

바다사자에서 *Clostridium perfringens* 감염에 의한 괴사성 장염증례 보고

신남식 · 권수완 · 이기환¹ · 김양범 · 최재훈* · 박주연* · 유한상* · 김대용* · 권오경*
에버랜드 동물원 · 서울대학교 수의과대학*

Necrotic Enteritis Caused by *Clostridium perfringens* in California sea lion (*Zalophus californianus*)

Nam-shik Shin, Soo-wahn Kwon, Gi-hwan Lee¹, Yang-bum Kim, Jae-hoon Choi*,
Ju-yeon Park*, Han-sang Yoo*, Dae-yong Kim* and Oh-kyeoung Kwon*

Everland Zoological Gardens, Yong-In 449-715, Korea

*College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT : A case of enteritis caused by *Clostridium perfringens* was observed in 4 years old, male California sea lion (*Zalophus californianus*). Clinical signs were included in anorexia, depression, diarrhea and vomiting, and the animal died on 4 days after showing clinical signs. Grossly, bloody contents were presented in the intestine and the intestinal mucosa were congested and dark redcolored, and also there were serous fluid in the peritoneal cavity. Histopathologically coagulative necrosis destroyed two third of the villus. *Clostridium perfringens* were isolated from the intestinal contents. Based on the gross and histopathological findings, this case was diagnosed as necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* infection.

Key words : Sealion, *Clostridium perfringens*, necrotic enteritis

서 론

캘리포니아 바다사자는 3科 18屬 34種으로 분류되어 있는 기각목(Pinnipedia)의 바다사자과에 속하며, 가장 흔히 사육되고 있는 해산 포유동물로서 전세계적으로 약 50,000마리가 서식하고 있는 것으로 추정되고 있다⁹. 체색은 암수 모두 초콜렛빛 갈색조이며, 주요 근육이 몸의 앞쪽에 집중되어 있고 경추와 흉추가 발달되어 있다. 수컷은 번식기간중에는 자신의 영역을 확보하고 5~20여마리의 암컷을 불러 모으며, 암컷의 임신기간은 11.5~12개월이다. 채식은 오징어와 문어를 주식으로 한 청어, 정어리, 곤돌메기와 같은 다양한 어류를 먹는다. 연안에서 생활하며, 해안으로부터 16 km 이상되는 바다에서는 관찰되지 않는다. 수명은 사육상태에서 20~25년이다⁸.

세균 감염은 해산 포유동물의 폐사와 질병이환에 중요한 원인이되고 있다¹⁰. 바다사자에서는 기생충감염,

기생충성 폐렴, 폐렴, 위장관감염, 복막염, 패혈증이 가장 일반적으로 발생되는 질병이다. 에버랜드에서는 7두의 캘리포니아 바다사자를 사육하던중 4세된, 수컷이 구토, 수양성설사(혈액성), 식욕부진, 침울 증상을 발현한지 4일만에 폐사되었으며, 부검결과 육안적으로 소장내 혈액성 내용물 충만, 소장 정맥의 발적, 장간막 임파절의 발적 증대, 혈액성 복수 및 장점막의 충·출혈 및 폐사가 관찰되었고, 세균검사결과 *Clostridium perfringens*가 분리되어 이를 보고 하고자 한다.

증례

사육환경

폐사개체는 에버랜드 동물원에서 3년간 사육되어온 4년령, 수컷 California sealion (*Zalophus californianus*)로서 폐사 당시 수척한 상태로 체중은 40 kg(체중조절로 인하여 전월에 비해 6 kg이 감소됨)이었다. 사육장소의 크기는 2 m×1.5 m×2.5 m로서 stainless fence로 둘러쌓여 있으며, 플라스틱으로 만든 간이

¹Corresponding author.

pool(500 l)과 목제 침상으로 구분되어 있어서 훈련 시간 이외에는 간이 pool에서 수영을 하거나 침상위에서 휴식을 취했다. 배변과 배뇨는 주로 pool내에서 하였으며 분변으로 오염된 pool의 물은 수시로 교체해주었다. 먹이는 냉동 양미리 1.5 kg, 풍치 1.5 kg, 오징어 1 kg를 소금물에 완전히 해동하여 일일 4회로 나누어 급여했고, 물은 pool내 혹은 배수후 급수시 급수관에서 나오는 물을 섭취했다.

병력

본 개체는 발병 12일전 4 cm×3 cm 크기의 고무로된 이물질을 섭취한후 복통 및 구토증상을 호소하여, 사료 과식을 유도하고, 포화식염수를 경구내 투여하여 구토를 유발하여 토출시킨 사례가 있었으나, 이를 토출 후 정상적인 생리상태로 회복되었다.

발병 첫날에는 미소화된 죽상의 채식물을 구토한 후 활동부진 및 식욕절폐, 침울 증상을 보였으며, 다음날에는 적갈색조의 혈액성 수양성 설사와 구역질이 관찰되었고, 식욕절폐 및 복통을 호소하는 듯한 몸을 웅크린 자세로 활동부진, 침울 상태가 이틀간 지속되었다. 4일째 폐사직전에는 암적갈색조의 악취가 있는 점조한 액상물질을 다량 토출하며, 호흡곤란과 함께 돌연 폐사되었다. 치료제로 Penicillin-G, 비타민 B-complex 및 Cimetidine을 사용했다.

혈액검사를 하기 위하여 채혈을 시도하였으나, 거부 반응이 심하고, 보정이나 치료행위 자체가 아생동물에게 심한 스트레스를 주며, 이에 따른 활력저하 및 식욕부진이 가중될 수 있다고 판단되어 실시하지 않았다.

검사방법

사인규명을 위하여 부검 후 병리조직학적인 검사를 실시하였다. 적출된 주요 실질장기들은 10% 중성 완충 포르말린에 충분히 고정한 다음, 일반적인 조직 처리 과정을 거친 후 파라핀에 포매하였으며 광학현미경적 관찰을 위해서 Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색을 실시하였다. 또한 병변내에 원인균의 존재 유무를 확인하기 위하여 gram 염색을 실시하였다.

부검 후 장염 병변으로 보이는 부위의 장내용물 및 장내면을 멸균면봉을 이용하여 채취한 후 면양혈액평판배지에 도말한 다음 gas pak(BBL)과 함께 candle jar에 넣어 37°C에서 24시간 배양하였다. 특징적인 이중 용혈대를 보이는 세균 집락수가 우세하게 많거나 단일 집락으로 나타나는 혈액 배지로부터 하나의 집락을 따서, 이를 순수 배양하고 Hogh의

방법에 따라서 litmus milk의 stromy fermentation, lecithinase 생성능, reverse CAMP test, 운동성, indole 및 urease 생성능, glucose를 비롯한 당분해능등 생화학적인 검사를 실시하여 동정하였다^{4,5)}.

분리균주의 항생제 감수성 검사는 Bauer와 Kirby의 방법에 따라서 실시하였다³. 공시항생제는 ampicillin 등 16종의 항생제를 사용하였다. 즉, 접종균액은 tryptic soy agar에 배양한 균을 Muller Hinton broth에서 8시간 배양 후 멸균 생리식염수로 희석하여 MacFarland scale NO. 0.5 BaSO₄ 표준 비색관에 맞추었다. 접종균액을 멸균된 면봉으로 Muller Hinton agar에 골고루 바른 다음 항균제 디스크를 20 mm 간격으로 배지 표면에 부착시키고 각 항균제에 대한 감수성 여부를 판정하였다.

독안소견

동물은 부검시 외관상 상당히 수척하였다(Fig 1). 위와 소장에는 다량의 암녹색 혹은 요오드색의 혈액성 내용물이 존재하고 있었으며 장 점막은 심하게 발적되어 있었다. 장관내 가스 충만 및 장간막 임파절도 중정도로 발적 종대(Fig 2)되어 있었으며 복강내에는 약 1 l의 혈액성 내용물이 존재하고 있었다(Fig 3).

병리조직학적 소견

조직학적 관찰 결과, 특징적인 병리학적 변화는 소장, 임파절 및 폐장에서만 관찰되었다. 소장점막은 소장 고유의 형태학적 모습을 유지한채 융모의 상부반 정도가 괴사되어 있었으며(Fig 4), 그람염색 결과 다수의 그람양성 간균이 확인되었다. 장간막 임파절의 임파동은 hemosiderin을 함유한 다수의 거대세포(macrophage)의 유입으로 인하여 확장되어 있었다. 폐장의 혈관들은 노장되어 있었다.



Fig 1. Loss of body weight and emaciation



Fig 2. Swelling of the mesenteric lymph nodes

Fig 4. Coagulative necrosis which was destroyed two third of the villus. H&E stain ($\times 50$)

Fig 3. Serous fluid in the peritoneal cavity

세균등정결과

폐사체로부터 분리된 분리주들은 Gram 양성 간균으로서 면양 혈액배지상에서 특징적인 이중 용혈상을 보였으며, litmus milk의 stormy fermentation, lecithinase 양성, reverse cAMP test 양성, 비운동성, Indole 음성, Urease음성, 당분해능 검사에서는 glu-cose, lactose 및 galactose 분해능을 보이는 성상을 나타내는 균주들을 표준균주와 비교하여 *Clostridium perfringens*로 동정하였다.

항생제 감수성 검사

분리균주에 대하여 ampicillin 등 16종에 대하여 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 chloramphenicol, nalidixic acid, enrofloxacin, carbenicillin, cefquinome, vancomycin, tetracycline, bacitracin, danofloxacin, ampicillin 그리고 norfloxacin에 대하여 감수성을 보인 반면, streptomycin, sulfamethoxazole(trimethoprim), gentamycin,

neomycin, amikacin 및 colistin에 대하여는 저항성을 나타내었다.

고 찰

본 증례에서 보고된 바다사자는 구토, 혈액성 설사와 침울, 식욕부진 등의 임상증상을 보였으며, 부검결과 육안적으로 소장 점막상피 세포의 변성괴사 및 혈액성 장내용물 등이 관찰되었고, 소장으로부터 세균을 분리 동정한 결과 *Clostridium perfringens*가 분리되어 *Clostridium perfringens* 감염에 의한 괴사성 장염이 발생된것으로 판정하였다.

*Clostridium perfringens*는 혐기성의 그람양성균이며, 5가지의 다른 독소형이 있는것으로 알려지고 있다. *C. perfringens* type A의 자연 저장소는 토양과 사람 그리고 동물의 장관이다¹. 그러나 클로스트리디움 감염은 사육되는 해산 포유동물들의 중요한 위험 요인이며, 클로스트리디움 감염에 대한 보고 사례에서, *Clostridium chauvoei*, *C. novyi*, *C. perfringens*가 다양한 조직으로부터 분리 되었다¹.

*Clostridial bacteria*는 어린 기각류와 Killer whale (*Orcinus orca*)에서는 장독혈증을, 바다표범(seal)에서는 복막염을 그리고 돌고래(dolphin)에서는 iliopsoas muscle의 가스 생성성, 근염의 원인이 된다고 보고되고 있다². 부적절한 대용유를 섭취한 기각류의 새끼에게서 *Clostridium perfringens*에 의해 발생된 장독혈증의 경우, 간대성 경련에 의한 급성 운동실조증상이 나타나며 만성인 경우에는 48시간내에 허약과 탈진 증상이 점진적으로 나타난다⁶.

기타 야생동물의 *Clostridium perfringens* 발생 사례

로는 곰과 동물중 Grizzly bear, Black bear, Kodiak bear에서 발생되어 보고된 사례가 있으며, 패혈증에서 장독혈증까지 다양한 임상증상이 관찰되었다. 호랑이에서는 다량의 생말고기를 섭취한 직후에 임상증상이 발병된 사례가 있다. 부검 소견으로 점액과 혈액이 축적되어 있으며, 점막의 충혈을 특징으로 한 병소가 장에 국한되어 관찰되었다⁶.

*Clostridium perfringens*는 사람에게 가스 괴저를 유발하고 동물에게도 유사한 병소를 만든다⁷. 범고래(killer whale)와 바다사자에서 근육 주사부위에 *Clostridial myositis*⁸이 발생되어 폐사된 사례가 있다². 해산 포유동물들은 순환되는 glucose의 수치가 높고 무호흡시에 협기성 대사(anaerobic metabolism)를 하기 때문에, 그들의 근육은 이런 형태의 감염에 대한 이상적인 조직 조건을 제공하게 된다². 협기적인 근육 감염은 토양이나 동물 자신의 변내 세균총에서 유래된 외인성 미생물이 근육내 주입되어 발생된다. 바다사자의 피모와 피부는 분변이나 사료 및 기타 먼지등에 의해서 상시 오염되어 있기 때문에 주사부위를 소독제로 멸균시킨후 주사 하여도 흔히 농양이 발생되는 것을 볼 수 있다.

*Clostridial disease*는 대부분 빨리 폐사되고, 일반적으로 6개월~2세된 소에서 발생되기 때문에 소 양가들에게는 중요한 문제거리가 되어 오고 있다. 대부분의 축주들은 예방접종이 이질병에 대한 가장 값싼 예방 방법이라고 생각하고 있으며⁹, 일부에서는 백신접종을 일상적인 관리 차원으로 해줄것을 권장 하지만, 해산 포유동물에 있어서 이질병에 대한 예방접종은 일반적으로 이루어지고 있지는 않다¹⁰. 예방접종에 의해서 발생되는 부작용이 사육자들이 예방접종을 꺼리게 하는 한 이유가 되고 있다¹¹.

당원 바다사자의 경우에는 부검시 주사부위인 둔근(glyteal muscles)의 종장이나 괴사 소견 등 세균감염에 따른 국소 증상은 관찰되지 않았으나, 체중조절로 인한 체력저하 및 협소한 pool내에서 배설된 분변내 *Clostridium perfringens*에 오염된 물을 섭취한 후 괴사성 장염이 유발되어 혈액성 설사 및 식욕부진에 의한 탈수, 복강내 다량의 삼출물에 기인된 저혈량성 쇼크에 의해서 폐사된 것으로 추정되었다.

결 론

애버랜드 동물원에서 사육중이던 4세된 수컷의 켈리포니아 바다사자가 구토, 혈액성 설사, 식욕부진

및 침울 증상을 보이 후 4일만에 폐사되었다. 부검 결과 복강내 혈액성 복수, 소장내 혈액성 내용물의 충만 및 점막 괴사 소견이 관찰되었으며, Gram 염색을 실시한 결과 위장관의 점막 표면에서 호산성의 긴균이 다수관찰되었고, 소장에서 세균을 분리 동정한 결과 *Clostridium perfringens*가 원인균으로 판명되었다. 직접적인 사인은 괴사성 장염의 임상 경과에 따른 저혈량성 쇼크로 추정되었다.

참 고 문 헌

1. Acha PN, Szyfres B. Zoonoses and communicable disease common to man and animals, 2nd ed. Washington DC:Pan american health
2. Greenwood AG, Taylor DC. Clostridial myositis in marine mammals. Veterinary Record. 1978; 103: 54-55.
3. Bauer AW, Kirby WMJC. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Path. 1996: 36,493.
4. Hogh P. Necrotizing infectious enteritis in piglet, caused by *Clostridium perfringens* type C. I. Biochemical and toxicogenic properties of the *Clostridium*. Acta. Vet Scand. 1967: 8, 26-38.
5. Hogh P. Necrotizing infedtious enteritis in piddlets, caused by *Clostridium perfringens* type C. IV. Bacteriological diagnosis. Acta. Vet Scand. 1969: 10, 84-100.
6. Wallach JD, Boever WJ. Disease of exotic animals: Philadelphia:WB Saunders Co. 1983: 366,556,750.
7. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. Pathology of Domestic Animals, 3rd ed. 1985: 183.
8. Nowak RM, Paradiso JL. Walker's Mammals of the World, 4th ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press. 1983: 1101-1102.
9. Troxel TR, Burke GL, Wallace WT, Keaton LW, McPeaks SR, Smith D, Nicholson I,. Clostridial vaccination efficacy on stimulating and maintaining an Immune response in Beef Cows and Calves: J. Anim. Sci. 1997; 75: 19-25.
10. Thornton UM, Nolan S, Gulland R. Bacterial Isolates From California Sea Lions(*Zalophus Californianus*), Harbor Seals(*Phoca Vitulina*), And Northern Elephant Seals(*Mirounga Angustirostris*) Admitted To Rehabilitation Center Along The Central California Coast 1994-1995: Journal of Zoo and Wildlife Medicine 1998; 29(2):171-176.
11. Medway W. Some bacterial and mycotic disease of marine mammals: JAVMA. 1980; 177: 831-833.