용하였다^{16,23}.

중화시험 : 분리균의 독소형을 증명하기 위하여 분리균의 toxin 1ml에 생리식염수 1ml, *Cl*

perfringens A, B, C, D 및 E형의 antitoxin 혈청(25μl/ml) 각 0.2ml에 생리식염수 0.8ml를 5형 각각에 가하여 혼합하였다. 그리고 마우스 미정맥에 0.3ml씩 접종한 다음 48시간 후에 대조군과 비교하여 그 생존 여부로 독소형을 증명하였다^{16,23}.

*Cl perfringens*의 정량

폐사우의 *Cl perfringens* 정량시험은 소장내 용물 0.5ml를 생리식염수 4.5ml에 부유시켜 단계 회석하고 혈액배지 위에 도말하여 혐기상태에서 37°C, 20~24시간 배양한 후 *Cl perfringens*로 추측되는 집락을 계수한 후 이를 순수 계대하여 Duncan과 Dorothy의 방법²³에 준하여 확인하였다.

정상 도축우에서의 정량시험은 경주 및 포항 도축장에서 도축된 한우 31두를 대상으로 공장 및 회장부위 30~50cm 가량을 절취하여 실온에 방치하면서 시험에 사용하였다. 경과 시간에 따른 균수 변화를 검사하기 위하여 채취 후 4, 8, 16 및 32시간대에 소장 일부분의 내용물을 취하여 단계회석하여 정량시험을 실시하였다.

실험동물 접종시험

실험동물에서의 발병시험을 위해 분리균으로부터 독소를 생산시켜 접종시험을 실시하였다. *Cl perfringens*를 1% fructose가 함유된 cooked meat medium에 18~24시간 배양한 후 배양액을 4,000rpm에 20분간 원심분리하고, 그 여과액을 독소로 사용하였다. 마우스(20 ± 2g)에 독소액 0.5ml를 미정맥에 접종한 다음, 경과 시간과 폐사유무에 따라 독성여부를 판단하였고, 재래산양에는 체중 kg당 독소액 3.4ml를 경정맥으로 주입한 후 임상증상을 관찰하였다²³.

발병우 치료시험

사라리 지역에서 발병된 한우에 대해 매일 dexamethasone 15mg/kg과 penicillin 및 strep-

tomycin 20mg/kg을 2~3일간 근육주사한 다음 tetracycline 20mg/kg을 급여사료에 혼합하여 투여하면서 그 효과를 측정하였다.

항균제 감수성시험

폐사우 및 도축우의 소장 내용물에서 정량·분리한 *Clostridium perfringens* 총 114주에 대하여 Steer 등²⁴⁾의 한천 평판희석법에 의한 약제 감수성시험을 실시하였다. 사용 배지는 fluid thioglycolate medium과 blood agar base를 이용하였고, 사용된 약제는 Sigma제품의 amikacin(Ak), ampicillin (Am), bacitracin(Ba), cephalothin(Ce), chloramphenicol(Cm), colistin(Co), erythromycin(Em), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), neomycin (Nm), penicillin (Pm), polymyxin (Po), streptomycin(Sm), sulfamethoxine(Stx), sulfamethazine(Stz), tetracycline(Tc) 등 16종의 항균제를 이용하였다. 약제의 용해는 MacLowry 등²⁵⁾의 방법에 준하였고, 약제별 농도는 400μg/ml에서 0.1μg/ml까지 13단계로 희석한 배지를 사용하여 분리균의 최소발육저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 조사하였다.

소독제 감수성 시험

*Clostridium perfringens*에 대한 소독제의 농도별 감수성검사는 formalin 1~10%, phenol 1~5%, mercuric chloride 0.5~2%, sodium hydroxide

0.025~0.2% 농도로 각각 희석하여 각 단계별 생존 여부를 시간 경과에 따라 확인하였다.

한우 입식사육 시험

사라리 소재 1개 농가를 선정하여 시험군과 대조군으로 구분하여 건강한 한우 각 5두씩 구분하여 1996년 8월부터 1999년 7월까지 3년 동안 입식 사육하면서 약제의 예방효과를 측정하였다. 시험군은 생균제(미야리P, 1kg/ton, 한국동물약품)를 첨가한 사료급여와 2주 간격으로 1회, 3일간 항생제(tetracycline, 20mg/kg)를 급여하고, 대조군은 생균제와 항생제를 투여하지 않고 통상적인 방법으로 사육하면서 두 실험군에서의 폐사상황 등을 비교하였다.

결 과

폐사우에 대한 역학상황

1994년부터 1999년까지 6년 동안 경주시 서면 사라리 지역에서 발생되는 축우의 집단 폐사상황을 조사한 성적은 Table 1과 같이 최소 549두, 최대 820두 사육두수 중 매년 2두 내지 33두가 폐사하여, 총 47호에서 67건, 101두의 소가 폐사하였다.

101두의 폐사우에 대한 계절별 발생상황을 조사한 성적은 Table 2와 같이 봄 21두(20.8%), 여

Table 1. Incidence of sudden death cattle per year in Sarari during the period of 1994 to 1999

Year	1994	1995	1996	1997	1998	1999	Total
No of breeding heads	549(55*)	820(56)	817(48)	572(38)	586(25)	679(26)	
No of occurrent husbandries	7	13	14	6	6	1	47
No of occurrent cases	10	16	22	9	9	1	67
No of dead heads	16	22	33	11	17	2	101
No of exam heads	10	10	31	11	5	·	67

* : Breeding husbandries

름 30두(29.7%), 가을 17두(16.8%), 겨울 33두(32.7%)두가 폐사하여 뚜렷한 계절별 폐사율의 차이는 없었으며, 연령별 폐사상황 조사에서는 Table 3과 같이 번식우 63두(62.3%), 육성우 28두(27.7%), 비육우 및 송아지 각 5두(5.0%) 순으로 주로 번식우와 육성우가 폐사하였다.

101두의 폐사우 중 검사 재료로 이용할 수 있었던 67두에 대한 병인별 조사 결과는 Table 4와 같이 장독혈증 59두(88.0%), 폐렴 3두(3.5%), 장염 3두(3.5%), 간농양 1두(1.5%), 소화불량증 1두(1.5%)로 판명되었다.

Table 2. Incidence of sudden death cattle according to the season in Sarari during the period of 1994 to 1999

Season	Spring	Summer	Autumn	Winter	Total
No of dead heads (%)	21 (20.8)	30 (29.7)	17 (16.8)	33 (32.7)	101 (100)

Table 3. Incidence of sudden death cattle according to the age in Sarari during the period of 1994 to 1999

Age	Calf	Growing cattle	Beef cattle	Reproductive cattle	Total
No of dead heads(%)	5 (5.0)	28 (27.7)	5 (5.0)	63 (62.3)	101 (100)

Table 4. Incidence of sudden death cattle according to the disease in Sarari during the period of 1994 to 1999

Disease	Enterotoxemia	Pneumonia	Enteritis	Liver abscess	Indigestion	Total
Exam heads (%)	59 (88.0)	3 (4.5)	3 (4.5)	1 (1.5)	1 (1.5)	67 (100)

장독혈증으로 판명된 폐사우의 임상증상을 보면 특이한 소견없이 틀연 보행실조와 운동기피, 호흡곤란과 경련을 일으키면서 횡와하여 사지난도와 효명 후에 폐사하는 것이 공통적인 소견이었다. 이러한 증상이 나타난 후, 그대로 방치하였을 경우에는 자연회복되는 예는 찾아 볼 수 없

었다. 그러나 이러한 질병이 발생되는 양상을 보면 동일한 사육방식으로 사육되는 우군 내에서도 발병되는 개체와 발병되지 않는 개체는 뚜렷한 차이를 보였다. 발병되지 않는 개체는 아무런 증상도 발현하지 않으며, 건강하게 사육되고 있었다.

수질 및 토양 상태

집단폐사가 발생하는 사라리 지역 15개소와 폐사가 발생되지 않는 이웃 동네인 운대리 3개소에 대한 수질검사 결과는 Table 5와 같이 칼슘, 마그

네슘, 나트륨, 망간, 아연, 철, 구리 등이 음용수 기준치 이하로 함유되어 있었으며, 두 지역간 성분별 함유량 차이는 인정되지 않았다.

사라리 지역 6개소의 토양을 분석한 결과는 Table 6과 같이 인산, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철, 구리, 아연, 납, 카드뮴, 망간의 함유량이 일반토

양과 차이가 없었으며, 사라리 지역 생산 벗꽃 2 건에 대한 성분분석 결과에서도 Table 7과 같이 T-N, P₂O₅, K₂O, CaO, MgO의 함량이 기준치 범위 내로 일반적인 벗꽃성분과 같았다.

해부 및 병리조직학적 검사 결과

사라리 지역에서 폐사한 한우의 육안적 해부

소견을 보면 대부분 혈액의 암적색 응고불량, 폐의 올혈 수종 및 출혈, 비강 및 구강으로의 혈액성 포말액 유출, 소장의 충출혈과 혈액성 장내용물의 함유, 심장 내외막의 출혈, 뇌의 충혈, 신장의 출혈과 취약, 제4위 점막의 충혈, 장 점막의 출혈, 간의 충출혈, 비장의 충혈, 근육의 퇴색, 기타 장기의 충혈 등이 관찰되었으며,

Table 5. Result of water examination in Sarari and Undaeri

Region	Examination items (ppm)								
	Ca	Mg	K	P	Na	Mn	Zn	Fe	Cu
Sarari (15 ea.)	70.9~	20.9~	2.63~	0.01~	31.8~	0.003~	0.004~	0.019~	0.011~
	125.0	26.7	7.22	0.201	54.6	0.372	0.825	0.077	0.022
	(79.1)*	(22.5)	(3.65)	(0.079)	(47.8)	(0.045)	(0.093)	(0.032)	(0.015)
Undaeri (3 ea)	59.0~	20.6~	2.63~	0.172~	31.8~	0.008~	0.025~	0.023~	0.011~
	77.2	26.7	2.64	0.187	47.9	0.012	0.068	0.288	0.012
	(65.3)*	(22.7)	(2.64)	(0.181)	(42.5)	(0.001)	(0.040)	(0.128)	(0.012)
Normal content (mg/l)	200	150	-	-	200	0.1	5.0	0.3	1.0

* : Average content

Table 6. Result of soil examination in Sarari

Distribution	P ₂ O ₅ (ppm)	K (mg/100g)	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd	Mn
			(mg/100g)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)
A	102	0.37	5.65	2.29	683	7.40	7.15	3.95	0.001	145
B	184	0.65	4.21	1.70	502	6.00	7.15	3.42	0.005	76
C	9	0.44	3.14	4.35	780	5.45	6.05	3.68	0.003	156
D	28	0.18	4.29	2.56	1037	6.85	6.05	5.53	-	108
E	50	0.33	6.63	2.49	733	5.30	5.50	4.21	0.002	131
F	131	1.12	4.37	1.16	803	6.90	9.90	4.74	0.005	113
Normal content	80~120	0.40~ 0.50	5.0~ 6.0	1.5~ 2.0						

Table 7. Component examination of rice straw in Sarari

Distribution	T-N*	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO
A	0.30	0.23	1.42	0.40	0.29
B	0.24	0.31	1.35	0.34	0.26
Normal content	-	0.2~0.7	1.5~3.0	0.4~0.8	0.15~0.3

*T-N : Total nitrogen

소수 폐사우에서는 신장 주위와 복강에 지방과 사과가 발견되기도 하였다. 이와 같은 여러 부검 소견 중 주로 폐의 심한 출혈 및 수종과 장 점막(주로 회장)의 광범위한 충출혈 및 혈액성 장내용물의 출현이 일치된 소견이었다.

병리조직학적 검사 결과는 폐의 충출혈과 수종, 기관 점막의 출혈과 포밀성 액체 저류, 기관지 점막층내에 다수의 globule leukocyte의 출현과 경도의 급성 폐렴소견, 소장 점막층내의 충출혈과 점막층의 괴사와 lymphocyte, neutrophil, eosinophil의 출현, 장간막 림프절의 수종과 lipofuscin 과립의 출현, 간세포의 공포변성, 신장의 충출혈과 세뇨관 상피의 변성 및 괴사, 심근의 한국성 괴사와 심근내의 출혈, 비장의 충출혈, 뇌의 충혈과 뇌혈관 주위의 확장과 기타 장기의 충출혈 등이 관찰되었으며, 소장 점막층의 도말표본에서는 gram양성 간균이 다수 출현하였다.

임상병리학적 검사 소견

폐사우와 건강우와의 적혈구 및 백혈구에 대한 비교 조사 결과는 Table 8과 같이 폐사우 16두의 적혈구수는 806만, 백혈구수는 9,660, 폐사우와 동거 사육중인 건강우 5두는 적혈구수 686만, 백혈구수 9,120, 타지역 사육한우 5두는 적혈구수 730만, 백혈구수 8,600으로 나타나 3개군 모두 일반 기준치와 유사하였다.

혈청내 성분조사의 결과는 Table 9와 같다. ALT(alanine aminotransferase), BUN(blood

urea nitrogen), creatine, alkaline phosphatase activity(ALP), triglyceride, uric acid의 함량이 폐사우, 동거 건강우, 타지역 사육우와의 차이가 인정되지 않았다. 그러나 glucose 함량은 폐사우에서 227mg/dl로 나타나 건강우 38.6mg/dl, 타지역 사육우 14mg/dl 보다 매우 높았으며, AST 함량도 폐사우 252U/l로 나타나 건강우 74.4 U/l, 타지역 사육우 77.6 U/l 보다 높게 나타났다. 혈청내 무기물 분석 결과는 Table 10과 같이 폐사우에서 마그네슘 3.2mg/dl, 칼슘 11.0mg/dl, 칼륨 3.98mEq/l로 나타나 건강우 및 타지역 사육우와는 뚜렷한 차이가 인정되지 않았다.

분변내 기생충 충란의 감염상황을 조사한 결과는 Table 11과 같이 폐사우 및 건강우에서 공통적으로 *coccidium spp*, *buxtonella sulcata*, *fasciola hepatica*, *toxocara vitulorum*, *strongyloides spp*, *erytrema pancreaticum*에 감염되어 있었다.

폐사우에서의 실질장기내 중금속 및 유기염소계 함량을 분석한 결과는 Table 12와 같이 간장에서 비소 2.7ppb, 카드뮴 4.0ppb, 신장에서 비소 1.9ppb, 카드뮴 1.0ppb로 나타났으며, 납은 신장 및 간장에서 전혀 검출되지 않았으며, 또한 지방조직에 대한 농약성분 조사에서도 BHC, aldrin, endosulfan 및 DDT가 전혀 검출되지 않았다.

축우의 소장 내용물에 대한 *Clostridium perfringens*의 분리 결과는 Table 13에서와 같이 폐사우

Table 8. Blood examination of Korean indigenous cattle in Sarari

Comparison	Dead cattle (16 heads)	Normal cattle (5 heads)	Cattle of other region(5 heads)	Normal value
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	8.06*	6.86	7.30	6~8
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	9.66	9.12	8.60	5~10

* Mean values

Table 9. Biochemical examination of serum in Korean indigenous cattle

Comp	Glucose (mg/dl)	AST (U/l)	ALT (U/l)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	ALP (U/l)	Trigly- ceride (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)
Dead cattle (16 ea)	227	252	33.4	18.1	2.35	442.8	49.1	8.60
Normal cattle (5 ea)	38.6	74.4	14.8	7.2	1.4	174.6	23.2	4.88
Other cattle (5 ea)	14	77.6	24.3	8	1.3	65	13.3	0.4
Normal value	40~70	30~70	12~36	10~40	1.0~ 1.6	114~150	10~26	0.4~1.5

Table 10. Examination of magnesium, calcium, and potassium in serum of Korean indigenous cattle

Comp	Magnesium (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	Potassium (mEq/l)
Dead cattle (16 ea)	3.2	11.0	3.98
Health cattle (5 ea)	3.1	7.86	4.04
Other cattle (5 ea)	-	8.8	5.5
Normal value	1.4~3.8	8.2~10.0	3.4~5.7

Table 11. Results of parasite infection in feces of Korean indigenous cattle

Comparison	Cs	Bs	Fh	Tv	Ss	Ep	None
Dead cattle (47 ea)	25 (53%)	20 (43%)	5 (11%)	8 (17%)	1 (2%)	0 . .	6 (13%)
Health cattle (77 ea)	45 (58%)	31 (40%)	8 (10%)	20 (26%)	3 (4%)	4 (5%)	18 (23%)

Cs : *Coccidium spp.*, Bs : *Buxtonella sulcata*, Fh : *Fasciola hepatica*, Tv : *Toxocara vitulorum*, Ss : *Strongyloides spp.*, Ep : *Erytrema pancreaticum*

Table 12. Detection of heavy metals and organochloro-insecticides in dead cattle

Comparison	Heavy metals(ppb)			Organochloro-insecticides			
	As	Cd	Pb	BHC	Aldrin	Endosulfan	DDT
Liver (5 ea)	2.7	4.0	-	-	-	-	-
Kidney (5 ea)	1.9	1.0	-	-	-	-	-
Fat (8 ea)	-	-	-	-	-	-	-

- : Not detected

Table 13. Isolation rate of *Clostridium perfringens* in cattle

Comparison	No of test	No of isolation	Isolation rate(%)
Dead cattle	67	63	94.0
Slaughter cattle	101	51	51.0

에서는 67두 중 63두(94%)에서 분리되었으며, 정상 도축우에서는 101두 중 51두(51%)에서 분리되었다.

폐사우 유래 63주 및 정상 도축우 유래 51주 등 총 114주에 대한 생화학적 성상 검사는 Table 14에서와 같이 운동성, gelatin, urease, arabinose, fructose, xylose 및 mannose 분해 능은 표준균주와 동일하였으나, indole 산생능에서는 분리균주 중 3주가, maltose 산생능에서는 110주가 분해능이 있었다. 이를 분리균주 114주에 대한 독소형 증명시험에서는 전 균주가 *Clostridium perfringens* type A로 판명되었다.

Table 14. Biochemical properties of *Clostridium perfringens* isolated from intestinal contents of cattle

Tests	Standard strains (%)	No of positive strains	
		n=114	%
Motility	0	0	0
Gelatin	100	114	100
Indole	0	3	3
Urease	0	0	0
Maltose	100	110	97
Arabinose	0	0	0
Fructose	100	114	100
Xylose	0	0	0
Mannose	100	114	100

정상 도축우 소장 내용물을 4, 8, 16 및 32시간 실온에 방치시켜 *Clostridium perfringens* 분리상황을 조사한 결과는 Table 15와 같이 도축후 시간이 경과함에 따라 분리율과 분리빈도가 높았으며, 특히 32시간 후에는 31두 모두에서

$10^6\text{--}10^8\text{cfu/ml}$ 로 정량되었다.

동물 및 토양에서 분리된 *Clostridium perfringens* 균주의 실험동물에 대한 독성시험을 실시한 결과는 Table 16과 같다. 폐사우 유래 22주, 정상 도축우 유래 18주, 토양 유래 4주 및 분변 유래 1주로 부터 독소 산생 용액을 마우스에 0.5ml씩 접종한 결과 모든 마우스가 4분 이내에 폐사하였다. 그리고 한국 재래산양에 접종한 결과는 Table 17과 같이 독소액을 체중 kg 당 3.4ml씩 주입 후에는 침울, 호흡곤란 및 운동실조 등의 증상을 보였으며, 1두는 1시간 10분 후에 폐사하였고, 1두는 증상 발현시 항혈청으로 치료를 실시한 결과 20분 후에 정상 호흡으로 돌아와 회복이 되었다.

발병된 5두에 대한 dexamethasone, penicillin 및 streptomycin으로 치료한 결과는 치료 후 1일 이내 2두, 2일 이내 1두, 3일 이내 1두 등 4두가 폐사하였으며, 1주일까지 폐사되지 않고 생존한 개체는 1두 뿐이었다.

폐사우에서 분리한 63주와 도축우에서 분리한 51주 등 *Clostridium perfringens* 114주를 16종 항균제로 최저발육저지농도(MIC)를 조사한 결과는 Table 19에서 보는 바와 같이 Am 및 Ba는 $0.1\mu\text{g/ml}$, Po는 $0.4\mu\text{g/ml}$, Ce와 Pm은 $0.8\mu\text{g/ml}$, Cm과 Em는 $3.1\mu\text{g/ml}$, Tc는 $25\mu\text{g/ml}$ 순으로 감수성을 보였고, Ak는 $200\mu\text{g/ml}$ 에서, Gm, Km, Nm, Sm, Stz, Stx는 $400\mu\text{g/ml}$ 에서 감수성이 있음을 알 수 있었다.

소독제 감수성 시험 결과

폐사우 유래 분리균주인 *Clostridium perfringens*의 각종 소독제에 대한 감수성 시험결과는 Table

20~23과 같이 포르말린에는 농도 3%에서 4시간 이내 불활화되었으며, 폐놀에는 농도 4%에서 20분 이내, 염화수은에는 농도 0.5%에서 20분 이내, 가성소다에는 농도 0.1%에서 40분 이내에 불활화 되었다.

시험우 입식사육 시험

Table 24와 같이 예방목적으로 항균제 및

생균제를 투여한 사육시험에서 시험군인 미아리산과 tetracycline을 투여한 5두에서는 1996년 8월부터 1999년 7월까지 3년동안 폐사가 발생하지 않았으나, 일반적인 사육형태로 약제를 투여하지 않은 대조군에서는 8두(폐사 대체우 3두 포함) 중 6두가 폐사하였다. 시험 폐사 우 검사 결과 6두 공히 소장 내용물에서 *Clostridium perfringens*

Table 15. Population of 31 *Clostridium perfringens* isolated from intestinal contents of slaughter cattle according to the time lapsed

Time lapsed	Population of <i>Clostridium perfringens</i> (cfu/ml)								
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸
4	3	9	5	6	4	3	1		
8		6			1	8	5	3	5
16		2			1	3	5	5	11
32	0						7	17	7

Table 16. Toxigenic test of 45 strains of *Clostridium perfringens* in mouse

Origin	No of strains	No of mouse inoculation	Results
Intestinal content of dead cattle	22	44	Died within 4 minutes
Intestinal content of slaughter cattle	18	36	Died within 4 minutes
Soil	4	8	Died within 4 minutes
Feces	1	2	Died within 4 minutes

Table 17. Toxigenic test to field strain of *Clostridium perfringens* in goat

Origin	Sex	Weight (kg)	Results
Intestinal content of dead cattle	Male	24	Death
	Female	38	Recovery

Table 18. Results of treatment in cattle infected with *Clostridium perfringens*

Within 1day	Within 2 days	Within 3 days	Death time after treatment	Recovery	Total
2	1	1		1	5 heads

Table 19. Minimum inhibitory concentration(MIC) of 114 *Clostridium perfringens* from cattle to antimicrobial drugs

Antimicrobial drugs	No of strains inhibited at MIC(μg or unit/ml)												
	400	200	100	50	25	12.5	6.3	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1
Amikacin (Ak)		12	6	6	3								
Ampicillin (Am)												114	
Bacitracin (Ba)												114	
Cephalothin (Ce)										12	17	58	27
Chloramphenicol (Cm)								70	29	9	6		
Colistin (Co)		6	6										
Erythromycin (Em)								3	44	67			
Gentamicin (Gm)	58	20	9	21	6								
Kanamycin (Km)	67	41	6										
Neomycin (Nm)	85	6											
Penicillin (Pm)										3	15		96
Polymyxin (Po)										75	39		
Streptomycin (Sm)	88	3	15										
Sulfamethazine (Stz)	98	16											
Sulfamethoxine (Stx)	94	20											
Tetracycline (Tc)						11	20	42	26	12	3		

Table 20. Formalin resistance of *Clostridium perfringens* isolated from dead cattle

*Con(%)	Time	Minutes					Hours					Days	
		1	10	20	30	40	50	1	2	4	6	8	10
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Con(%) : % concentration

Table 21. Phenol resistance of *Clostridium perfringens* isolated from dead cattle

*Con(%)	Tim	Minutes					Hours					Days	
		1	10	20	30	40	50	1	2	4	6	8	10
0.025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
0.05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
0.1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Con(%) : % concentration

Table 22. Mercuric chloride resistance of *Clostridium perfringens* isolated from dead cattle

*Con(%)	Time	Minutes					Hours					Days		
		1	10	20	30	40	50	1	2	4	6	8	10	1
0.5		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1		+	-	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Con(%) : % concentration

Table 23. Sodium hydroxide resistance of *Clostridium perfringens* isolated from dead cattle

*Con(%)	Time	Minutes					Hours					Days			
		1	10	20	30	40	50	1	2	4	6	8	10	1	2
1		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Con(%) : % concentration

Table 24. Examination of breeding in cattle treated with drugs

Comparison	Treatment	No of test	No of dead cattle	No of survival cattle
Group of examination	Miyari acid-P, Tetracycline	5	0	5
Group of control	Not treatment	8	6	2
Total		13	6	7

perfringens type A가 분리되었으며, 균수도 $2.0 \times 10^7 \sim 1.6 \times 10^9$ ml로 정량되어 장독혈증으로 폐사되었음이 확인되었다.

고 찰

1994년부터 1999년까지 6년동안 경주시 서면 사라리에서 발생되고 있는 폐사우의 원인究明과 그 대책을 강구하기 위해 이 지역에 대한 역학조사, 수질 및 토양 검사, 폐사우의 해부 및 병리조직학적 검사, 소장내용물의 *Clostridium*

perfringens 분리 및 정량을 실시하고, 실험동물 접종시험과 소독제 및 항균제 감수성 검사와 아울러 사라리에 시험우를 입식시켜 생균제와 항균제의 폐사 예방효과를 조사하였다.

사라리는 마을 전체 한우 사육두수가 549두에서 820두 정도 사육하고 있는 자연부락으로 이 마을에서 매년 2두 내지 33두가 폐사하여 6년 동안 총 47호에서 67건, 101두의 소가 폐사하였다. 이를 폐사우가 발생되는 계절을 보면 봄 21두(20.8%), 여름 30두(29.7%), 가을 17두(16.8%), 겨울 33두(32.7%)두가 발생하여 뚜렷

한 계절별 폐사율의 차이는 없었다. 그러나 연령별 폐사율은 번식우 62.3%(63두), 육성우 27.7%(28두), 비육우 및 송아지 각 5.0%(5두) 순으로, 주로 번식우와 육성우에서 폐사가 다발함을 알 수 있었다. 이것은 연령이 많아 짐에 따라 폐사 유발요인에 노출될 기회가 많기 때문으로 분석된다.

사라리 지역을 비롯 이웃지역에 걸친 광범위한 조사에서도 사라리와 다른 지역간 특성차이를 발견할 수 없었으며, 주위환경으로부터도 가축을 폐사시킬 위해요인을 찾을 수 없었다. 또한 소 이외의 다른 동물에서는 전혀 폐사가 발생되지 않고, 이웃 동네에서 사육되는 소에서 조차 전혀 집단폐사가 일어나지 않았다. 그러나 발생되는 농가를 대상으로 역학조사를 실시하여 보면 주로 외부에서 소를 구입하여 적당 기간 사육 후에 출하하는 형태의 비육농가에서 빈발함을 알 수 있었다. 이와같이 소의 구입 판매가 빈발하는 농가에서 다발하는 것으로 보아 소의 이동 및 환경변화 등 일종의 스트레스 요인이 폐사에 영향을 미친 것으로 추정된다^{12,26)}.

폐사우 101두 중 검사재료로 이용 가능한 67두에 대한 병인학적 조사에서 장독혈증 59두(88.0%), 폐렴 및 장염 각 3두(3.5%), 간농양 및 소화불량증 각 1두(1.5%) 순으로 판정되었다. 장독혈증으로 판명된 폐사우의 임상증상을 보면 특이한 소견없이 갑자기 원기가 떨어져 보행실조, 운동기피, 호흡곤란 및 경련을 일으키면서 전도 횡화하여 사지난도 및 효명 후 폐사한다. 이와 같이 폐사 경과시간이 짧기 때문에 대개 새벽녘에 폐사체를 발견하게 된다. 밤과 낮의 폐사 비율을 조사했던 바 밤에 발생하는 것이 월등히 많았었다. 그리고 증상우가 발견되어 대증요법을 실시한다 하더라도 회복되는 개체는 거의 없었다. 한편 이러한 질병이 발생되는 농가에서도 동일한 사육방식으로 사

육되는 우군내에서 조차 발병되는 개체와 발병되지 않는 개체는 뚜렷한 차이를 보이고 있었다. 폐사우와 동일 우군내 비발병 개체는 아무런 증상없이 건강하게 사육되고 있음을 알 수 있었다^{12,26)}.

이상의 임상소견을 보아 약물에 의한 중독으로 의심할 수 있으나 역학조사에서 어떠한 약물도 발견되지 않았으며, 증상이 발현된 개체는 자연 회복되는 경우가 없었고, 대증요법을 실시하더라도 폐사시간만 연장할 뿐 회복에는 실패하였다. 다만 치료를 시도한 발병우 중 1두만이 1주일까지 생존해 있었다. 폐사우의 경과 과정은 악성 진행형이며, 폐사 건수마다 임상증상도 거의 일치하였고, 지금까지의 장독혈증으로 폐사된 타 보고^{6,12)}와도 임상증상이 유사하였다.

집단폐사가 발생된 사라리 지역과 폐사가 발생되지 않는 이웃 동네인 운대리에 대한 수질검사 결과 칼슘, 마그네슘, 나트륨, 망간, 아연, 철, 구리 등이 음용수 기준치 이하로 함유되어 있으며, 두 지역간 함유량의 차이는 인정되지 않았다. 토양 분석에서도 인산, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철, 구리, 아연, 납, 카드뮴, 망간의 함유량이 일반토양과 차이가 없었으며, 사라리 지역 생산 벗꽃 분석에서도 T-N, P₂O₅, K₂O, CaO, MgO 함량이 기준치 범위 내였다. 실질장기내 중금속 및 유기염소계 함량은 간장에서 비소 2.7ppb, 카드뮴 4.0ppb, 신장에서 비소 1.9ppb, 카드뮴 1.0ppb로 미량이 검출되었으나, 신장 및 간장에서는 납은 전혀 검출되지 않았으며, 지방조직에서도 농약성분인 BHC, aldrin, endosulfan 및 DDT가 전혀 검출되지 않았다. 또한 바이러스에 의한 폐사 가능성을 배제할 수가 없어 가검물을 수차례 수의과학검역원에 의뢰하였으나 바이러스는 검출되지 않았다.

이같은 성적은 수질, 토양 및 벗꽃 내에서 무기물 성분의 함량이 폐사와 관련성이 없음을

알 수 있었으며, 만약 약물에 의한 중독이라면 특수한 환경조건에 어떠한 근거가 있어야 하는데 인근부락과는 하등의 차이점이 없었으며, 오직 가축 중에서도 소에서만 본 질병이 발생하는 것도 약물과의 관계가 없음을 추정할 수 있었다. 그리고 清水 등²⁷⁾은 급여사료, 장관내 변화, 토양내 *Clostridium perfringens* 분포상태 등이 장독혈증 발생과 밀접한 관계가 있음을 보고한 바가 있다.

사라리 지역의 폐사 한우를 부검하여 보면 암적색 응고불량성 혈액과 폐의 울혈 수종 및 출혈 소견이 나타나고, 비강 및 구강으로부터는 혈액성 포말액이 유출되고, 소장 점막의 충출혈과 혈액성 및 수양성 장내용물이 내강에 충만되어 있었다. 심장 내외막의 출혈, 뇌의 충혈, 신장의 출혈과 취약, 제4위 점막의 충혈, 장점막의 출혈, 간의 충출혈, 비장의 충혈, 근육의 퇴색, 기타 장기의 충혈 등의 소견도 관찰되었다. 이러한 여러 부검 소견 중 폐의 심한 울혈 및 수종과 장점막의 광범위한 충출혈 및 혈액성 장내용물의 출현이 일치된 소견으로 나타났다^{12,28)}. 병리조직학적 소견은 폐의 충출혈과 수종, 기관 점막의 출혈과 포말성액체 저류, 기관지 점막층내 다수의 globule leukocyte의 출현과 경도의 급성 폐렴 소견, 소장 점막층내의 충출혈과 점막층의 괴사와 lymphocyte, neutrophil, eosinophil의 출현, 장간막 림프절의 수종과 lipofuscin 과립 출현 등이었으며, 특히 소장 점막층의 도말표본에서는 gram 양성 간균이 다수 출현하였다^{12,28)}.

이상의 해부 및 병리조직학적 소견은 장독혈증의 타 보고자의 성적^{29~34)}과 거의 유사하였으며, 그리고 비강 및 구강으로의 혈액유출과 기관의 출혈 등의 해부 소견은 *Clostridium perfringens* type A형균에 의한 소견과 유사하였다. 폐 기관지 내에 다수의 globular leukocyte가 출현하는 것으로 봐서는 폐렴이 본 급사병과 직간접적으

로 관여됨을 짐작할 수 있었다^{35~40)}. 또한 장간막 림프절내에 lipofuscin의 출현은 Jubb 등이 만성장염에서 관찰됨을 보고하고 있어 만성 장염도 하나의 유발요인이 될 수 있음을 추정할 수 있었다^{35~40)}. 그러나 폐사우와 건강우 공히 *coccidium spp*, *buxtonella sulcata*, *fasciola hepatica*, *toxocara vitulorum*, *strongyloides spp*, *erytrema pancreaticum* 등의 기생충에 감염된 것으로 봐서는 본 급사병과 기생충과는 뚜렷한 관련성이 없는 것으로 추정되어진다.

폐사우에 대한 임상병리학적 검사에서는 적혈구 및 백혈구수는 정상이며, 혈청내 ALT, BUN, creatine, alkaline phosphatase activity, triglyceride, uric acid 함량과 무기물인 마그네슘, 칼슘 및 칼륨의 함량도 폐사우, 동거 건강우, 타지역 사육우와는 차이점이 인정되지 않았다. 그러나 glucose 함량은 폐사우에서 227 mg/dl로 나타나 건강우 38.6mg/dl, 타지역 사육우 14mg/dl보다 매우 높았으며, AST 함량도 폐사우 252U/l로 나타나 건강우 74.4U/l, 타지역 사육우 77.6U/l 및 기준치보다 높게 나타났다.

이와 같은 성적을 비교해 보면 *Clostridium perfringens* 독소를 주사한 개와 *Clostridium perfringens* D형균을 십이지장에 주입한 면양과 산양에 있어서 glucose 함량이 증가하고, 또한 *E. coli* 내독소를 주입한 돼지에서도 혈중 glucose량이 증가함을 보고한 바 있다^{41,42)}. 다만 *Clostridium perfringens* A형균의 독소를 주입한 소에 대한 보고가 없어 직접 비교는 할 수 없었으나 본 실험 예에서는 혈중 glucose 와 AST가 증가함을 알 수 있었다.

따라서 사라리 지역에서 발생되는 급사병 폐사우에서의 성적과 *Clostridium perfringens*균 감염에 의한 성적과는 거의 일치하고 있어 사라리에서의 폐사도 장독혈증에 의한 집단 폐사임을 알 수 있었다.

소의 소장 내용물에 대한 *Clostridium perfringens*의

분리검사에서 폐사우에서는 67두 중 63두(94%)에서 분리되었으며, 정상 도축우에서는 101두 중 51두(51%)에서 분리되었다. 분리균주 114주와 표준균주에 대한 생화학적 성상검사에서는 운동성, gelatin, urease, arabinose, fructose, xylose 및 mannose 분해능은 표준균주와 동일하였으나, indole 생산능은 분리균주 중 3주만이, maltose 생산능은 분리균주 중 110주가 분해능이 있었다. 또한 이들 분리균주 114주의 독소형 증명시험에서는 모두가 *Cl perfringens* type A로 판명되었다.

近藤房生 및 尾形學¹⁶⁾은 조사한 소 24두 중 19두(79.1%), 양 46두 중 38두(82.6%), 돼지 13두 중 6두(46.1%)에서 *Cl perfringens*가 분리됨을 보고하였고, 조 등¹³⁾은 설사증에 감염된 송아지 300두중 95두에서 *Cl perfringens*가 분리되어 31.7%의 분리율을 보고한 바 있어 본 실험의 성적과는 다소의 차이가 있었다. 이는 소장 내용물을 사용하는 시험재료와 실험방법의 차이에서 온 것이라 사료된다. 그러나 Taylor와 Gordon²⁰⁾은 사람, 소, 돼지, 개, 양, 조류 등의 직장 내용물에서 분리한 *Cl perfringens* 1,147주 중 A형이 1,134주, B형이 3주, D형이 10주로 거의 대부분이 A형 임을 보고하고 있어 본 성적에서의 *Cl perfringens* type A와는 유사하였다.

장염에 감염된 가축의 직장 내용물을 배양하였을 때 *Cl perfringens* 균수가 다른 균보다 월등히 많거나, 단일균 형성이 관찰될 경우에도 간접적으로 장독혈증으로 진단할 수 있으며⁴³⁾, 폐사우 장 내용물에서 $10^6/ml$ 이상의 균이 검출될 경우에도 장독혈증 양성으로 판정할 수 있음을 이 등¹⁶⁾은 보고 한 바 있다. 그러나 본 연구자는 균수 정량만으로는 *Cl perfringens*에 의한 장독혈증으로 판명하기에는 여러 문제점이 있는 것으로 생각하며, 여기에는 반드시 폐사후 균정량까지의 경과시간을 고려하여야 할 것으로

사료된다.

사라리 지역에서 장독혈증으로 판정된 폐사우의 장내 *Cl perfringens* 균수 분포는 대부분이 $10^{7\sim 8}/ml$ 범위이었다. 이는 폐사전에 증식된 균수인지 폐사후 사체에서 증식된 균수인지는 알 수 없었다. 그래서 정상적으로 도축되는 한우에서 소장 내용물을 시간 경과에 따라 실온에 방치하면서 *Cl perfringens*를 분리 정량 하였던 바 대부분이 16시간 이후에는 균수가 $10^{6\sim 8}/ml$ 범위임을 알 수 있었다. 이와 같이 시간이 경과함에 따라 정상 한우 소장내에서도 *Cl perfringens* 균수가 증가함을 볼 때 사라리 지역에서 발생되는 폐사우에서의 *Cl perfringens* 분리 균수도 폐사후 경과시간에 따라 많은 차이가 있음을 알 수 있었다. 그러나 사라리 폐사건에서 폐사후 검사시간이 매우 짧은 개체에서도 대부분이 *Cl perfringens*의 균수가 $10^{7\sim 8}/ml$ 으로 나타나는 것으로 봐서는 이 지역에서의 폐사원인은 장독혈증 임을 부정할 수 없었다.

병원성 파악을 위해 분리된 *Cl perfringens* 균주 유래 독소로 마우스에 대한 독성시험을 실시한 결과는 주입된 모든 마우스가 4분 이내에 폐사하였다. 한국 재래산양에 대한 접종에서도 독소액을 체중 kg당 3.4ml씩 주입 후에는 2두 공허침울, 호흡곤란 및 운동실조 등의 증상을 보이다, 1두는 1시간 10분 후에 폐사하였고, 1두는 증상 발현시 antiserum으로 치료를 실시한 결과 20분 후에는 정상 호흡으로 돌아 와 회복이 되었다. 그리고 실제 발병된 한우 5두에 대한 치료 시험에서는 dexamethasone, penicillin 및 streptomycin으로 치료했음에도 불구하고 대부분이 2~3일 이내에 폐사하였고, 1주일까지 생존한 개체는 1두 뿐이였다.

이상의 결과로 봐서는 *Cl perfringens* 균주 유래 독소가 상당한 병원성이 있는 것으로 추정되며, 생산된 독소가 전신 장기에 확산되기 전에 항혈청으로 처치하였을 경우에는 회복이

가능할 수 있으나, 전신 장기에 확산된 후에는 회복이 매우 어려움을 알 수 있었다⁶⁾.

한편 독성시험에 사용한 균주는 집단폐사가 발생된 지역의 폐사우 및 토양, 정상 도축우의 건강한 한우 등 여러 곳에서 분리된 균이었으나 균주간 마우스와 재래산양에서의 병원성 차이는 크게 인정되지 않았다. 즉 *Clostridium perfringens* type A균의 유래와 관계없이 일정한 병원성을 보유하고 있는 것으로 생각되어진다. 그러나 세밀한 병원성의 차이는 있을 수 있기 때문에 추후 toxin의 분석이나 유전학적 방법으로 DNA 분석을 실시해 보아야 할 것으로 사료된다.

폐사우에서 분리한 63주와 도축우에서 분리한 51주 등 *Clostridium perfringens* 114주의 16종 항균제에 대한 최저발육저지농도(MIC)를 조사한 결과에서 Am 및 Ba는 $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$, Po는 $0.4\mu\text{g}/\text{ml}$, Ce와 Pm은 $0.8\mu\text{g}/\text{ml}$, Cm과 Em은 $3.1\mu\text{g}/\text{ml}$, Tc는 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ 순으로 감수성을 나타내었고, Ak는 $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지, Gm, Km, Nm, Sm, Stz, Stx는 $400\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 발육이 저지되었다.

동물에서 분리한 *Clostridium perfringens*의 약제감수성 적을 보면 penicillin, ampicillin, carbenicillin, cephalothin 등에 감수성이 우수하다고 알려져 있으며^{44~46)}, 조 등¹³⁾은 cephalothin, penicillin, chloramphenicol에서 감수성이 높았고, erythromycin, amikacin에서도 감수성이 있다고 보고하였고, 본시험에서도 bacitracin, ampicillin, cephalothin, penicillin, chloramphenicol 순으로 감수성이 높아 유사한 결과임을 알 수 있었다.

따라서 경주시 서면 사라리에서 발생되고 있는 소의 집단 폐사 방지를 위해서는 이들 감수성 약제의 투여가 고려되어야 할 것으로 생각된다. 특히 소에서 이 질병이 발생되면 회복이 거의 불가능하기 때문에 예방 위주의 사육이 필요할 것이다. 장독혈증의 발생도 소장내 환경이 혐기성균인 *Clostridium perfringens*의 증식조건이 적당할 때만 가능하므로 이의 유인 제공을

억제하기 위해서도 감수성 약제의 주기적 투여가 필요할 것으로 사료된다.

일반적으로 세균에 대한 소독제의 농도로는 석탄산 2%, 승홍 0.1%, 포르말린 3%를 사용하고 있으나^{46~47)}, *Clostridium perfringens*균은 아포를 형성하는 균이기 때문에 보통 농도보다 높게 사용하여야 할 것으로 추정되며, 본 실험에서도 폐사우 유래 분리균주의 소독제 감수성 조사에서 포르말린 3%에서 4시간, 폐놀 4%에서 20분, 염화수은 0.5%에서 20분, 가성소다 0.1%에서 40분 이후에 불활화 되었다.

Clostridium perfringens 균에 의해 발생되는 장독혈증의 예방효과를 측정하기 위하여 1996년 8월부터 1999년 7월까지 3년 동안 사라리 지역의 1개 농가를 선정하여 한우를 각 5두씩 2개군으로 나누어 입식 사육을 하면서 비교시험을 실시하여 보았다. 약제 투여군 5두에는 항균제(tetracycline)와 생균제(미야리 P)를 투여하고, 나머지 대조군 5두는 약제를 투여하지 않고 통상적인 사육방법으로 사육하였다. 그 결과 생균제의 연속 공급과 항생제의 2주마다 1회, 3일간씩 주기적으로 투여한 우군에서는 폐사가 전혀 발생하지 않았으나, 일반적인 사육형태로 사육하면서 약제를 투여하지 않은 대조군에서는 8두(폐사 대체우 3두를 포함) 중 6두가 폐사하였다.

이는 본 질병의 예방에 항생제와 생균제의 효과가 매우 큼을 알 수 있고, 이 질병의 억제를 위해서는 주기적으로 항생제와 경쟁적 배제 목적의 생균제의 투여가 필수적임을 시사한다.

따라서 이러한 여러 성적들은 사라리에서의 급사병은 장독혈증 임을 간접적으로 증명하고 있으며, 이 병의 초기 발생 형태도 장내 불균형에서 초래함을 알 수 있었다. 또한 장독혈증의 발생에 동반되는 소장내에서의 *Clostridium perfringens* 증식에는 바이러스나 기생충 등이 직접적으로 관여되지 않음도 추정할 수 있었다.

다만 항생제 투여에 의한 예방수준의 정균

작용과 생균제 투여에 의한 장내 환경, 즉 경쟁적 배제효과가 이 질병의 발생을 방지할 수 있었다.

이상의 성적을 종합하여 고찰해 보면 경주시 서면 사라리에서 발생되는 한우 집단폐사 예는 역학조사에서 뚜렷한 원인이 없고 전구증상없이 폐사하며, 임상병리학적 검사에서 glucose와 AST치가 증가하고, 병리조직 소견에서 폐의 충출혈과 고사성 장염의 소견, 미생물학적 검사에서 소장 내용물에 *Clostridium perfringens*균이 다량으로 정량되는 점, 실험동물접종에서 마우스에 대한 독성이 인정되는 점 등으로 봄 *Clostridium perfringens* 균에 의한 장독혈증으로 진단된다. 그리고 입식 사육 시험에서 항생제와 생균제의 효과가 본 병의 발병을 억제하는 것도 장내 미생물총의 변화를 방지하는 데 기인된 것으로 사료된다.

그러나 장독혈증은 *Clostridium perfringens*균이 소의 장내에서 정상 세균총으로 존재하다가 기후변화, 이동, 사료급변, 사양환경 변화 등 여러 스트레스 요인에 의해 급속히 증식한 결과 산생된 독소가 흡수되어 독혈증이 유발된 것으로 사료되나 왜 사라리 지역에서만 유독 다발하는지 그 이유에 대해서는 명쾌히 밝혀내지 못하고 있는 실정이다. 특히 장내에서 *Clostridium perfringens* 균의 증식에 용이한 조건을 제공하는 유발 인자가 무엇인가는 추후에究明하여야 할 과제로 사료된다.

결 론

1994년부터 1999년까지 6년 동안 경주시 서면 사라리 지역에서 소의 집단폐사 원인구명과 그 대책을 강구하기 위하여 여러 실험을 실시한 결과는 다음과 같다.

역학조사에서 사라리는 최소 549두, 최대 820두의 사육 축우 중 매년 2~33두씩, 총 47호, 67건, 101두가 폐사하였다.

계절별 발생상황은 봄 21두(20.8%), 여름 30두(29.7%), 가을 17두(16.8%), 겨울 33두(32.7%) 이었으며, 연령별로는 번식우 63두(62.3%), 육성우 28두(27.7%), 비육우 및 송아지 각 5두(5.0%) 순이었다. 병인별로는 장독혈증 59두(88.0%), 폐렴 및 장염 각 3두(3.5%), 간농양 및 소화불량증 각 1두(1.5%)이었다.

폐사우의 임상증상은 특이한 증상없이 갑자기 발병하며, 운동기피, 호흡곤란 및 경련을 일으킨 후 전도 횡와하여 사지난도 및 효명 후 폐사하였다. 그리고 집단폐사가 발생되는 사라리 지역과 비발병 지역인 이웃마을과의 수질, 벗꽃 및 토양검사에서 성분 차이는 인정되지 않았다.

폐사우의 해부 소견은 공통적으로 폐의 심한 충출혈과 수종, 소장 점막의 광범위한 충출혈 및 혈액성 내용물이 충만하였고, 병리조직 소견에서는 폐의 충출혈, 기관지 점막충내 globule leukocyte의 출현 및 소장 점막층의 충출혈과 피사 등 이었다.

혈액 검사에서 혈구수는 정상이었으며, 혈청 내 glucose 및 AST치는 증가하였으나, BUN, creatinine, alkaline phosphatase activity, triglyceride, uric acid의 변화는 거의 없었으며, 마그네슘, 칼슘 및 칼륨의 함량도 변화가 없었다. 폐사우 실질장기내 비소, 카드뮴, 납 등과 농약 성분검사에서도 유의성이 인정되지 않았으며, 분변내 기생충 감염도 폐사우와 건강우간에 차이가 인정되지 않았다.

소장내 *Clostridium perfringens*(*C. perfringens*) 균의 분리율은 폐사우에서 94%(63/67두), 건강 도축우에서 51%(51/101두)이었으며, 도축우의 시간대별 균 정량은 도축 후 16~32시간 경과 후에 $10^{6\sim 8}/ml$ 범위이었다.

야외 분리균주인 *Clostridium perfringens* 균의 동물접종 시험에서 마우스와 재래산양에 대한 병원성이 인정되었으며, 발병우에 대한 항균제 치료시

험에서는 5두 중 4두가 폐사하였다. 이러한 여러 성적들을 종합할 때 사라리에서의 집단 폐사원인은 장독혈증으로 결론지을 수 있었다.

폐사우 및 도축우에서 분리한 *Clostridium perfringens* 114주에 대한 항균제의 최저발육저지농도 (MIC)는 ampicillin 및 bacitracin은 $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$, polymyxin은 $0.4\mu\text{g}/\text{ml}$, cephalothin과 penicillin은 $0.8\mu\text{g}/\text{ml}$, chloramphenicol과 erythromycin은 $3.1\mu\text{g}/\text{ml}$, tetracycline은 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ 순이었고, amikacin은 $200\mu\text{g}/\text{ml}$, gentamicin, kanamycin, neomycin, streptomycin, sulfamethoxine, sulfamethazine은 $400\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.

폐사우 유래 *Clostridium perfringens* 주의 소독제 감수성은 포르말린 3%에서 4시간, 폐놀 4%에서 20분, 염화수은 0.5%에서 20분, 가성소다 0.1%에서 40분 이후에 불활화되었다.

Clostridium perfringens 균에 의해 발병되는 장독혈증의 예방효과를 측정하기 위하여 1996년 8월부터 1999년 7월까지 3년 동안 사라리 지역의 1개 농가를 선정하여 한우를 입식사육한 시험에서 항균제(tetracycline) 및 생균제(미야리 P)를 투여한 우군에서는 폐사가 없었으나, 약제비투여군에서는 8두 중 6두가 폐사하였다.

참고문헌

1. 농림부. 1999. 도축장 위해 요소 중점관리 기준(HACCP) 적용 매뉴얼.
2. 곽종영, 김선균, 이병오 등. 1986. 가축관리 학 요론 : 25~39.
3. 대한수의사회. 1971. 대한수의사회 가축지방병사인조사위원회규약 및 임상검사지침.
4. 이차수, 임창형. 1975. 유기인체 중독에 관한 병리학적 연구. 대한수의학회지 15 : 3 9~45.
5. 이차수, 조용준, 김영욱 등 1975. 경북지방 어느 비육우목장에서 집단 발생한 방목우의 고사리 중독양 질병에 대하여. 대한수의학회지 15(2) : 336.
6. 이차수. 1978. 홀스타인 독우에 발생한 질 산염증. 대한수의학회지 18(1) : 9~13.
7. Bloo DC, Radostits OM, Henderson JA. 1983. *Veterinary Medicine*. 6th ed. Bailliere Tindall, London : 49~51.
8. 東量三, 近藤房生. 1979. Techniques for the study of anaerobic bacteria from chickens. (Microbiological Diagnosis of Necrotic Enteritis). 鷄病研究會報 : 1~20.
9. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. 1988. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*. 8th ed, Cornell University Press. 214~240.
10. Bergeland ME. 1986. *Clostridial infection in disease of swine*. 6th ed. Iowa State Univ Press, Ames, Iowa : 557~571.
11. Van Kruiningen HJ. 1988. *Gastrointestinal system in special veterinary pathology*. 1st ed. : 189~191.
12. 이차수, 박준형, 박청규 등. 1997. 농가사육비육우의 집단폐사 원인조사와 그 대책. 농림부보고서.
13. 조성근, 김종엽, 박정문. 1990. *Clostridium perfringens*에 의한 송아지의 장독혈증에 관한 연구. 수의공중보건학회지 14(3) : 22 5~263.
14. 조성근, 김종엽, 박정문. 1991. 자돈의 *Clostridium perfringens* 감염증에 관한 조사연구. 농시논문집 (가축위생편) 33 : 2 5~31
15. Worrall EE, Natalia P, Ronohardjo S, et al. 1987. Enterotoxemia in water buffaloes caused by *Clostridium perfringens* type A. *Vet Rec* 121 : 278~279.

16. 近藤房生, 尾形學. 1975. 各種動物由來 *Clostridium perfringens* の諸性状および形別. 日本細菌雑誌 30(3) : 477~484.
17. Willis AT. 1969. Clostridia of wound infectious. London : Butterworths.
18. Satto H, Chiba J, Sato Y, 1989, Monoclonal antibodies against alpha toxin of *Clostridium perfringens*. *FEMS Microbiol Letters* 59 : 173~176.
19. Timothy EB, Daniel GB, John FP, Brian PW, Differences in signs and lesions in sheep and goats with enterotoxemia induced by intraduodenal infusion of *Clostridium perfringens* type D.
20. Taylor AW, Gordon WS. 1938. A survey of the types of *Cl. welchii* present in soil and in the intestinal contents of animals and man. *Ani Dis Res Ass* 576.851.5 : 271~277.
21. 이삼열, 정윤섭. 1970. 임상병리검사법. 연세대학교출판부, 서울 : 501~533.
22. Ewing WH, 1986. *Edwards and Ewings identification of enterobacteriaceae*. 4th ed. New York, Elsevier, 1986.
23. Duncan CL, Dorothy HS. 1967. Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Appl Microbiol* 16(1) : 82~89.
24. Steers E, Foltz EL, Graves BS. 1959. An inocula replicating apparatus for routine testing bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot Chemother* 9 : 307~312.
25. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepk ST. 1970. Detailed Methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbiol* 20 : 46~53.
26. 김정화, 최일영, 홍현표, 조민희, 박영구. 1999. 도축우 소장에서 *Cl peringens* 분리 및 시간경과에 따른 균수 변화추이. 한가위 22(2) : 151~158.
27. 清水龜平次, 後藤仁, 日幡敏一, 上田, 田村哲. 1968. *Clostridium peringens*による牛のenterotoxemiaについて. 日本獣醫學雑誌 30 : 177.
28. Osweiler GD, Carson TL, Buck WB, et al. 1985. Clinical and diagnostic veterinary toxicology. Kendall/Hunt Pub. Co, Iowa : 44~484.
29. Griesemer RA, Krill WR. 1962. Enterotoxemia in beef calves 30 years observation. *JAVMA* 140 : 154~158.
30. Schofield FW. 1955. Enterotoxemia(sudden death) in calves due to *Clostridium welchii*. *JAVMA* 126 : 192~194.
31. Bozeman CS, Lindley EH, Branson JW. 1962. Bovine enterotoxemia. *JAVMA* 140 : 937~938.
32. Griner LA, Aichelman WW, Brown GD. 1956. *Clostridium perfringens* type D(ep-silon) enterotoxemia in Brown swiss dairy calves. *JAVMA* 129 : 375~376.
33. Jubb KVF, Kennedy PC. 1993. *Pathology of domestic animals*. Vol. II, 4th ed., Academic press, New York and London : 237~239.
34. Smith HA, Jones TC, Hont RD. 1972. *Veterinary pathology*. 4th ed, Lea and Febiger, Philadelphia : 1211.
35. Lawrence JA. 1977. The globule leucocyte in bovine schistosomiasis. *Res Vet Sci* 23 : 239.
36. Sommerville RI. 1956. The histology of

- the ovine abomasum, and the relation of the globule leucocyte to nematode infestations. *Aust Vet J* 32 : 237.
37. Breeze RG, Pirie HM, Dawson CO, et al. 1975. The pathology of the respiratory disease of adult cattle in Britain, Folia. *Vet Latina* 5 : 95.
 38. Pirie HM, Breeze RG, Selman IE, et al. 1976. Indoleacetic acid, 3-methylindole and type 2 pneumonocyte hyperplasia in proliferative alveolitis of cattle. *Vet Rec* 98 : 259.
 39. Wilkie BN. 1978. Bovine allergic pneumonitis : An acute outbreak associated with mouldy hay. *Can J Comp Med* 42 : 10.
 40. 이차수, 박상준. 1996. 폐렴소견을 보이는 한우의 폐에서 관찰된 Globule leucocyte의 형태학적 소견. *대한수의학회지* 부록 36(2) : 76.
 41. Berg M, Levinson SA. 1959. Hyperglycemia and histochemical changes induced in dogs by *Clostridium perfringens* toxin. *Arch Path* 68 : 83~93.
 42. Blackwell TE, Butler DG, Prescott JF, et al. 1991. Differences in signs and lesions in sheep and goats with enterotoxemia induced by intraduodenal infusion of *Clostridium perfringens* type D. *Am J Vet Res* 52 : 1147~1152.
 43. Rose AL, Edgar G. 1936. Isolation and characterization of *Clostridium perfringens*. *Aust Vet J* 12 : 212.
 44. Rood JI, Maher EA, Somers EB, et al. 1978. Isolation and characterization of multiply antibiotic resistant *Clostridium perfringens* strains from porcine feces. *Antimicrob Agents Chemother* 12 : 871~880.
 45. Marie TJ, Haldane EV, Swantek CA, et al. 1981. Susceptibility of anaerobic agents and demonstration of decreased susceptibility of *Clostridium perfringens* to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 19 : 15~55.
 46. Appelbaum PC, Chatterton SA, 1978. Susceptibility of anaerobic bacteria to ten antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemotheraph* 14 : ???~???
 47. Neal CE, Calvert HE. 1955. The use of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as test for antibiotic substance in milk. *J Daily Sci* 38 : 629~633.
 48. Igarashi RT, Baughman RW, Nelson FE, et al. 1970. Rapid antibiotic assay method using *Bacillus stearothermophilus*. *J Milk Food Technol* 24 : 143~146.