클로스트리디움 퍼프린젠스의 유형별 독소 유전자와 위해성 평가 기준–독소 유전자 *cpe*의 검출 중심으로

Toxin Gene Profiles and Risk Assessment Criteria by Toxinotype in *Clostridium perfringens*: Focusing on the Detection of the *cpe* Gene

최규희[1], 오윤[2], 김선애[3], 이민석[4], 조태진[1,2*]

Kyu Hee Choi[1], Yun O[2], Sun Ae Kim[3], Min Suk Rhee[4], Tae Jin Cho[1,2*]

[1]고려대학교 식품생명공학과, [2]고려대학교 식품규제과학과, [3]이화여자대학교 식품생명공학과, [4]고려대학교 생명공학과

[1]Department of Food and Biotechnology, Korea University, Sejong, Korea, [2]Department of Food Regulatory Science, Korea University, Sejong, Korea, [3]Department of Food Science and Biotechnology, Ewha Womans University, Seoul, Korea, [4]Department of Biotechnology, Korea University, Seoul, Korea

조 태 진

Correspondence to

Tae Jin Cho
Department of Food and Biotechnology, Department of Food Regulatory Science, Korea University, Sejong, Korea
Tel.: +82-44-860-1433,
Fax: +82-44-860-1586
E-mail: microcho@korea.ac.kr

서론

클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)는 아포 형성 능력, 다양한 독성 인자 보유를 특징으로 하는 주요 식품 매개 식중독균 중 하나이다[1]. 미국 보건복지부 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 보고에 따르면 클로스트리디움 퍼프린젠스에 의해 연간 약 100만건의 식중독 사례가 발생하는 것으로 추정되며, 국내에서는 2020–2024년까지 71건의 클로스트리디움 퍼프린젠스 식중독이 발생되는 등 식품을 매개로 한 클로스트리디움 퍼프린젠스 식중독은 전 세계적으로 빈번하게 발생하고 있다(표 1.)[2]. 클로스트리디움 퍼프린젠스는 빠른 성장 속도와 높은 내열성 아포 형성을 통해 가열 조리 후 적절히 냉각되지 않은 식품에서 증식하기 쉬운 특성을 보유하고 있다[3]. 온혈 동물의 내장과 토양에서 흔히 발견되기 때문에 모든 식품의 잠재적 오염원이 될 가능성이 높으며, 장독소를 생성함으로써 사람 및 동물 숙주에서 식중독을 포함한 위장관 질환을 유발할 수 있다[4]. 특히 대용량 조리식품에서 증식하기 용이한 균의 특성으로, 한 건의 식중독 발생 사례에도 다수의 식중독 환자가 발생할 수 있어 각별한 주의가 요구된다.

클로스트리디움 퍼프린젠스 식중독은 주로 엔테로톡신 (enterotoxin, CPE) 독소 단백질의 생성 및 작용으로 유발된다[5]. 이 독소는 장 상피세포의 세포막에 결합하여 세포 내 이온 균형을 파괴하고, 세포 사멸을 유도함으로써 복통, 설사, 구토 등의 급성 위장관 증상을 일으킨다[6]. 이러한 이유로 엔테로톡신의 생성 가능성은 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 여부와 직결되기에, 해당 독소의 생성능을 판별하는 *cpe* 유전자의 보유 여부는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 식중독 유발 가능

성을 판단하는 국제적 기준 지표로 사용되고 있다[7].

그러나 일부 연구에서는 *cpe* 유전자를 보유하지 않은 클로스트리디움 퍼프린젠스(*cpe* 음성 균주)에 의한 식중독 사례도 보고된 바 있다. 이는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 확인 기준인 *cpe* 유전자의 존재가 절대적인 지표가 될 수 없다는 사실 및 한계점을 시사하며, 병원성 확인 지표로 *cpe*를 비롯한 추가적인 유전자 지표의 검토가 필요함을 제시한다[8].

전세계적으로 클로스트리디움 퍼프린젠스에 의한 지속적인 식중독 사례가 보고되고 있으며, 식중독을 예방·대처하기 위한 위해 가능성 평가의 중요성이 대두되고 있다[9]. 이에 따라 클로스트리디움 퍼프린젠스의 위해성 판단에 요구되는 독소 진단법은 *cpe*뿐 아니라 *cpa, cpb, cpb2, etx, iap, netB* 등 주요 독소 유전자를 동시에 탐지하는 다중 중합효소 연쇄반응 (Multiplex Polymerase Chain Reaction, Multiplex PCR)과 실시간 정량 중합효소 연쇄반응 [Quantitative Polymerase Chain Reaction, Real-time PCR(qPCR)], 그리고 α·β·ε·CPE 독소 및 효소등을 검출하는 효소결합 면역흡착검사 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 기반 분자생물학적 검사법이 꾸준히 개발 및 활용되어 왔다[10, 11]. 이는 *cpe* 음성 균주의 병원성 가능성이 제기되면서, 단일 유전자에 의존한 기존 진단의 한계를 보완하고자 다양한 병원성 유전자를 대상으로 한 검출 기술 개발로 이어졌음을 보여준다.

본 연구에서는 클로스트리디움 퍼프린젠스로 인한 지속적인 식중독의 예방·대처를 위해 국내외 연구 사례를 집대성하여 클로스트리디움 퍼프린젠스의 특이적 발병 사례, 위해평가 기준 및 분석기법을 파악하였다. 이를 통해 현재 기용중인 위해평가 기준과 분석기법 적용 가능한 범주에 대해 분석하고, 기존 클로스트리디움 퍼프린젠스 균의 병원성 위해평가 기준 및 시험법에 적용되지 않는 특이적 식중독 사례가 존재하지 않도록 위해성 평가 개선방안을 제시하고자 한다. 따라서 본 연구는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 주요 독소 유전자와 그 특성, 각 유전자에 대한 검출 기술 및 기존 위해성 평가 기준에 대한 적합성을 고찰함으로써 클로스트리디움 퍼프린젠스에 의한 식중독 발생 위험을 줄이는데 기여할 뿐만 아니라 체계적인 식중독균 관리방법 개선의 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

본론

1. 클로스트리디움 퍼프린젠스 유형별 생성 독소 및 관련 유전자

클로스트리디움 퍼프린젠스는 α-독소(CPA), β-독소(CPB), ε-독소(ETX), ι-독소(ITX) 등 다양한 주요 독소를 생성하는 것으로 알려져 있으며, 주요 독소 유전자의 보유 여부에 따라 A형부터 E형까지 5가지 독소형(toxinotype)으로 분류된다[12]. 각 독소형은 특정 숙주에서 발생하는 질환과 밀접한 관련성을 가지며, 독소의 작용 기전 및 조직 특이성에 따라 병리적 양상에 차이를 보인다. 이러한 분류 체계는 균주의 병원성 및 연관 질병의 이해에 중요한 기준으로 활용된다. 한편, 최근의 유전체 분석 기반 연구에서는 기존의 독소형 분류 체계를 보완할 수 있는 다양한 부가 독소 유전자 (*netB, cpb2, becA/B* 등)의 존재가 확인되고 있으며, 이에 따라 기존 A~E형 외에도 이러한 유전자를 기반으로 한 확장 독소형(신규 toxinotype) 분류 체계가 제안되고 있다[13, 14].

클로스트리디움 퍼프린젠스의 각 독소는 각각 상이한 유전자에 의해 생성되며, 독소별로 고유한 병리적 기전을 보유한다[12]. α-독소는 *plc* 유전자 발현에 의해 생성되며, phospholipase C 활성을 통해 세포막 인지질을 분해하여 조직 괴사와 용혈 반응, 가스괴저 등의 병변을 유도하는 대표적인 병원성 인자이다[12]. β-독소는 *cpb* 유전자 발현에 의해 생성되며, 주로 B형과 C형 균주에서 생산된다. 장 상피세포를 직접 파괴하여 출혈성 또는 괴사성 장염을 유발하며, 영양세포기 동안 발현된다[15]. ε-독소는 *etx* 유전자 발현에 의해 생성되며, 주로 D형 균주에서 생산된다. 혈관 내피세포의 투과성을 증가시켜

표 1. 클로스트리디움 퍼프린젠스의 대표적인 독소 유전자의 특징과 작용 기전

독소명	유전자	주요 생성 유형	작용 기전	관련 질환
α-toxin (Alpha)	plc	A, B, C, D, E형	인지질 분해 → 세포막 손상 및 괴사 유도	가스괴저, 식중독
β-toxin (Beta)	cpb	B, C형	아포 형성 → 장 상피세포 괴사	괴사성 장염, 출혈성 장염
ε-toxin (Epsilon)	etx	D형 (일부 B형 포함)	혈관 투과성 증가 → 중추신경계 침투 가능	장독혈증, 뇌증
ι-toxin (Iota)	iap, ibp	E형	actin ADP-ribosylation → 세포골격 붕괴	송아지 · 강아지 장염
CPE (Enterotoxin)	cpe	일부 A형	tight junction 파괴 → 수분 및 전해질 흡수 저해	식중독
β2-toxin (Beta2)	cpb2	일부 A형 (주로 돼지 유래)	양이온 선택성 채널 형성 → 장 점막 손상	가축성 설사, 비전형 장염

중추신경계로 침투할 수 있으며, 세포 성장 후반기 또는 사멸기에 발현된다[12]. ι-독소는 *iap* 및 *ibp* 유전자 발현에 의해 생성되며, E형 균주에서 생산된다. 세포골격을 붕괴시키는 이중 독소(binary toxin)로 작용하며, 주로 영양세포기에 발현된다[16]. 엔테로톡신은 *cpe* 유전자에 의해 암호화되며, 일부A형 균주에서만 관찰된다. 아포 형성기에만 발현되는 특성을 보유하며, tight junction을 파괴하여 장내 수분 및 전해질 흡수에 심각한 장애를 초래하는 식중독의 주요 독소이다[17]. 또한, 최근 보고된 β2-독소(*cpb2*)는 일부 A형, C형 등 균주에서만 발견되며, 특히 돼지 유래 균주에서의 출현율이 높다. 이는 장점막 손상 및 비전형 장염 발생과 관련되어 있다[12]. 표 1은 클로스트리디움 퍼프린젠스에서 보고되는 대표적인 독소 유전자(A형~E형)의 특징과 작용 기전을 종합적으로 정리한 것이다.

이처럼 각 독소는 독소의 기능에 따라 세포막 파괴, 세포 골격 변형, 혈관 투과성 증가, 흡수 장애 유도 등 다양한 병리적 효과를 일으키며, 이러한 독소 유전자들의 기능적 차이는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 감염 양상, 숙주 특이성, 병원성 정도를 결정짓는 중요한 요소로 각 독소형에 따른 질환 발생 기전을 이해하는 데 중요한 단서를 제공한다[18].

2. 독소 유전자 분석 기술 개발 및 활용

병원성 미생물의 위해성 평가 및 식중독의 원인 규명을 위해 독소 유전자 기반의 분석은 핵심적인 도구로 활용되고 있으며, 현재까지 다양한 분자 진단 기법이 개발되어 적용되고 있다. 대표적인 방법으로는 다중 중합효소 연쇄반응, 실시간 정량 중합효소 연쇄반응, 효소결합 면역흡착검사, 그리고 전장 유전체 염기서열 분석(Whole Genome Sequencing, WGS) 등이 있다.

먼저 다중 중합효소 연쇄반응은 시료 내에서 여러 유전자의 존재 여부를 동시에 판별할 수 있는 분자생물학적 기법으로, 클로스트리디움 퍼프린젠스의 대표 독소 유전자인 *cpa, cpb, etx, iap, cpe* 등을 동시에 검출할 수 있어 toxinotyping 및 독소형 분류 등 효율적인 분석을 진행할 수 있다[19, 20]. 이는 빠르고 다중 분석에 효율적이지만 정량적 한계를 지니며, 균주 간 변이를 고려한 분석에는 적용이 불가하다[21].

실시간 정량 중합효소 연쇄반응은 DNA 증폭 과정을 실시간으로 관찰하여 특정 유전자의 상대적 혹은 절대적인 양을 측정하는 중합효소 연쇄 반응 기술이다. 극미량의 유전물질도 민감하게 검출할 수 있다는 특징으로 인하여 특정 독소 유전자의 정량적 분석 방법으로 위해성 평가에서 자주 사용된다[22]. 이는 높은 민감도를 보이지만, 단백질 수준의 발현 여부는 확인이 불가하다는 한계

표 2. 클로스트리디움 퍼프린젠스 병원성 평가에 주로 활용되는 분자생물학적 분석기법

분석 기법	주요 목적	장점	한계점
다중 중합효소 연쇄반응 (Multiplex PCR)	여러 독소 유전자의 동시 검출	짧은 시간 소요, 다중 분석에 효율적	정량적 분석 불가, 균주 간 변이 고려 불가
실시간 정량 중합효소 연쇄반응 (Real-time qPCR)	특정 유전자의 정량 분석	높은 민감도, 극미량 검출 가능	저해물질 영향 가능성, 단백질 발현 여부 미확인
효소결합 면역흡착검사 (ELISA)	독소 단백질 생성 여부 확인	단백질 수준에서 직접 확인 가능	낮은 민감도, 시료 간 교차반응 우려 존재
전장 유전체 염기서열 분석 (WGS)	병원성 유전자 존재 및 발현 경향 분석	포괄적인 유전자 정보 제공	고비용, 데이터 해석 복잡성

점을 지닌다[23].

효소결합 면역흡착검사는 항원과 항체의 특이적 결합을 이용하여, 독소와 같이 특정 단백질의 존재 및 농도를 정량적으로 측정할 수 있는 면역학적 기법이다. 해당 분석법을 통해, 실제 독소 단백질이 생성되었는지 여부를 확인할 수 있다[24, 25]. 이는 독소 생성 여부를 직접 확인할 수 있다는 장점을 가지고 있으나, 시료 간 교차반응 위험성이 존재하며, 상대적으로 낮은 민감도를 보유한다는 한계점이 존재한다[26].

한편, 전장 유전체 염기서열 분석은 특정 생물체의 염기서열 정보를 모두 확보하며 단일 염기수준의 변이 탐지가 가능한 고해상도 분석 기법으로, 생명체의 유전정보를 정밀하고 포괄적으로 파악할 수 있는 방법이기에 특정 유전자 존재 여부 확인 및 비교 유전체 분석, 병원체의 감염원 추적 등의 목적으로 사용이 가능하다[27, 28]. 이는 다른 분석법 대비 가장 포괄적인 정보를 제공하나, 높은 비용, 복잡한 데이터 해석이 필요하기에 제한적으로 사용되고 있다[29].

이러한 기술적 한계에 대응하여 최근에는 고감도 · 고속화된 분석 기법이 개발 및 도입되고 있다. 등온증폭(Isothermal amplification) 기반의 재조합효소 중합반응법(Recombinase polymerase amplification, RPA), CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats - CRISPR-associated proteins) 시스템을 활용한 신속 진단기술, 그리고 다중 실시간 중합효소 연쇄반응(multiplex real-time PCR)의 민감도 향상 기법 등이 개발되면서, 현장 적용 가능성을 높이고 기존 기술의 정밀도와 재현성 한계를 보완하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다[30, 31].

최근 발표된 연구(Lahti et al., 2024)에서는 지속적 식중독 의심 사례의 원인균으로 분리된 클로스트리디움 퍼프린젠스 변이 균주들이 염색체에 *cpe* 유전자를 보유하고 있음에도 불구하고, 기존 PCR 기반 *cpe* 검출법에서는 "음성(non-typable)"으로 판별되었음을 보고하였다[32]. 해당 균주는 기존 *cpe* 유전자 주변에 삽입된 반복적 IS 요소(IS1470)로 인해 primer 결합 부위가 왜곡되었고, 이로 인해 통상적인 유전자 검출이 불가능했던 것으로 확인되었다. 해당 사례는 표준화된 분자진단법의 한계가 실제 병원성 균주의 누락으로 이어질 수 있음을 실증한 사례로, 진단 정확도의 구조적 취약성을 드러낸다. 이는 기존에 표준 중합효소 연쇄반응을 이용하여 식중독 의심 균주를 분리 · 분석한 여러 연구 사례 들에서 *cpe* 유전자의 존재를 확인 불가함으로 인해 비 병원성이라 판별된 균주들이, 실제로는 다른 부위에 *cpe* 유전자를 보유하는 등의 이유로 인하여 병원성 균주였을 가능성을 시사한다[33, 34]. 따라서 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 판단에 있어 단일 유전자 기반 검출에 의존하는 현재의 분석 체계는, 유전자 구조의 다양성과 변이에 취약하다는 점에서 전장 유전체 기반 분석(WGS)과의 병행 등의 기술적 고도화가 요구된다. 유전자 분석 방법의 고도화 및 기존 진단법의 융합적 활용으로 인하여 유전자의 존재 여부뿐만 아니라 발현 수준, 실제 독소 단백질의 생성 가능 여부 등 종합적인 분석

표 3. 공개 염기서열 데이터 베이스 GenBank 데이터를 통해 확인된 독소 유전자의 실제 분포 (Wu et al. 2024)

독소 유전자	독소명	검출률 (%)	검출 수 / 전체
plc	α-toxin	100.00	763/763
cpe	Enterotoxin (CPE)	16.64	127/763
cpb2	β2-toxin	8.52	65/763
etx	ε-toxin	7.99	61/763
cpb	β-toxin	3.67	28/763
iap/ibp	ι-toxin	1.05	8/763
becA/B	Binary enterotoxin	1.18	9/763
netB	Necrotic enteritis B-like toxin	5.77	44/763

을 통해 클로스트리디움 퍼프린젠스와 같은 병원성 미생물의 위해성 평가 및 식중독 원인 규명에 있어 보다 신속하고 정확한 진단 체계가 구축될 것으로 기대된다.

3. 환경에서 검출한 클로스트리디움 퍼프린젠스 Toxinotyping 연구사례

Wu et al. (2024)의 연구에서 NCBI에서 운영하는 공개 염기서열 데이터 베이스 Genbank를 통해 총 763개의 클로스트리디움 퍼프린젠스의 유전체를 분석하여, 표 3과 같이 주요 독소 유전자들의 보유 비율을 보고하였다[35]. 표 1과 같이, 기존의 독소형 분류 기준(A~E형) 외에도 특정 독소 유전자의 실제 분포 및 다양성을 반영함을 통해 정밀한 병원성 예측 및 감시 체계 수립의 필요성을 시사한다. 특히 *plc* 유전자는 전 균주에서 검출됨으로써 기본 병원성

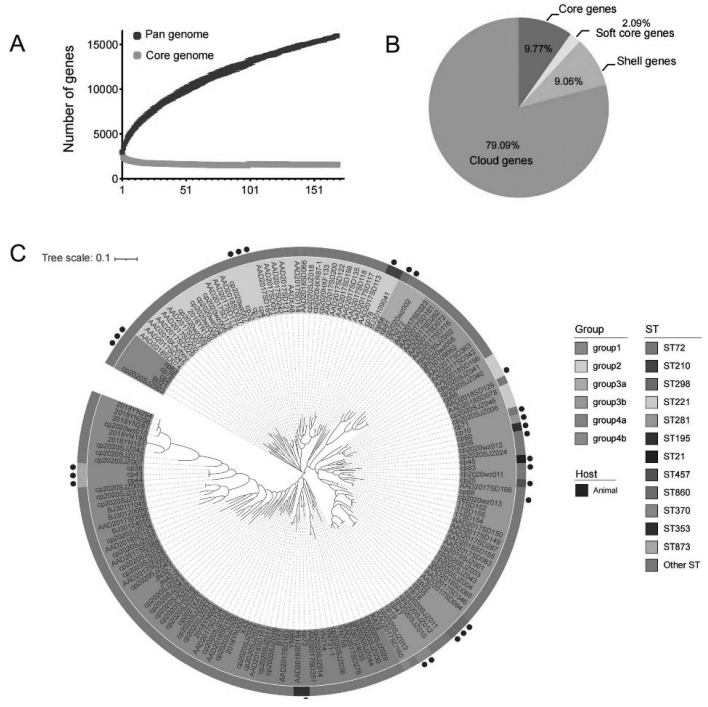

그림 1. 총 유전자 집합 (Pan-genome) 분석 (Zhu et al., 2025)

표 4. 인간 분변과 물에서 수집된372개 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주의 toxinotype 분류 (Camargo et al., 2022)

Toxinotype	전체(n=372)	인간 유래	식품 유래	가금류 유래
A	198 (53%)	60%	32%	72%
F	120 (32%)	32%	67%	–
G	24 (7%)	소수	1%	26%
기타(E, C, D 등)	30 (8%)	소수	–	2%

마커로 간주될 수 있으며 *cpb, etx, cpd2* 등의 유전자는 일부 균주에서만 관찰되어 추가적인 병원성 부여 요인으로 작용할 가능성이 있다. 또한, *cpb2* 유전자의 경우, 전체 균주의 8.5%에서 검출되었으며, 이 중 상당수는 돼지 유래 균주에서 기인한 것으로 보고되었다. 이는 돼지 유래 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주 62개 중 25개(38.5%)에서 *cpb2* 유전자가 검출되어, 숙주 특이적 유전자 선택압이 존재할 가능성을 뒷받침한다.

El-Moez et al., (2014) 의 연구에 따르면 α-독소 유전자가 87.5%로 확인되었고, Camargo et al., (2022)의 연구에 따르면 표 4와 같이 인간균주, 동물균주에서 A형 균주가, 식품균주에서는 F형 균주 다음으로 A형 균주의 비율이 높은 것이 확인된다[36, 37]. A형 균주가 전체 클로스트리디움 퍼프린젠스 내에서 우세하게 분포한다는 점은 다양한 연구에서 일관되게 보고되고 있으며, 다른 주요 독소 유전자 및 소수의 부가 독소 유전자가 일부 균주에서만 관찰되는 점은 클로스트리디움 퍼프린젠스의 유전적 다양성을 보여주는 지표라 할 수 있다. Zhu et al., 2025 에서 클로스트리디움 퍼프린젠스 168종을 대상으로 총 유전자 집합 분석결과 및 항생제 내성을 확인한 표 5-6과 그림 1에서 확인할 수 있듯, 이러한 유전적 다양성은 단순한 독소형 구분을 넘어 병원성 차이, 숙주 특이성, 질병 양상 및

표 5. 다양한 대상군에서 분류된 클로스트리디움 퍼프린젠스 27개 분리균주의 유전체 분석 (Zhu et al., 2025)

분석 항목	결과 요약
총 분석 균주 수	168주 (27주 동물유래 + 141주 인간유래)
동물 유래 균주 수	27주
인간 유래 균주 수	141주
다제내성 (MDR) 비율	88.9% (24/27) – 동물 유래 기준
유전자형 분석(MLST)결과	13개 기존 유전자 유형 + 10개 신규 유전자 유형
병원성 증강 관련 잠재적 바이러스(Prophage) 보유 비율	64.3% (108/168)
총 유전자 집합 (Pan-genome) 특징	개방형 범 유전자 (Open pan-genome) (그 중 공통으로 존재하는 핵심 유전자는 전체 대비 약 12.6% 해당)
공통적인 유전자 유형	ST221, ST72, ST370
주요 독소 유전자 검출	plc 등 모든 균주에서 공통 검출

표 6. 클로스트리디움 퍼프린젠스의 항생제 내성(AMR) 분석

항생제/계열	동물 유래 균주 (n=27)	인간 유래 균주 (n=141)	비고
테트라사이클린	100% (27/27)	비교 미제시 (공공 데이터 기반)	tetA(P), tetB(P) 유전자 검출
바시트라신	77.8% (21/27)	비교 미제시	bcrA 등 내성 유전자 가능성
링코사마이드계 (클린다마이신 등)	59.3% (16/27)	비교 미제시	lnu(B), ermQ 등
MDR (다제내성)	88.9% (24/27)	명시되지 않음	≥3종 내성 유전자 보유 기준

전파 경로의 이질성에 기여할 수 있는 중요한 생물학적 근거로 작용한다[38]. 특히, 일부 균주는 기존의 독소형 분류에 포함되지 않음에도 *netB*, *becA/B*와 같은 추가 병원성 유전자를 보유하고 있어, 질병의 진단 및 관리에 예기치 않은 변수로 작용할 수도 있다[13, 36].

최근에는 시험법 고도화를 통해 독소 유전자 검출 정확도와 민감도를 향상시키고 있으며, 이를 기반으로 한 신규 데이터는 균주의 병원성 잠재력 평가에 핵심적 도구로 활용되고 있다. 이와 같은 기술 발전은 향후 클로스트리디움 퍼프린젠스의 감염 경로 추적, 백신 타겟 설계 등에서 보다 정밀한 접근을 가능하게 하며, 질병 감시 및 예방 전략의 고도화를 위한 기반이 될 수 있다.

4. 식중독 검체에서 분리된 클로스트리디움 퍼프린젠스 유전자cpe 및 non-cpe

4.1 *cpe*(+) 클로스트리디움 퍼프린젠스

클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 평가는 주로 엔테로톡신 생성 가능성에 기반하여 이루어지며, 이에 따라 엔테로톡신 생성의 주요 유전적 기반인*cpe* 유전자의 존재 여부는 병원성 확인의 핵심 지표로 활용된다. 국제식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)와 세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 클로스트리디움 퍼프린젠스에 의한 식중독 사례에서 *cpe* 유전자가 주요 병인 인자로 작용함을 보고하였으며, 미국 식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)과 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA) 또한 *cpe* 유전자를 보유한 균주만이 식중독 유발 가능성이 있다고 판단하여, 해당 유전자 검출을 위해성 평가의 선별 기준으로 제시하고 있다[39-41].

국내에서도 식육 제품 유래 분리주를 대상으로 *cpe* 유전자 유무에 따라 병원성 보유 여부를 분류하는 등, 본 유전자는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 위해성 평가에 있어 과학적 신뢰성이 확보된 분자지표로 간주된다. 이러한 평가 기준은 최근 국내외 식중독 사례에서 *cpe* 유전자의 검출이 병원균 규명의 결정적 단서로 작용한 사례들을 통해 더욱 명확히 입증되고 있다[42-44].

중국질병예방통제센터(Chinese Center for Disease Control and Prevention, China CDC)는 2024년 베이징에서 발생한 노인 요양시설 식중독 사건을 조사한 결과, 식사 후 설사 증상을 보인 23명의 분변 및 관련 식품('중국식 햄버거') 시료에서 동일한 *cpe* 양성 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주가 분리되었으며, MLST 기반 유전형 분석 결과 환자 및 식품 간 분리주는 유전적으로 완전히 일치하는 것으로 확인되었다[38].

미국 보건복지부 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)는 클로스트리디움 퍼프린젠스에 의한 연간 식중독 발생 추정 건수를 약 100만 건으로 보고하고 있으며, 이 중 상당수가 *cpe* 양성 균주에 기인하는 것으로 평가하고 있다[41]. 2023년 보고된 다수의 급식 관련 집단사건에서도 *cpe* 유전자를 보유한 균주가 환자와 식품 시료에서 동시에 검출되어 병원성 원인균으로 특정된 바 있다.

이러한 최근 사례들은 *cpe* 유전자의 존재를 진단마커로 삼아 병원성 여부를 판단함과 동시에, 병원균의 위해성 판단 및 식중독의 원인 규명에 있어 핵심적인 유전적 지표로 기능하고 있음을 시사한다. 특히 환자 · 식품 간 일치 균주 검출, type F 유병률 조사, 분자 계통학적 일치성 분석 등의 근거는 식품매개 감염 사고에서 *cpe*(+) 클로스트리디움 퍼프린젠스가 주요 원인균으로 작용하고 있음을 보여준다[45].

4.2 non-*cpe* 클로스트리디움 퍼프린젠스

엔테로톡신 유전자 (*cpe*)의 존재 여부가 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 평가에 있어 핵심 분자지표로 널리 활용되고 있으나, 일부 연구에서는 *cpe*를 보유하지 않은 (non-*cpe*) 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주에 의한 식중독 사례가 확인되며, *cpe* 유전자의 보유 여부가 병원성 판단의 절대적인 기준이 될 수는 없음을 시사하고 있다.

최근 연구에서 제시한 non-*cpe* 클로스트리디움 퍼프린젠스로 인한 식중독 사례들을 살펴보면, 프랑스에서 수행된 대규모 유전체 및 toxinotyping 연구에서 클로스트리디움 퍼프린젠스에 의한 42건의 식중독 발생 사례 중 23건은 *cpe*(+) 균주와 관련 있었으나, 13건에서는 *cpe* 유전자가 검출되지 않았으며, 나머지 6건은 *cpe* 양성 및 음성 균주가 함께 검출되었다. 영국에서도 증상이 발현된 식중독 환자의 검체에서 non-cpe 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주가 유일한 식중독균임을 확인한 사례가 존재한다[8, 46].

Non-*cpe* 클로스트리디움 퍼프린젠스 식중독 사례에서 장독소 유발 기전을 규명한 사례도 존재한다. 일본에서 집단 식중독 환자의 검체에서 확보한 클로스트리디움 퍼프린젠스의 균주가 *cpe*유전자를 보유하고 있지 않다는 사실을 확인하였으며, 동물모델 및 분자 분석을 통하여 해당 균주가 BEC (binary enterotoxin of *C. perfringens*)라는 새로운 독소를 생성한다는 사실을 규명하였다[47].

Non-*cpe* 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성이 확인된 사례가 확인되면서, *cpe*유전자의 존재 유무로 판별했던 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 판별 기준의 한계점이 드러나고 있다. 이에 따라 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 평가에는 단일 유전자 검출에 의존하기보다는, 유전체 수준에서의 독소 유전자 구성, 발현 여부, 실제 단백질 생성 및 병원성 발현의 메커니즘 전반을 고려하는 다층적이고 통합적인 분석 체계의 도입이 필요하다. 특히 최근 보고된 BEC와 같은 신규 독소 유전자의 발견은 기존 진단법에서 검출되지 않는 병원성 균주의 존재 가능성을 시사하며, 분자진단 기반의 식중독 감시 체계가 최신 독소 정보 및 유전자 변이 양상에 따라 지속적으로 갱신될 필요성을 강조한다[8].

나아가, 이러한 분석 전략은 향후 비정형적인 발병 사례의 병인 규명, 정확한 원인균 추적, 그리고 공중보건 차원의 위해도 예측 정확도 제고에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

국문요약

클로스트리디움 퍼프린젠스는 생성 독소의 조합에 따라 A형부터 G형까지 유형별로 구분되며, 그중 엔테로톡신 유전자(cpe)는 병원성 평가에 있어 주요한 분자지표로 활용되어 왔다. 그러나 일부 연구들에서는 cpe를 보유하지 않는(non-cpe) 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주에 의한 식중독 사례가 다수 보고되고 있으며, 이에 따라 cpe 유전자 존재 유무에만 의존한 병원성 판별 기준의 한계가 지적되고 있다. 일부 non-cpe 균주에서는 enterotoxin 유사 독소(BEC 등)를 생성하거나, 독소 유전자 발현 조절 기전이 기존 유형과 상이한 것으로 나타났다. 또한, 유전체 기반 분석을 통해 염색체에 위치한 변이형 cpe 유전자나 추가적인 병원성 유전자의 존재도 확인되고 있어, 퍼프린젠스의 병원성 이해는 보다 복합적인 관점에서 접근할 필요가 있다. 이에 해당 연구에서는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 유형별 생성 독소 및 관련 유전자 특성을 정리하고, 독소 유전자 분석 기술의 발전 과정과 활용 방식, 그리고 toxinotyping 기반 국내외 연구 사례를 종합적으로 고찰하였다. 특히 cpe 양성 및 cpe 음성(non-cpe) 클로스트리디움 퍼프린젠스 균주에 의한 식중독 사례 비교 분석을 통해, 퍼프린젠스의 위해성 평가에 있어 정량적 독소 발현, 유전자 위치(염색체 및 플라스미드 내에 위치), 병원성 메커니즘의 다양성 등 다층적 분석 지표의 필요성을 강조하였다. 본 연구는 클로스트리디움 퍼프린젠스의 병원성 평가 기준에 대한 최신 이해를 제공하고, 향후 분자진단 기반의 식중독 감시 체계 고도화 및 병원체 위험군 재분류를 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 2025년도 식품의약품안전처의 연구개발비(24192미생식003)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Kyu Hee Choi 0009-0000-5811-0657

Yun O 0000-0002-9371-2247

Sun Ae Kim 0000-0003-2463-3198

Min Suk Rhee 0000-0003-0412-1910

Tae Jin Cho 0000-0002-6563-2514

참고 문헌

1. Narayan KG, Sinha DK, Singh DK. Clostridium perfringens. Veterinary Public Health & Epidemiology: Veterinary Public Health-Epidemiology-Zoonosis-One Health: Springer; 2023. p. 317-22.

2. Kharel K, Bookman K, Schneider RG, Kurdmongkoltham P, Bertoldi B, Schneider KR. Preventing Foodborne Illness Associated with Clostridium perfringens: FSHN035/FS101, rev. 11/2024. EDIS. 2024;2024(6).

3. Shrestha A, Mehdizadeh Gohari I, Li J, Navarro M, Uzal FA, McClane BA. The biology and pathogenicity of Clostridium perfringens type F: a common human enteropathogen with a new (ish) name. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2024;88(3):e00140-23.

4. García S, Heredia N. Clostridium perfringens: A dynamic foodborne pathogen. Food and Bioprocess Technology. 2011;4:624-30.

5. Navarro MA, McClane BA, Uzal FA. Mechanisms of action and cell death associated with Clostridium perfringens toxins. Toxins. 2018;10(5):212.

6. Caserta JA, Robertson SL, Saputo J, Shrestha A, McClane BA, Uzal FA. Development and application of a mouse intestinal loop model to study the in vivo action of Clostridium perfringens enterotoxin. Infection and immunity. 2011;79(8):3020-7.

7. Kiu R, Caim S, Painset A, Pickard D, Swift C, Dougan G. Phylogenomic analysis of gastroenteritis-associated Clostridium perfringens in England and Wales over a 7-year period indicates distribution of clonal toxigenic strains in multiple outbreaks and extensive involvement of enterotoxin-encoding (CPE) plasmids. Microb. Genom. 2019; 5 (10): e000297.

8. Mahamat Abdelrahim A, Radomski N, Delannoy S, Djellal S, Le Négrate M, Hadjab K, et al. Large-scale genomic analyses and toxinotyping of Clostridium perfringens implicated in foodborne outbreaks in France. Frontiers in Microbiology. 2019;10:777.

9. Hailegebreal G. A review on Clostridium perfringens food poisoning. Global Research Journal of Public Health and Epidemiology. 2017;4(3):104-9.

10. Jenko KL, Zhang Y, Kostenko Y, Fan Y, Garcia-Rodriguez C, Lou J, et al. Development of an ELISA microarray assay for the sensitive and simultaneous detection of ten biodefense toxins. Analyst. 2014;139(20):5093-102.

11. Zhao Y, FU W, Chen M, Huang Q, Xia H. Identification of Clostridium perfringens Causing Human Disease by Multiplex PCR. Chinese Journal of Nosocomiology. 2005.

12. Uzal F, Vidal J, McClane B, Gurjar A. Clostridium perfringens toxins involved in mammalian veterinary diseases. The open toxinology journal. 2010;2:24.

13. Schulte-Hostedde AI, Mazal Z, Jardine CM, Gagnon J. Enhanced access to anthropogenic food waste is related to hyperglycemia in raccoons (Procyon lotor). Conservation physiology. 2018;6(1):coy026.

14. Forti K, Ferroni L, Pellegrini M, Cruciani D, De Giuseppe A, Crotti S, et al. Molecular characterization of Clostridium perfringens strains isolated in Italy. Toxins. 2020;12(10):650.

15. Al-Khaldi S, Myers K, Rasooly A, Chizhikov V. Genotyping of Clostridium perfringens toxins using multiple oligonucleotide microarray hybridization. Molecular and cellular probes. 2004;18(6):359-67.

16. Tsiouris V, Georgopoulou I, Petridou E. Update on the toxins of Clostridium perfringens and their actions. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society. 2010;61(3):241-52.

17. Labbé R, Grant K. Clostridium perfringens in food service. Rapid Detection, Characterization, and Enumeration of Foodborne Pathogens. 2011:381-91.

18. Asadollahi P, Kalani BS. Novel toxin-based mRNA vaccine against Clostridium perfringens using in silico approaches. Toxicon. 2024;238:107584.

19. Heikinheimo A, Korkeala H. Multiplex PCR assay for

toxinotyping Clostridium perfringens isolates obtained from Finnish broiler chickens. Letters in applied microbiology. 2005;40(6):407-11.

20. Baums CG, Schotte U, Amtsberg G, Goethe R. Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of Clostridium perfringens isolates. Veterinary microbiology. 2004;100(1-2):11-6.

21. Feliu-Paradeda L, Puig S, Bañeras L. Design and validation of a multiplex PCR method for the simultaneous quantification of Clostridium acetobutylicum, Clostridium carboxidivorans and Clostridium cellulovorans. Scientific Reports. 2023;13(1):20073.

22. Wu S-B, Rodgers N, Choct M. Real-time PCR assay for Clostridium perfringens in broiler chickens in a challenge model of necrotic enteritis. Applied and environmental microbiology. 2011;77(3):1135-9.

23. Franks A, Airoldi E, Slavov N. Post-transcriptional regulation across human tissues. PLoS computational biology. 2017;13(5):e1005535.

24. Naylor R, Martin P, Sharpe R. Detection of Clostridium perfringens epsilon toxin by ELISA. Research in veterinary science. 1987;42(2):255-6.

25. Arola HO, Tullila A, Nathanail AV, Nevanen TK. A simple and specific noncompetitive ELISA method for HT-2 toxin detection. Toxins. 2017;9(4):145.

26. Butler JE. Enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of immunoassay. 2000;21(2-3):165-209.

27. Dong K, Song D, Li S, Wang X, Dai L, Pei X, et al. Significance of Whole-Genome Sequencing for the Traceability of Foodborne Pathogens: During the Processing of Meat and Dairy Products. Foods. 2025;14(8):1410.

28. Bogaerts B, Winand R, Van Braekel J, Hoffman S, Roosens NH, De Keersmaecker SC, et al. Evaluation of WGS performance for bacterial pathogen characterization with the Illumina technology optimized for time-critical situations. Microbial Genomics. 2021;7(11):000699.

29. Schwarze K, Buchanan J, Fermont JM, Dreau H, Tilley MW, Taylor JM, et al. The complete costs of genome sequencing: a microcosting study in cancer and rare diseases from a single center in the United Kingdom. Genetics in Medicine. 2020;22(1):85-94.

30. Zhang Y, Li S, Li R, Qiu X, Fan T, Wang B, et al. Advances in application of CRISPR-Cas13a system. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2024;14:1291557.

31. Tian R, Xie F, Liu Y, Liu G, Li Q, Wang J, et al. Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow biosensor for rapid visual detection of Clostridium perfringens in chicken meat and milk. Frontiers in Veterinary Science. 2024;11:1395188.

32. Lahti P, Jaakkola K, Hörman A, Heikinheimo A, Sovijärvi A, Korkeala H. Identification of a new Clostridium perfringens variant with a chromosomally encoded enterotoxin gene in a suspected persistent food poisoning outbreak in Eritrea. Frontiers in Microbiology. 2024;15:1459840.

33. Xiao Y, Wagendorp A, Moezelaar R, Abee T, Wells-Bennik MH. A wide variety of Clostridium perfringens type A food-borne isolates that carry a chromosomal cpe gene belong to one multilocus sequence typing cluster. Applied and environmental microbiology. 2012;78(19):7060-8.

34. Kokai-Kun JF, Songer JG, Czeczulin JR, Chen F, McClane BA. Comparison of Western immunoblots and gene detection assays for identification of potentially enterotoxigenic isolates of Clostridium perfringens. Journal of Clinical Microbiology. 1994;32(10):2533-9.

35. Wu K, Yuan Y, Fang M, Liu Y, Yang D, Zhang L, et al. Genomic insights into cpb2-positive Clostridium perfringens and the potential biological function of cpb2 gene. One Health Advances. 2024;2(1):25.

36. Abd El-Moez S, Dalia A, Dorgham SM, Basem M, Eman A, Hedia RH. Molecular characterization and genetic diversity among Clostridium perfringens isolates. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2014;3(4):125-34.

37. Camargo A, Guerrero-Araya E, Castañeda S, Vega L, Cardenas-Alvarez MX, Rodríguez C, et al. Intra-species diversity of Clostridium perfringens: A diverse genetic repertoire reveals its pathogenic potential. Frontiers in microbiology. 2022;13:952081.

38. Zhu X, Huang Y, Shi Y, Gao X, Chen D, Liu C, et al. Comparative genomic analysis of food-animal-derived and human-derived Clostridium perfringens isolates from markets in Shandong, China. Frontiers in Microbiology. 2025;16:1543511.

39. Panel) EPoPPPatRP. Review of the existing maximum

residue levels (MRLs) for cyromazine according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. EFSA Journal. 2011;9(7):2326.

40. (FDA) USFaDA. Clostridium perfringens. In: Administration USFaD, editor. Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins (2nd ed): U.S. Department of Hea lth and Human Services, FDA; 2012. p. pp. 87-91.

41. (CDC) USCfDCaP. Clostridium perfringens: About 2024 [updated 2024, March 26. Available from: https://www.cdc.gov/clostridium-perfringens/about/index.html.

42. 박성희, 최옥경, 정진아, 김운호, 이예은, 박광희, et al. 경기도 식중독에서 분리된 Clostridium perfringens 의 유전적 특성 분석. 미생물학회지. 2016;52(3):286-97.

43. Jin Y, Jung J, Jeon S, Choi S, Kim Y, Oh Y, et al. Molecular epidemiology of Clostridium perfringens isolated from food poisoning in Seoul, 2013. Journal of Bacteriology and Virology. 2014;44(2):170-6.

44. (KDCA) KDCaPA. 2023년 식중독 발생 현황. 질병관리청; 2024.

45. CDC C. Molecular Epidemiology of Type F Clostridium perfringens Among Diarrheal Patients and Virulence-Resistance Dynamics — 11 Provinces, China, 2024. China CDC Weekly. 2025;5.

46. D BASSBDAAFDRKNAAMT. Outbreak of Clostridium perfringens food poisoning linked to leeks in cheese sauce: an unusual source. Epidemiology and Infection. 2019;148(e43):1-7.

47. Matsuda KN, M.; Sugimoto, N.; Kanno, T.; Umeda, K.; Shimojima, Y.; Nakamura, S. BEC, a Novel Enterotoxin of Clostridium perfringens Found in Foodborne Gastroenteritis. Infection and Immunity. 2015;83(12):5290-301.