

## Molecular Epidemiology of *Clostridium perfringens* Isolated from Food Poisoning in Seoul, 2013

Younghée Jin\*, Jihun Jung, Sujin Jeon, Seongseon Choi, Youngeun Kim,  
Younghée Oh, Sungmin Choi and Kweon Jung

Division of Infectious Disease, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul, Korea

*Clostridium perfringens* food poisoning ranks among the most common gastrointestinal diseases in developed countries. In Korea, *C. perfringens* food poisoning gradually increases. Using PCR, 72 strains of *C. perfringens* isolated in Seoul, 2013 were tested for the presence of toxin genes. Of the tested strains, 32 isolates carried the *cpe* gene, 37 isolates carried the *cpb2* gene and 3 isolates carried the *cpe* and *cpb2* genes, respectively. 32 *cpe*- positive strains were isolated from the food poisoning patient, whereas among 37 *cpb2*-positive strains, 22 strains were isolated from asymptomatic person. To investigate epidemiological relationship between the isolates, Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was performed. The genetic relatedness of the isolates ranged from 55.9% to 100% and 47 distinct PFGE profiles were observed. The results show that the *cpe*- positive outbreak strains showed close genetic relation, whereas the *cpb2*-positive isolates revealed a wide genetic diversity.

**Key Words:** *Clostridium perfringens*, Toxin gene, PFGE

### INTRODUCTION

*Clostridium perfringens*는 아포를 형성하는 그람 양성 막대 균으로 토양이나 사람과 동물의 위장관 내에서 흔히 발견된다 (1). *C. perfringens*에 의한 식중독의 주요 원인 식품으로는 가금류, 식육 등이 보고되고 있으며 도살된 동물로부터 식품 제조공정 중 연속적으로 오염될 수 있고 불완전한 가열조리 또는 가열조리 후 보관하면서 식중독이 발생하기 쉬운 특성이 있어 육류소비량이 많은 단체급식 등에서 주의가 요구된다 (2). *C. perfringens*는 생산되는 외독소에 따라 5가지 형으로 분류된다 (3). 특히  $\alpha$ -toxin,  $\beta$ -toxin,  $\varepsilon$ -toxin,  $\iota$ -toxin은 치명적인 독소로서 *C. perfringens*를 독소 유형별로 분류하는 근거가 되어 A형

-E형으로 분류할 수 있다. A형은 주로  $\alpha$ -toxin을 분비하며, B형은  $\alpha$ -toxin,  $\beta$ -toxin,  $\varepsilon$ -toxin을 분비하고, C형은  $\alpha$ -toxin,  $\beta$ -toxin을 분비하며, D형은  $\alpha$ -toxin,  $\varepsilon$ -toxin을 분비하고, E형은  $\alpha$ -toxin,  $\iota$ -toxin을 분비한다 (4, 5). 이 중 특히 식중독을 일으키는 형은 장독소를 생산하는 A형균이며, 최근에는 사람과 동물에게 괴사성 장염을 일으키는 독소로 알려진  $\beta$ -toxin인 *cpb2* (*C. perfringens*  $\beta$ 2 toxin)가 보고되어 있다 (6, 7). A형균이 생산하는 장독소(enterotoxin)의 작용은 대장균의 장독소와 유사하며 그 결과로서 설사가 나타나지만 일반적으로 그 경과는 짧은 편이다. 그리고 장독소를 생성하는 유전자는 염색체나 플라스미드에 존재할 수 있다 (8~10).

*C. perfringens*에 의한 식중독은 선진국에서 가장 흔한 식중독 중의 하나로 국내에서도 점점 늘고 있는 추세이

Received: March 31, 2014/ Revised: May 7, 2014/ Accepted: May 10, 2014

\*Corresponding author: Younghée Jin. Division of Infectious Disease, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment 202-3, Yangjae2-dong, Seocho-gu, Seoul 137-134, Korea.

Phone: +82-2-570-3461, Fax: +82-2-570-3418, e-mail: jinyh94@seoul.go.kr

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

다 (11). 서울지역의 경우 2012년까지는 *C. perfringens*에 의한 식중독 발생사례가 거의 없었으나 2013년에는 급격하게 증가하였다. 그러나, *C. perfringens*에 의한 식중독은 원인균으로 진단하는데 있어서 몇 가지 한계점들이 산재하고 있어 동일한 원인균에 의한 발생 여부 파악이 어려운 실정이다 (12). 현재 국내에서는 질병관리본부를 주축으로 병원성대장균, 살모넬라, 쇠杆菌, 비브리오, 캠필로박터, 황색포도알균 등 주요 식중독균에 대해서는 PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis)를 수행하여 관리하는 PulseNet을 운영하고 있으나 *C. perfringens*에 대해서는 PFGE 검사법이 정립되어 있지 않다. 이에 본 연구는 식중독 원인균으로서 중요도가 높아지고 있는 균주인 *C. perfringens*의 독소 유전자 보유현황 및 PFGE 검사를 수행하여 분리 균주 간의 분자역학적인 관계를 규명하고 나아가 식중독 정보화 네트워크 구축의 기초자료로 활용되고자 하였다.

## MATERIALS AND METHODS

### 균주 분리

2013년 서울지역 25개구 보건소에서 식중독으로 접수되어 서울시보건환경연구원에 의뢰된 대변 및 직장도말검체에서 *C. perfringens*를 분리하였다. *C. perfringens* 확인을 위하여 Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) 배지에 접종하여 37°C에서 24시간 혼기조건으로 배양한 다음, 전형적인 접락을 선택하여 혈액배지에 접종하였다. 혈액배지에서 순수 분리된 접락을 VITEK 2 Compact (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하여 최종 동정하였다.

### 독소 유전자 확인

혈액배지에서 순수 분리된 *C. perfringens* 균주를 멸균증류수에 혼탁하여 100°C에서 15분 동안 가열한 후 원심분리한 상층액을 PCR 주형으로 사용하였다. PCR에 사용된 target 유전자는  $\alpha$ -toxin인 *cpa*, enterotoxin인 *cpe* 및  $\beta$ -toxin인 *cpb2*이며 multiplex PCR Kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea)를 사용하여 제조사의 방법에 따라 PCR을 수행하였다. PCR 반응조건은 denaturation 95°C 30초, annealing 60°C 30초 및 extension 72°C 30초를 35회 반복하였으며, 최종 extension 72°C에서 10분간 실시하였고, 증폭산물은 1.5% agarose gel에 전기영동하여 확인하였다.

### PFGE 분석

질병관리본부에서 발행한 PFGE 표준실험법-그람 양성균 protocol과 Chalmers 등 (13)의 방법을 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 혈액배지에 18~24시간 혼기배양한 균주를 Cell suspension TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 혼탁하여 Vitek colorimeter (HACH, Loveland, CO, USA)를 이용하여 탁도를 15~20%가 되게 조정하였다. 균현탁액 170  $\mu$ l, lysostaphin 20  $\mu$ l, lysozyme 10  $\mu$ l를 섞은 후 37°C에서 10분간 incubation 한 후 1.2% agarose solution을 동량 첨가하여 4°C에서 5분간 굳혀서 agarose plug을 만들었다. 굳힌 plug을 proteinase K (20 mg/ml stock) 50  $\mu$ l, ES buffer (0.5 M EDTA, 1% sodium lauroylsarcosine) 1.5 ml에 넣어 55°C 진탕 항온수조에서 1시간 동안 처리한 후 plug wash TE buffer (100 mM Tris, 1 mM EDTA)로 20분간 5차례 세척하였다. 세척이 끝난 plug는 1 mm 두께로 자른 다음, 80 unit *Sma*I (Roche Diagnostics, Meylan, France)이 첨가된 반응 혼합액에 넣어 25°C 항온수조에서 5시간 동안 반응시켰다. 제한효소 반응이 끝나면 반응용액을 제거하고, plug를 gel 성형용 comb 끝 부위에 맞춰 놓은 다음 1% agarose를 gel 성형 틀에 부어 굳힌 다음 전기영동을 실시하였다. 전기영동은 CHEF Mapper PFGE system (Bio-Rad, Richmond, CA, USA)을 이용하여 gradient 6.0 V/cm, Included angle = 120°, Int. Tm 4 sec, Fin. Tm 38 sec의 조건으로 14°C에서 19시간 진행하였고, SyBr gold (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 용액에 gel을 넣어 10분간 염색 후 종류수에 탈색하여 Gel doc (Biorad, Richmond, CA, USA)으로 밴드를 확인하였다. PFGE 결과분석은 BioNumerics software version 5.1 (Applied Maths, Austin, TX, USA)을 이용하였고, 밴드패턴은 1.5% tolerance Dice coefficient로 dendrogram을 작성하여 분석하였다.

## RESULTS

### 균주 분리현황

2013년 서울지역 보건소를 통해 식중독으로 의뢰된 검체 1,497건 중에서 *C. perfringens*는 72주(4.8%) 분리되었다. 분리 균주에 대한 접수일자별, 지역별 및 발생장소별 분리현황은 Table 1과 같다. 2013년 *C. perfringens*에 의한 식중독은 총 24건 발생하였다. 월별 분리현황을 보면 1월, 2월, 6월을 제외하고는 연중 고르게 분리되었으며, 4월에

**Table 1.** Isolation and region distribution of 72 *C. perfringens* isolated in Seoul, 2013

Case no.	Receipt date	Region (Gu)	Occurrence place	Isolation origin	Toxin gene	Isolation number
1	2013-3-8	Yeongdeungpo	School	Patient	cpb2	1
2	2013-3-26	Gangdong	School	Patient	cpe, cpb2	1
					cpb2	1
3	2013-4-24	Gangnam	Restaurant	Patient	cpe	5
4	2013-4-26	Yongsan	Restaurant	Patient	cpe	16
				Foodservice employees	cpe	1
5	2013-5-2	Seodaemun	Restaurant	Patient	cpb2	1
				Foodservice employees	cpb2	2
6	2013-5-13	Seodaemun	Restaurant	Patient	cpb2	1
7	2013-5-20	Seodaemun	Restaurant	Patient	cpb2	1
8	2013-5-28	Kwanak	Restaurant	Patient	cpb2	1
9	2013-7-4	Kwanak	Restaurant	Patient	cpb2	1
				Foodservice employees	cpb2	1
10	2013-7-4	Gwangjin	Restaurant	Foodservice employees	cpb2	1
11	2013-7-12	Guro	Restaurant	Foodservice employees	cpb2	1
12	2013-8-30	Geumcheon	Restaurant	Patient	cpe, cpb2	1
13	2013-9-5	Jongno	Restaurant	Patient	cpe	10
14	2013-10-1	Gangbuk	Restaurant	Patient	cpb2	1
15	2013-10-30	Seongdong	Restaurant	Foodservice employees	cpb2	2
16	2013-11-29	Mapo	School	Patient	cpb2	3
				Foodservice employees	cpb2	1
17	2013-12-10	Seodaemun	School	Foodservice employees	cpe, cpb2	1
18	2013-12-11	Dongdaemun	Overseas trip	Patient contact	cpb2	1
19	2013-12-20	Dongjak	School	Patient	cpb2	2
20	2013-12-20	Jongno	School	Patient	cpb2	3
21	2013-12-23	Gangnam	Restaurant	Foodservice employees	cpb2	2
23	2013-12-27	Gangnam	Restaurant	Patient	cpb2	6
				Foodservice employees	cpb2	1
24	2013-12-27	Mapo	Restaurant	Foodservice employees	cpb2	3
Total						72

22주로 가장 많이 분리되었고 그 다음으로는 12월에 19주가 분리되었다. 4월의 경우 총 2건의 식중독이 발생하였는데 그 중에서 용산구에서 발생된 집단식중독에서 17주가 분리되어 분리건수가 높았고, 12월의 경우는 식중독 발생건수가 총 7건으로 발생빈도가 높았다. 발생장소는

한 건을 제외하고는 음식점과 학교급식 이였는데 건 별로 보면 음식점 16건, 학교급식 7건 순 이였고, 분리건수를 보면 음식점에서 분리된 *C. perfringens*가 58주, 학교급식에서는 13주가 분리되어 대부분 음식점에서 발생한 식중독에서 분리되었다. *C. perfringens*가 분리된 대상자를

**Table 2.** Distribution of toxin genes of 72 *C. perfringens* isolated in Seoul, 2013

Toxin genes	Isolates from patients (%)	Isolates from asymptomatic subjects (%)	Total
cpe	32 (100)	0 (0)	32
cpb2	22 (59.5)	15 (40.5)	37
cpe & cpb2	2 (66.7)	1 (33.3)	3
Total	56 (77.8)	16 (22.2)	72

보면 식중독 증상을 보인 환자뿐만 아니라 무증상자인 음식점 조리종사자에서도 분리가 되었는데 72주 중 환자에서 분리된 균주는 총 56주, 음식점 조리종사자 15주, 환자 접촉자 1주였다.

#### 독소 유전자 PCR 결과

분리된 72주의 *C. perfringens*에 대하여 *cpa*, *cpe*, *cpb2* 유전자에 대하여 PCR을 수행한 결과는 Table 2와 같다. 모든 균주에서 *cpa*는 공통으로 검출되었고, *cpe* 유전자 32주, *cpb2* 유전자 37주, 그리고 두 유전자를 동시에 가지는 균주가 3주 분리되었다. *Cpe* 유전자의 경우 식중독 증상이 있는 환자에서만 분리되었지만, *cpb2* 유전자는 증상이 있는 환자에서 22주(59.5%)가 분리되었고, 15주(40.5%)는 무증상자인 조리종사자나 환자 접촉자에서 분리되었다. 그리고 *cpe*와 *cpb2*를 동시에 가지는 균주의 경우 환자에서 2주(66.7%), 무증상자에서 1주(33.3%) 분리되었다.

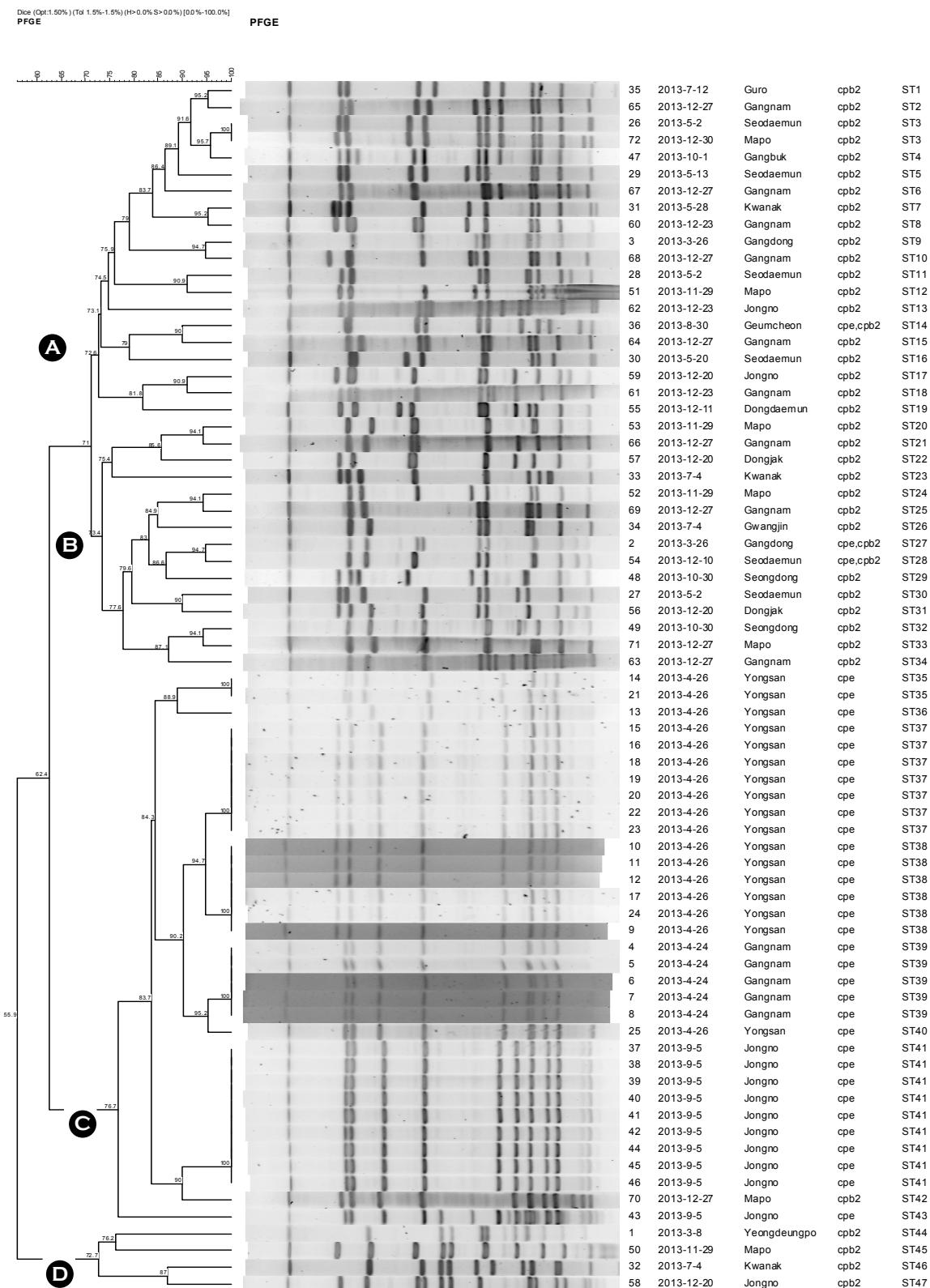
#### PFGE 분석 결과

*C. perfringens* 분리 균주 72주에 대하여 PFGE를 실시한 후 dendrogram을 작성한 결과는 Fig. 1과 같이 총 47개의 PFGE 유형(PFGE subtype; ST 1~47)을 나타내었고, 유사도 70% 이상을 기준으로 했을 때 4개의 그룹으로 나뉘어졌다. A, B, D 그룹은 대부분 *cpb2* 유전자 보유 균주로 이루어졌고, C그룹은 한 주를 제외하고는 모두 *cpe* 유전자 보유 균주로 구성되었다. A그룹은 20주의 균주로 총 19개의 유형으로 확인되었으며 균주 간의 유사도는 100~72.6%였다. 5월 서대문 분리주(No.26)와 2월 마포구 분리주(No.72)가 ST3 유형으로 동일한 유전자페인을 나타내었다. B그룹은 15주의 균주로 총 15개의 서로 다른 유형으로 확인되었으며 유사도는 94.7~73.4%를 나타내었다. C그룹은 33주의 균주로 총 9개의 유형으로 확인되었으며 균주 간 유사도는 100~76.7%였다. 4월 용산구 집단식중

독에서 분리된 17주는 ST35, ST36, ST37, ST38, ST40의 5가지 유전자페인으로 확인되었고, 4월 강남구 집단식중독에서 분리된 5주는 모두 ST39 유형으로 단일 균주에 의한 식중독으로 확인되었다. 9월 종로구 집단식중독에서 분리된 10주 중 9주는 ST41, 1주는 ST43 유형으로 확인되었다. D그룹은 4주의 균주로 각각 다른 4개의 유형으로 확인되었으며 균주 간의 유사도는 87~72.7%로 그룹 중에서 가장 낮은 유사도를 보였다. PFGE 분석 결과를 통해서 11월 마포구 집단식중독에서 분리된 환자 분리주 3주(No.51, 52, 53)와 조리종사자 1주(No.50)는 서로 다른 유형의 균주임을 확인할 수 있었다. 또한 12월 강남구 집단식중독에서 분리된 환자 분리균 6주(No.63, 64, 65, 66, 67, 68)와 조리종사자 분리균 1주(No.69) 역시 모두 다른 유형의 균주로 확인되었다.

## DISCUSSION

2013년 식약처에서 발행한 국내 식중독 발생현황을 보면 2008년 이후 2012년까지 식중독 발생건수는 약간의 감소 추세지만 여전히 연간 250건을 넘고 환자수는 6,000명을 넘는 수준이다. 서울시의 경우도 마찬가지로 식중독 발생건수가 감소 추세이기는 하나 원인병원체 규명률은 2012년에 비하여 2013년에 67% 높았는데 그 이유 중 하나로 *C. perfringens*의 증가를 들 수 있다. 국내에서 *C. perfringens*는 2003년에 처음으로 식중독 원인균으로 보고된 바 있으며 (14), 2013년 식약처 발생현황을 보면 2012년에 13건 발생하여 발생비율이 4.89%로 병원성 대장균을 제외하면 세균 원인체 중에서는 가장 높은 비율을 나타내었다. 질병관리본부에서 시도보건환경연구원과 공동으로 수행하는 급성설사질환감시사업 결과 (15)에서도 2012년 *C. perfringens*가 충남(24.7%), 전북(16.5%), 인천(12.4%)에서 많이 분리된 것으로 보고하였다. *C.*



**Figure 1.** Dendrogram showing the clustering of PFGE patterns for the 72 *C. perfringens* isolates. A group indicates 72.6% similarity; B group indicates 73.4% similarity; C group indicates 76.7% similarity; D group indicates 72.7% similarity. ST means PFGE subtype pattern.

*perfringens*는 육류섭취량이 많은 외국의 경우 매우 흔한 식중독 원인균으로 보고되어 있는데 (16) 우리나라의 식생활 유형이 육류 위주로 변화함에 따라 점차 늘어나는 것으로 생각된다. 서울시의 경우 2013년 갑자기 증가한 *C. perfringens*에 대하여 월별, 장소별 분리현황을 살펴본 결과 연중 고르게 분포하였고 발생장소는 식품접객업소가 집단급식소보다 많았다. 이는 Kim 등 (15)이 보고한 급성설사질환에서 *C. perfringens*는 계절에 상관없이 고루 분포하는 결과와 일치하였고, 발생장소의 경우도 식약처에서 보고한 장소별 식중독 발생현황과 일치하였다. 발생 건수는 식품접객업소가 많았지만 환자수는 집단급식소가 많았는데 2013년 서울지역의 *C. perfringens*의 분리건수를 보면 환자수가 많은 집단급식소 보다 식품접객업소의 분리비율이 높았다. 따라서 환자수를 감안해서 본다면 앞으로 *C. perfringens*의 분리율은 더욱 높아질 수 있는 가능성 있다.

*C. perfringens*의 다섯 가지 유형 중 식중독은 A유형과 C유형이 일으키는 것으로 알려져 있다 (6, 7). 따라서 2013년 식중독으로 의뢰된 검체에 대해 *cpa*, *cpe*, *cpb2* 유전자에 대한 PCR을 실시하였는데 그 결과 집단식중독에서 분리된 *C. perfringens*에서는 상대적으로 *cpe* 유전자가 많이 분리되었고 산발적인 식중독에서 분리된 *C. perfringens*는 *cpb2* 유전자의 비율이 높았다. 일반적으로 집단식중독에서 분리된 균주는 염색체상에 *cpe* 유전자를 보유하는 것으로 알려져 있고, 식중독과 관련이 없는 설사질환에서 분리된 균주는 플라스미드상에 *cpe* 유전자를 보유하는 것으로 알려져 있다 (8, 17). *cpb2* 유전자의 경우는 집단식중독 보다는 식중독과 관련이 없는 항생제와 연관된 설사나 산발적인 설사에 더 많이 관여하는 것으로 보고되어 있다 (6). Johansson 등 (9)과 Fisher 등 (18)은 식중독에서 분리된 균주 중에서 일부는 *cpe* 유전자와 *cpb2* 유전자를 동시에 보유하였다고 보고하였는데, 본 연구에서도 산발적인 식중독에서 분리된 3주가 *cpe*와 *cpb2* 유전자를 동시에 보유하였다. *cpb2* 유전자의 경우 설사에 관여한다고 알려져 있으나 본 연구에서는 증상이 없는 음식점 조리종사자에서 *cpb2* 유전자가 전체 37건 중에서 15주가 분리되어 40.5%의 높은 비율을 차지하였다. 질병관리본부에서 수인성식품매개질환실험실 진단실무지침에 *cpb2* 유전자를 포함시킨 해가 2012년 이후이기 때문에 아직까지 검사 자료수집이 충분하지가 않은 실정이다. 앞으로 지속적인 모니터링을 통해 *cpb2* 유전자의 병원성

여부를 검토해 봐야 할 것으로 생각된다.

국내에서는 살모넬라균, 병원성대장균, 캠필로박터균, 황색포도알균, 비브리오균 등 주요 식중독균에 대해서는 PulseNet을 운영하여 PFGE를 통해 역학적인 유연관계를 확인하고 있다. 하지만 *C. perfringens*에 대해서는 아직까지 PulseNet이 구축되지 않은 실정이다. *C. perfringens*가 최근 들어 식중독 원인병원체로 분리빈도가 높은 만큼 역학적인 유연관계는 식중독 감염원 파악 및 예방에 있어 필수적이다. 2013년 분리된 72주는 총 47개의 PFGE 유형을 나타내었고, 유사도 70% 이상을 기준으로 4개의 그룹으로 나눌 수가 있었는데 *cpe* 유전자에 비해 *cpb2* 유전자를 가진 균주가 훨씬 복잡하고 다양한 유전자페턴을 나타내었다. 집단식중독에서 빈도가 높게 분리된 *cpe* 유전자 보유 균주의 경우 단일 유전자형이거나 유사도가 높은 유전자형으로 이루어져 집단식중독의 원인균 파악이 용이하였다. 집단식중독에서 분리되었지만 분리율이 낮아 원인병원체로 파악하기에 어려움이 있었던 *cpb2* 보유 균주의 경우 PFGE를 통해 역학적인 연관성이 없음을 확인할 수 있었다. 국내에서는 Chon 등 (14)이 2006년 육류 및 그 가공품에서 분리된 *C. perfringens*에 대해서 PFGE를 수행한 연구가 있었지만, 국외에 비해 연구가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 국내 *C. perfringens*의 PulseNet 자료구축의 기반이 될 수 있을 것으로 생각되며, 앞으로 국내에서 발생빈도가 높아지고 있는 *C. perfringens*에 대한 PFGE 자료 확보 및 제반 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Smedley JG 3rd, Fisher DJ, Sayeed S, Chakrabarti G, McClane BA. The enteric toxins of *Clostridium perfringens*. Rev Physiol Biochem Pharmacol 2004;152:183-204.
- 2) Sartory DP, Field M, Curbishly SM, Pritchard AM. Evaluation of two media for the membrane filtration enumeration of *Clostridium perfringens* from water. Lett Appl Microbiol 1998; 27:323-7.
- 3) Sarker MR, Singh U, McClane BA. An update on *Clostridium perfringens* enterotoxin. J Nat Toxins 2000;9:251-66.
- 4) McDonel JL. *Clostridium perfringens* toxins (type A, B, C, D, E). Pharmacol Ther 1980;10:617-55.
- 5) Petit L, Gibert M, Popoff MR. *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. Trends Microbiol 1999;7:104-10.

- 6) Harrison B, Raju D, Garmory HS, Brett MM, Titball RW, Sarker MR. Molecular characterization of *Clostridium perfringens* isolates from humans with sporadic diarrhea: evidence for transcriptional regulation of the beta2-toxin-encoding gene. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:8362-70.
- 7) Fisher DJ, Miyamoto K, Harrison B, Akimoto S, Sarker MR, McClane BA. Association of beta2 toxin production with *Clostridium perfringens* type A human gastrointestinal disease isolates carrying a plasmid enterotoxin gene. *Mol Microbiol* 2005;56:747-62.
- 8) Sparks SG, Carman RJ, Sarker MR, McClane BA. Genotyping of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with antibiotic-associated diarrhea and food poisoning in North America. *J Clin Microbiol* 2001;39:883-8.
- 9) Songer JG. Clostridial enteric disease of domestic animals. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:216-34.
- 10) Cormillot E, Saint-Jeanis B, Daube G, Katayama S, Granum PE, Canard B, et al. The enterotoxin gene (cpe) of *Clostridium perfringens* can be chromosomal or plasmid-borne. *Mol Microbiol* 1995;15:639-47.
- 11) McCabe-Sellers BJ, Beattie SE. Food safety: Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. *J Am Diet Assoc* 2004;104:1708-17.
- 12) Ryu CB, Lee MS. Food poisoning. *J Korean Med Assoc* 2011; 54:617-26.
- 13) Chalmers G, Martin SW, Hunter DB, Prescott JF, Weber LJ, Boerlin P. Genetic diversity of *Clostridium perfringens* isolated from healthy broiler chickens at a commercial farm. *Vet Microbiol* 2008;127:116-27.
- 14) Chon JW, Park JS, Hyeon JY, Park C, Song KY, Hong KW, et al. Development of Real-time PCR for the detection of *Clostridium perfringens* in meats and vegetables. *J Microbiol Biotechnol* 2012;22:530-4.
- 15) Kim NO, Cha I, Kim JS, Chung GT, Kang YH, Hong S. The prevalence and characteristics of bacteria causing acute diarrhea in Korea, 2012. *Ann Clin Microbiol* 2013;16:174-81.
- 16) Rood JI, Cole ST. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens*. *Microbiol Rev* 1991;55:621-48
- 17) Collie RE, Kokai-Kun JF, McClane BA. Phenotypic characterization of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* isolates from non-foodborne human gastrointestinal diseases. *Anaerobe* 1998;4:69-79.
- 18) Fisher DJ, Miyamoto K, Harrison B, Akimoto S, Sarker MR, McClane BA. Association of beta2 toxin production with *Clostridium perfringens* type A human gastrointestinal disease isolates carrying a plasmid enterotoxin genes. *Mol Microbiol* 2005;56:747-62.