

경북 동해안 환경에서 분리된 *V. parahaemolyticus* 및 *V. vulnificus*의 생태학적 및 항생제 감수성 특성

손진창 · 박승우 · 민경진*

경상북도 보건환경연구원, *계명대학교 공중보건학과

Environmental and Antimicrobial Characteristics of *Vibrio* spp. Isolated from Fish, Shellfish, Seawater and Brackish water samples in Gyeongbuk Eastern Coast

Jin Chang Son · Seung Woo Park · Kyung Jin Min*

Gyeongsangbuk-do Institute of Health and Environment

*Department of Public Health, Keimyung University

(Received April 27, 2003; Accepted May 28, 2003)

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the distribution and characteristics of *Vibrio* spp. isolated from fish and shellfish, seawater and brackish water samples collected from Pohang, Uljin, Yeongduk and Gyeongju in Gyeongbuk Province from April 2000 to October 2000. Total 155 strains of genus *Vibrio* were isolated from 439 collected samples, and numbers of isolated strains of *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* were 140 and 15, respectively. The isolation rate from the samples collected in Pohang was the highest as 41.5% (76 strains), and was the highest as 71.4% (30 strains) in brackish water, and was the highest as 55.7% (34 strains) in August. And the optimal pH, temperature, and NaCl concentration for growth of *V. parahaemolyticus* and *V. cholerae* were 8.0, 30°C and 2.0%, respectively. In a resistance test for environmental factors, heat and cold resistant of *V. parahaemolyticus* were higher than those of *V. vulnificus*, withstanding for 15 minutes at 60°C and 6 days at -18°C. The pH range for existence of *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* were 4.5~11.0 and 4.5~10.0, showing the similar resistance to pH. *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* could grow in media containing up to 10.0% and 7.0% NaCl, respectively. Salt-tolerance of *V. parahaemolyticus* was higher than that of *V. vulnificus*. In an antibiotics sensitivity test against 16 strains of *V. parahaemolyticus*, twelve strains were resistant to ampicillin, eight strains were resistant to cephalothin, one strain was resistant to streptomycin, and one strain was resistant to ticarcillin.

Keywords: *Vibrio* spp., Fish, Shellfish, Seawater, Brackish water

I. 서 론

*Vibrio*속은 *Vibrionaceae*과에 속하며, 이 과에는 *Aeromonas*, *Plesiomonas* 및 *Photobacterium*속들이 있다.¹⁾ *Vibrio*속 세균은 일반적으로 크기는 직경이 0.5~0.8 μm , 길이는 1.4~2.6 μm 이며, 단편모를 가지고 운동성이 있는 그람음성균으로 콤팩트형이거나 간균으로, oxidase 양성, 포도당은 발효하나 가스를 생성하지 않는

특징을 가지고 있다.²⁾ *Vibrio*속 세균 대부분은 증식에 염분을 필요로 하는 호염성 세균으로 적정 염분의 농도는 종에 따라 다양하며, 해수, 갯벌, 해양생물 등 해양환경에 널리 서식하고 있다.

*Vibrio*속 세균에는 34종이 보고되고 있으며, 그 중에서 병원성 균은 *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus* 등 12종 정도가 알려져 있다.^{3,4)}

콜레라는 대표적인 *Vibrio*속 세균에 의한 전염병으로 제1군 법정전염병으로 지정되어 있으며, 원인균인 *V. cholerae*에 감염시 설사, 순환장애, 저체온, 무뇨증으로 이어지며 중국에는 심한 탈수증을 보여 적절한 치료가

Corresponding author : Department of Public Health,
Keimyung University
Tel: 82-53-580-5229, Fax: 82-53-580-5409
E-mail : kjm422@kmu.ac.kr

되지 않을 경우 사망하기도 한다.⁴⁾ 1995년 68명, 1997년 10명, 1999년 3명 등 산발적인 발생 양상을 보였으나, 2001년에는 경북 영천지역을 중심으로 141명의 콜레라 환자가 발생하여 전국적으로 대유행을 하였다.⁵⁾

비브리오패혈증을 일으키는 *V. vulnificus*는 오염된 어패류의 생식, 해수 및 해안 침사물에 노출, 어패류 취급시 상처를 통하여 감염되는데, 간질환, 습관성 음주, 당뇨병 등의 기저질환자나 면역기능이 저하된 사람이 감수성이 큰 것으로 알려져 있다.^{6,7)} 원발성패혈증은 주로 어패류 생식으로 발병하는데 퀘저성 궤양, 쇼크, 장기능부전을 유발하며 치명율은 62~72%이다. 그리고 상처를 통한 창상 감염은 상처 부위에 수포 및 괴사를 발생시키며 치명율이 25~50%이다.^{8,9)} 1979년 전남해안 지방에서 피부 괴저병으로 여러 사람이 사망하여 우리나라에 처음으로 알려지게 되었으며, 매년 여름철에 사망자가 발생하여 하절기 중요한 보건 및 사회문제로 대두되고 있다.¹⁰⁾

*V. parahaemolyticus*는 장염 및 설사를 일으키는 장염비브리오식중독의 원인균으로 주로 해산물이나 어류의 생식, 식품의 가공 및 저장 중에 증식하여 식중독을 발생시킨다.¹¹⁾ 특히 남해안 일대 해수욕장, 관광지 등을 중심으로 장염비브리오식중독이 많이 보고되고 있고,¹²⁾ 청정지역인 동해안지역에서도 분리되고 있다.^{13,14)}

이들 병원성 *Vibrio*속의 분리율이 점차 높아지고 있는 것은 최근 수산업의 발달, 해안지역 관광객의 증가 및 수산물 가공공장의 증가 등으로 인하여 각종 오염물질이 해안으로 유입됨으로서 연안오염이 가속화되기 때문이다. 또한 비브리오패혈증으로 인한 사망자의 증가^{10,15)} 및 콜레라의 전국적 유행은 공중보건학적으로 매우 중요시되고 있으며,⁹⁾ 이로 인한 경제적 손실도 큰 것으로 보고되고 있다.¹⁶⁾

따라서 본 연구는 청정지역으로 알려져 있는 경북 동해안의 경주, 포항, 영덕, 울진 지역의 어패류, 해수 및 기수에서 *Vibrio*속을 분리하고, 이들 균들의 *Vibrio*속별, 검체별, 지역별 및 월별 분포를 조사하고, 기본적인 생화학 및 생리적 특성과 항생제 감수성 시험을 행하여 *Vibrio*속 세균으로 인한 식중독 예방을 위한 기초자료로 제공하고자 한다.

II. 연구방법

1. 균분리 재료

*Vibrio*속 세균의 분포조사 및 항균성 시험을 위한 검체는 2000년 4월부터 10월까지 경북 동해안의 포항, 경주, 영덕 및 울진의 4개 지역을 선정하여 시판 어패

류, 해수 및 기수를 월 2회 채취하였다.

어류는 표피, 아가미, 내장을 멸균된 가위로 절단하였으며, 패류는 껍질과 함께 멸균된 유발접시에서 잘게 부수어 사용하였다. 해수 및 기수는 4ℓ를 채수하여 양압여과기(membrane filter paper 0.45 μm, 14.2 cm)로 여과하고 membrane filter를 세절하여 사용하였다.

2. *Vibrio*속 세균의 분리 및 동정

전처리한 검체를 2% NaCl alkaline peptone water (pH 8.4)에 접종하여 35°C에서 6~8시간 증균 배양하였다. 증균 배양액으로부터 백금이를 사용하여 TCBS (thiosulfate citrate bile sucrose) 배지에 희석 도말한 후, 35°C에서 24시간 배양하고, *Vibrio*속의 전형적인 집락을 감별배지인 KIA(kligler iron agar) 배지에 접종하여 35°C, 24시간 배양 후, K/A(alkaline slant/acid butt) 성장 및 운동성을 확인하고, gas 음성, H₂S 음성인 *Vibrio*속 세균을 분리하였다. 분리된 세균에 대하여 그람염색 및 혈청학적 응집시험을 실시하였으며, 생화학적인 확인시험은 API 20E test로 하였고, Bergey's manual of system bacteriology²⁾에 따라 분리·동정하였다.

3. *Vibrio*속 세균의 배양학적 특성

시험에 사용한 균주는 동해안에서 분리된 균주 중에서 치명율이 높거나 식중독균으로서 집단 발병하여 설사를 일으켜 공중보건학적으로 중요시되고 있는 *V. vulnificus*와 *V. parahaemolyticus*를 임의 선정하였다. *V. parahaemolyticus* 및 *V. vulnificus*의 생육최적조건을 결정하기 위하여 온도, pH 및 NaCl 농도에 대하여 시험하였다. 실험균주는 nutrient agar 및 broth에 계대배양하여 충분히 활성화시킨 후 사용하였다. 최적 배양온도는 선정균주를 2% NaCl nutrient broth(pH 8.4)에 접종하고 15, 20, 25, 30, 35 및 40°C에서 배양하였고, pH는 30°C에서 2% NaCl nutrient broth의 초기 pH를 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5로 조정하여 배양하였으며, NaCl 초기 농도를 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 및 5.0% 농도로 조정한 후, nutrient broth에 접종하여 배양하면서 각각의 배양액을 UV/VIS spectrophotometer로 660 nm에서 흡광도를 측정하여 최적 배양조건을 결정하였다.

4. *Vibrio*속 세균의 환경에 대한 저항성

1) 온도

V. parahaemolyticus 및 *V. vulnificus*의 열에 대한 저항성은 nutrient broth(pH 8.0, 2% NaCl)에 *Vibrio*

속을 접종하고 50°C는 30~120분, 60°C는 5~20분, 70°C는 30~120초, 80°C는 15~60초 동안 배양하면서 일정 시간 간격으로 일정량의 배양액을 nutrient agar plate(pH 8.0, 2% NaCl)에 접종하여 생균수를 측정하였고, 저온에 대한 저항성을 측정하기 위하여 온도를 5, 0, -5°C 및 -18°C에서 8일간 배양하면서 2일 간격으로 생균수를 측정하였다.

2) pH

V. parahaemolyticus 및 *V. vulnificus*의 산성에 대한 저항성은 nutrient broth(2% NaCl)에 초기 pH를 3.0에서 6.0으로 조정하였고, 알칼리성에 대한 저항성 측정은 pH를 9.0에서 12.0으로 조정하여 48시간 배양 후, 균의 증식 유무를 확인하였다.

3) NaCl 농도

V. parahaemolyticus 및 *V. vulnificus*의 NaCl 농도에 대한 저항성은 NaCl 농도를 5.0~13.0%로 조정하여 48시간 배양 후, 균의 증식 유무를 확인하였다.

5. 항생제 감수성 시험

동해안에서 분리한 균주 중에서 하절기에 가장 많이 발생하여 장염비브리오 식중독을 일으키는 *V. parahaemolyticus* 16주를 임의 선정하여 디스크 확산법으로 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 배지는 2% NaCl을 첨가한 muller hinton agar를 사용하였으며, 시험에 사용한 항생제 디스크는 ticarcillin(75 µg), streptomycin(10 µg), chloramphenicol(30 µg), sulfamethoxazole/trimethoprim(25 µg), kanamycin(30 µg), amoxicillin/clavulanic acid(30 µg), ciprofloxacin(5 µg), ampicillin(10 µg), ampicillin/sulbactam(20 µg), nalidixic acid(30 µg), ceftriaxone(30 µg), amikacin(30 µg), gentamicin(10 µg), tetracycline(30 µg), ceftioxin(30 µg) 16종으로 BBL사 제품을 사용하였다. 내성균의 판정은 NCCLS (Nation committee for clinical laboratory standard, U.S.A)의 기준에 따라 판정하였으며, 감수성 결과의 정도관리를 위하여 *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli*

ATCC 25922의 표준균주로 항균제 역가를 확인하였다.

III. 결과 및 고찰

1. *Vibrio*속 세균의 분포

1) *Vibrio*속 세균의 분리율

경북 동해 연안의 경주, 포항, 영덕, 울진 4개 지역의 어패류, 해수 및 기수 439건의 검체에서 주요 병원성 *Vibrio* 속을 분리한 결과는 Table 1과 같다. 총 439건의 검체에서 *Vibrio*속 155건이 분리되어 35.3%의 분리율을 보였다. 그 중 *V. parahaemolyticus*가 140주(31.9%)로 가장 많이 분리되었으며, *V. vulnificus*는 15주(3.4%)가 분리되었으나 제1종 법정전염병으로 지정되어 있는 콜레라의 원인균인 *V. cholerae*는 분리되지 않았다. 이는 전남 해안지역에서 분리한 *V. parahaemolyticus* 28%, *V. vulnificus* 3.2%와 결과가 유사하였으며,¹⁷⁾ 서해안 대천지역에서 분리¹⁰⁾한 *V. parahaemolyticus* 70%, *V. vulnificus* 12.5%와 동해안에서 *V. vulnificus*가 분리되지 않은 결과¹⁸⁾와는 상당한 차이를 보였다. 특히 본 연구에서 *V. vulnificus*가 기수에서 11.9%로 가장 많이 분리되어, 양 등¹⁸⁾이 해수와 민물이 만나는 지점에서 *V. vulnificus*의 분리가 가장 높았던 것으로 보고하여 비슷한 결과를 얻었으며, 상대적으로 염분이 낮고 유기물 농도가 높은 지역에서 검출율이 높게 나타났다는 보고와 일치하였다.⁸⁾

2) *Vibrio*속 세균의 지역별 분포

Table 2는 *Vibrio*속 세균의 지역별 분리율을 나타낸 것으로 포항지역이 41.5%(76주)로 가장 높았으며, 영덕 39.4%(28주), 울진 30%(18주), 경주 26.4%(33주)의 순으로 분리되었다. 검체별로는 민물과 해수가 섞인 물인 기수가 42건 중 30주(71.4%)로 가장 많이 분리되었으며, 해수 53주(47.3%), 어패류 72주(25.3%)의 순으로 분리되었다. 다른 지역 보다 해안 오염원이 적어 비교적 맑은 해수인 경북 동해안 지역의 해안에서도 병원성 *Vibrio*속이 분리되었으므로, 이들 균에 대한

Table 1. Isolation rate of *Vibrio* spp. from marine specimens

Specimen	No. of sample	No. of isolates(%)		
		<i>V. cholerae</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
Fishes & Shellfishes	285	0(0)	3(1.1)	69(24.2)
Sea water	112	0(0)	7(6.3)	48(42.9)
Brackish water	42	0(0)	5(11.9)	23(53.8)
Total	155*/439**(35.3)	0(0)	15(3.4)	140(31.9)

*: No. of isolated, **: No. of sample tested. (): %.

Table 2. Isolation rate of *Vibrio* spp. by sampling areas

Areas	No. of isolation/No. of sample(%)			
	Fishes & Shellfishes	Sea water	Brackish water	Total
Gyeongju	23/97(23.7)	10/28(35.7)	-	33/125(26.4)
Pohang	37/127(29.1)	18/28(64.3)	21/28(75.0)	76/183(41.5)
Yeongduk	6/29(20.7)	13/28(46.4)	9/14(64.3)	28/71(39.4)
Ulsjin	6/32(18.8)	12/28(42.9)	-	18/60(30.0)
Total	72/285(25.3)	53/112(47.3)	30/42(71.4)	155/439(35.3)

생태학적 고찰과 예방대책이 다방면으로 검토되어야 할 것이다.

우리나라 해안선을 중심으로 *Vibrio*속 세균의 분포에 대한 연구가 많이 이루어지고 있는데, 강 등¹⁹⁾은 남해안 지역을 중심으로 해수 등 120건의 검체에서 16주(13.3%)의 *V. parahaemolyticus*를 분리하였으며, 검체별로 보면 해수에서 15%, 패류와 갯벌에서 12.5%가 분리된 것으로 보고하였다. 이 등²⁰⁾은 경기도 해안의 장염비브리오 분포조사에서 534건의 검체에서 169주(31.6%)의 *V. parahaemolyticus*를 분리하였으며, 검체별로는 꼬막에서 14주(38.9%)가 검출되어 가장 높은 분리율을 나타낸 것으로 보고하였다.

우리나라의 연안 오염도를 보면 2000년 평균으로 화학적산소요구량(COD)이 서해 1.3 mg/l, 남해 1.6 mg/l, 동해 1.0 mg/l로 동해가 가장 낮았으며, 또한 동해안 지역별 COD 기준 수질현황을 보면 포항 영일만이 철강공단 폐수 및 생활오수의 영향으로 1.31 mg/l로 2등급이었으며, 영덕 강구항, 경주 감포항 및 울진 후포항은 각각 0.83 mg/l, 1.0 mg/l, 0.91 mg/l로 1등급을 유지하였다.²¹⁾ 이러한 결과로 볼 때 서·남해안의 *Vibrio*속 세균 분리율이 동해보다 높은 것과 포항 지역에서 분리율이 동해안 다른 지역보다 높은 것은 해수의 유기물 농도와 깊은 관련성이 있을 것으로 생각된다. 따라서 육지로부터 오염물질의 유입을 최소화하고 환경 기초시설을 확충하여 수질개선을 해야 할 것으로 사료된다.

3) *Vibrio*속 세균의 월별 분포

*Vibrio*속 세균의 월별 분리율은 Fig. 1과 같다. 8월에 61건의 가검물에서 34주(55.7%)가 분리되어 가장 높은 분포를 나타내었으며, 9월은 30주(46.2%), 7월은 26주(41.9%), 10월은 24주(38.7%), 6월은 18주(31.0%), 5월은 14주(22.6%), 4월은 9주(14.3%)의 순으로 분리되었다.

경북 동해안의 해수온도가 15°C 이하인 4월에는 14.3%로 아주 낮은 분리율을 보였으나, 7월, 8월, 9월에는 해수온도가 20°C 이상으로 상승하면서 높은 분리

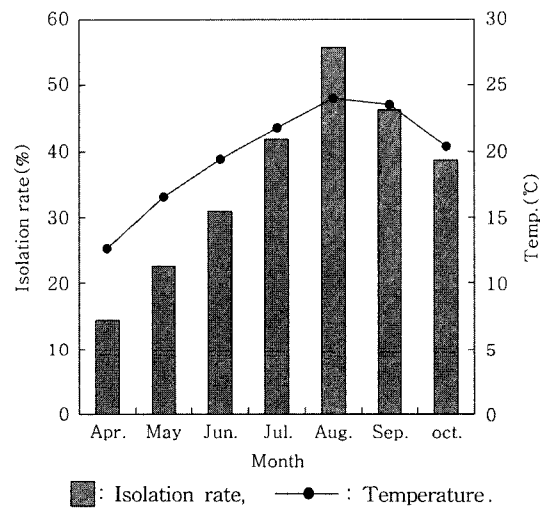


Fig. 1. Comparison of monthly isolation rates of *Vibrio* spp.

율을 나타내어, 계절적으로 하절기에 집중적으로 *Vibrio*속 세균으로 인한 질환이 발생하는 것과 일치하였다. 이는 *Vibrio*속 세균의 분리율은 해수온도와 상관관계가 높음을 알 수 있고, 계절별 *Vibrio*속 세균의 분리율에서 8월과 9월에 분리율이 높은 것과 비슷한 결과를 얻었다.^{12,13,20)}

2. *Vibrio*속 세균의 생육최적조건

V. parahaemolyticus 및 *V. vulnificus*의 생육 최적조건을 조사한 결과는 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4와 같다. Fig. 2는 배양온도를 15~40°C로 단계적으로 조절하여 24시간 배양 후 생육도를 측정된 결과, 실험 *Vibrio*속 세균은 모두 25~35°C에서 비교적 양호한 성장을 하였으며, 30°C에서 가장 높은 생육도를 보였다. Fig. 3은 pH를 7.0~9.5까지 단계적으로 조절하여 배양 후, 측정된 생육도는 *V. parahaemolyticus*는 7.5~8.5의 범위에서 생육이 가장 양호하게 나타났고, *V. vulnificus*는 pH 8에서 가장 좋은 성장을 보였다. NaCl 농도는 실험농

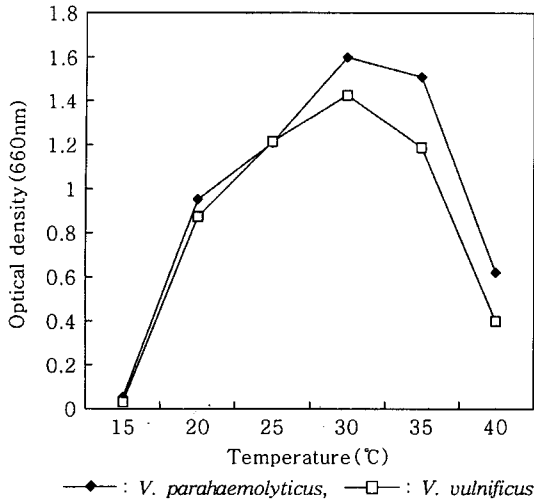


Fig. 2. Effect of temperature on growth of *Vibrio* spp.

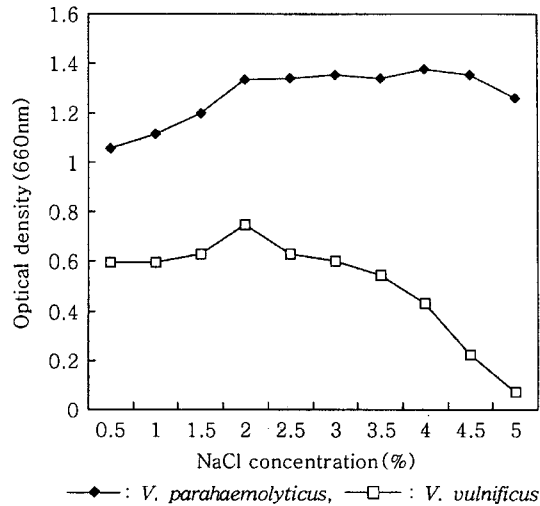


Fig. 4. Effect of NaCl concentration on growth of *Vibrio* spp.

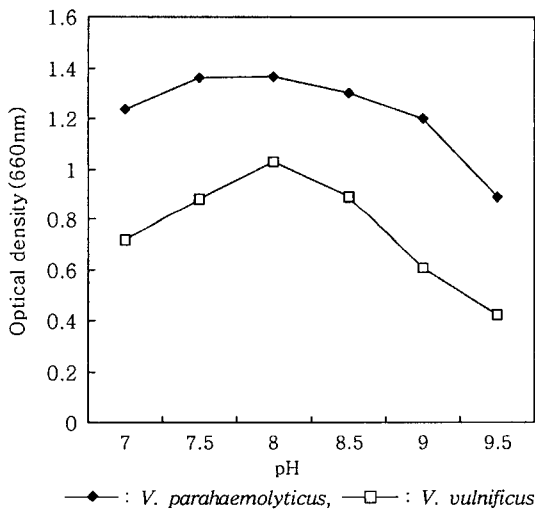


Fig. 3. Effect of pH on growth of *Vibrio* spp.

도 0.5~5.0%에 전반적으로 모두 성장하였으나 *V. parahaemolyticus*는 2~4%, *V. vulnificus*는 1.5~2.5%의 NaCl 농도에서 가장 잘 자라는 것으로 나타났다(Fig. 4). 따라서 실험균주의 최적생육 조건은 배양온도는 30°C, pH는 8.0, NaCl 농도는 2.0%로 결정되었다. 일반적으로 *Vibrio*속 세균의 배양조건이 온도 35°C, pH 8.5, NaCl 농도 3%인 감염병실험실진단지침의 실험방법⁴⁾과 상이한 것은 분리 환경의 차이 즉, 자연환경에서 유래한 것과 환자에서 분리한 것의 차이에서 기인한 것으로 생각된다.

Table 3. Thermal resistance of *Vibrio* spp.

Temp. (°C)	Time	Viable cell count (CFU/ml)	
		<i>V. parahaemolyticus</i> GB-9	<i>V. vulnificus</i> GB-7
50	0(min)	3.3×10^7	2.9×10^7
	30	5.6×10^3	4.1×10^3
	60	2.8×10^3	6.8×10^2
	90	8.6×10^2	3.3×10^2
	120	5.6×10^2	1.0×10^2
60	0(min)	2.8×10^7	2.7×10^7
	5	2.1×10^3	1.3×10^3
	10	1.3×10^2	0
	15	0	0
	20	0	0
70	0(sec)	3.9×10^7	2.6×10^7
	30	3.5×10^3	2.2×10^2
	60	0	0
	90	0	0
	120	0	0
80	0(sec)	3.9×10^7	3.4×10^7
	15	2.3×10^2	4.2×10
	30	2.1×10	0
	45	0	0
	60	0	0

3. *Vibrio*속 세균의 환경 인자에 대한 저항성

1) 온도

*Vibrio*속 세균의 열에 대한 저항성 측정은 50°C에서

는 30~120분, 60°C에서는 5~20분, 70°C에서는 30~120초, 80°C에서는 15~60초 동안 일정 시간 간격으로 배양하면서 생균수를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 50°C에서는 *V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus* 모두 120분 배양한 결과 사멸하지는 않았고, 균수가 10⁵ CFU/ml 정도로 균수가 감소되었다. 60°C에서는 *V. vulnificus*는 10분, *V. parahaemolyticus*는 15분에 각각 사멸되었다. 70°C에서는 *V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus*는 60초에 사멸되었다. 80°C에서는 *V. vulnificus*는 30초, *V. parahaemolyticus*는 45초에 완전 사멸되었다. 열에 대한 저항성은 *V. parahaemolyticus*가

*V. vulnificus*보다 강한것으로 나타났다.

*Vibrio*속 세균의 저온에 대한 저항성 측정은 5, 0, -5°C 및 -18°C에서 8일간 배양하면서 2일 간격으로 생균수를 측정한 결과는 Table 4와 같다. 5°C 및 0°C에는 *V. parahaemolyticus*는 약 10² CFU/ml 정도의 균수만 감소하였으나, *V. vulnificus*는 5°C에서는 10⁵ CFU/ml, 0°C에서는 10⁴ CFU/ml 정도의 균수가 감소하였다. -5°C에서는 *V. vulnificus*는 8일만에 사멸하였으며, *V. parahaemolyticus*는 10⁵ CFU/ml 정도로 균수가 감소하였다. -18°C에서는 *V. vulnificus*는 4일, *V. parahaemolyticus*는 6일만에 사멸하였다. 저온 저항성은 *V. parahaemolyticus*가 *V. vulnificus*보다 강한 것으로 나타났다.

이상의 결과로 볼 때 *Vibrio*속 세균으로 인한 감염을 예방하기 위해서는 열처리외의 경우 60°C에서 20분, 저온인 경우 냉장온도에서는 예방이 어렵고 -18°C에서 8일 이상 저장해야만 안전한 것으로 판단되었다.

2) pH

산성에 대한 저항성 측정은 nutrient broth(2% NaCl)에 초기 pH를 3.0에서 6.0으로 조정하였고, 알칼리성에 대한 저항성을 측정하기 위하여 pH를 9.0에서 12.0으로 조정하여 48시간 배양한 후 균 증식을 확인한 결과는 Table 5와 같다. 산성에 대한 저항성은 *V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus* 모두 pH 5.0까지는 증식이 일어났으나 pH 4.5 이하에서는 증식하지 못하였다. 알칼리성에 대한 저항성은 *V. parahaemolyticus*는 pH 11.0, *V. vulnificus*는 pH 10.0까지 증식하였으며, 각각 pH 11.5와 10.5 이상에서는 증식하지 못하였다.

*V. parahaemolyticus*는 pH 5.0~11.0까지 증식하여 *V. vulnificus*보다는 pH에 저항성이 강한 것으로 나타났다. *Vibrio*속 세균은 다른 세균들과 달리 알칼리성에서도 잘 성장하는 것으로 나타났다.

2) NaCl 농도

NaCl 농도에 대한 저항성 측정은 NaCl 농도를 5.0~13.0%로 조정하여 48시간 배양한 후, 균의 증식을

Table 4. Resistance of *Vibrio* spp. against low temperature

Temp (°C)	Storage time (day)	Viable cell count (CFU/ml)	
		<i>V. parahaemolyticus</i> GB-9	<i>V. vulnificus</i> GB-7
5	0	4.4 × 10 ⁷	3.3 × 10 ⁷
	2	1.4 × 10 ⁷	1.4 × 10 ⁵
	4	1.0 × 10 ⁶	2.4 × 10 ⁴
	6	8.9 × 10 ⁵	5.0 × 10 ³
0	8	5.4 × 10 ⁵	7.7 × 10 ²
	0	4.4 × 10 ⁷	3.3 × 10 ⁷
	2	8.3 × 10 ⁶	1.9 × 10 ⁶
	4	1.2 × 10 ⁶	4.6 × 10 ⁵
-5	6	8.5 × 10 ⁵	4.8 × 10 ⁴
	8	5.0 × 10 ⁵	3.4 × 10 ³
	0	4.4 × 10 ⁷	3.3 × 10 ⁷
	2	5.8 × 10 ⁶	5.0 × 10 ⁶
-18	4	3.9 × 10 ⁴	5.0 × 10 ⁴
	6	1.1 × 10 ³	4.5 × 10 ²
	8	1.1 × 10 ²	0
	0	4.4 × 10 ⁷	3.3 × 10 ⁷
-18	2	4.3 × 10	3.2 × 10
	4	1.4 × 10	0
	6	0	0
	8	0	0

Table 5. pH resistance of *Vibrio* spp. isolated from marine

Strains	pH													
	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	9.0	9.5	10.0	10.5	11.0	11.5	12.0
<i>V. parahaemolyticus</i> GB-9	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-
<i>V. vulnificus</i> GB-7	-	-	-	-	++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-

-: No growth, +: Weak, ++: Medium, +++: Strong.

Table 6. Resistance of *Vibrio* spp. against NaCl concentration

Strains	Concentration of NaCl (%)								
	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0	13.0
<i>V. parahaemolyticus</i> GB-9	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>V. vulnificus</i> GB-7	+++	+	+	-	-	-	-	-	-

∴ No growth, +: Weak, ++: Medium, +++: Strong.

Table 7. The physiological and biochemical characteristics of *Vibrio* spp. isolated from the east coast of Gyeongbuk area

Characteristics	<i>V.</i>	<i>V.</i>
	<i>parahaemolyticus</i>	<i>vulnificus</i>
	positive %	positive %
Ortho-nitro-phenyl-galactoside (ONPG)	0	100
Arginine dihydrolase(ADH)	0	0
Lysine decarboxylase(LDC)	100	100
Ornithine decarboxylase(ODC)	96.4	80.0
Citrate utilization(CIT)	30.0	0
H ₂ S production	0	0
Urease(URE)	2.9	0
Tryptophane deaminase(TDA)	0	0
Indole production(IND)	100	100
acetoin production(VP)	0	0
Galatinase(GEL)	95.0	100
Glucose(GLU)	99.3	93.3
Mannitol(MAN)	94.2	86.7
Inositol(INO)	0	0
Sorbitol(SOR)	0	0
Rhamnose(RHA)	7.1	0
Sucrose(SAC)	0	0
Melibiose(MEL)	2.9	0
Amigdalain(AMY)	79.3	100
Arabinose(ARA)	76.4	0
Cytochrome oxidase(OX)	100	100
No. of strains tested	140	15

확인한 결과는 Table 6과 같다. *V. parahaemolyticus*는 10.0%, *V. vulnificus*는 7.0%의 NaCl 농도에서 균 증식이 일어났으나, 각각 그 이상의 농도에서는 균 증식이 없었다. NaCl 농도에 대한 저항성은 *V. parahaemolyticus*가 *V. vulnificus*보다 강한 것으로 나타났다.

4. *Vibrio*속 세균의 생화학적 특성 및 감수성시험

1) *Vibrio*속 세균의 생화학적 특성

경북 동해안에서 분리한 *V. parahaemolyticus* 140주, *V. vulnificus* 15주에 대한 생화학적 특성은 Table 7과 같다.

*V. parahaemolyticus*는 TCBS 배지에서 녹색의 집락을 형성하였으며, KIA 배지에서는 K/A 성상, gas 음성, H₂S 음성이었다. ONPG, arginine dihydrolase, tryptophane deaminase, acetoin production은 분리균주 모두 음성이었고, lysine 및 ornithine decarboxylase, galatinase, oxidase는 분리균주 90% 이상이 양성이었다. 당 이용능에서는 glucose, mannitol, arabinose는 대부분의 균주가 양성이었다고, inositol, sorbitol, sucrose 등은 음성이었다.

*V. vulnificus*는 CPC 배지에서 황색, TCBS 배지에서 녹색의 집락을 형성하였으며 집착성은 없었다. KIA 배지에서는 K/A 성상, gas 음성, H₂S를 생성하지 않았고, 대부분의 분리균주가 ONPG, lysine 및 ornithine decarboxylase, indole, galatinase 양성 반응을 보였으나, arginine dihydrolase, urease 및 citrate는 음성을 나타내었다. 당 이용능에서는 glucose, mannitol 양성이었다고, inositol, sorbitol, rhamnose, arabinose는 음성이었다.

2) 항생제 감수성

분리균 중에서 하절기에 가장 빈번히 발생하는 장염 비브리오 식중독의 원인균인 *V. parahaemolyticus* 16주를 대상으로 항생제 감수성을 시험한 결과는 Table 8과 같다. Chloramphenicol, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/sulbactam, ceftriaxone, nalidixic acid, gentamicin 등 6종의 항생제에 대하여 분리균 16주 모두 감수성을 나타내었으나, ampicillin은 12주, cephalothin은 8주, streptomycin과 ticarcillin은 각각 1주가 내성을 나타내었다. 이는 해수 및 어패류에 오염된 균이 내륙으로부터 유입된 오염물질 또는 바다양식장 유출수 등에 함유된 미분해 항생물질에 의하거나 내성균주가 해수를 오염시켜 항생제에 내성을 가지게 되는 것으로 생각된다. 김의 연구²²⁾는 *V. parahaemolyticus*

Table 8. Antibiotics sensitivity against *V. parahaemolyticus* strains

Antibiotics	Sensitive	Intermediate	Resistant
Streptomycin	1	14	1
Chloramphenicol	16	-	-
Cephalothin	-	8	8
Sulfamethoxazole/ trimethoprim	14	2	-
Ticarcillin	-	15	1
Kanamycin	1	15	-
Amoxicillin/clavulanic acid	16	-	-
Ciprofloxacin,	11	5	-
Ampicillin	-	4	12
Ampicillin/sulbactam	16	-	-
Ceftriaxone	16	-	-
Amikacin	2	14	-
Nalidixic acid	16	-	-
Gentamicin	16	-	-
Tetracycline	3	13	-
Cefoxitin	1	15	-

ATCC 17802 표준 균주의 항생제 감수성을 시험한 결과 ampicillin, carbeniciline, kanamycin에는 내성을 나타냈고, streptomycin, gentamicin, cephalothin 등 7종의 항생제에 대하여 감수성을 나타낸 것으로 보고하였다. 이 등²³⁾이 동해안 환경 가검물에서 분리한 *V. parahaemolyticus* 18주에 대하여 항생제 감수성을 시험한 결과 ampicillin은 13주, cephalothin은 5주, ticarcillin은 2주, kanamycin은 1주가 내성을 나타내어 본 실험 결과와 유사하였으며, 환자에서 분리한 20주 중에서 ampicillin과 ticarcillin에 대하여 각각 3주의 *V. parahaemolyticus*가 내성을 나타냈다고 보고하였다. 또한 강 등¹⁹⁾은 남해안 환경 가검물에서 분리한 *V. parahaemolyticus* 16주에 대한 항생제 감수성을 시험한 결과 내성을 보인 균주는 streptomycin은 5주, colistin은 4주, cephalothin은 2주, carbenicillin 및 nalidixic acid가 각각 1주가 내성을 나타냈다고 보고하였다. 따라서 장염비브리오로 인한 집단 식중독 발생시 감염자들에게 높은 감수성을 보인 항생제를 투여하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

IV. 결 론

경북 동해안의 포항, 경주, 영덕 및 울진의 4개 지역

에서 어패류, 해수, 기수를 채취하여 *Vibrio*속을 분리하고, 이들 분리균을 이용하여 생화학적 특성조사, 분포조사, 환경인자에 대한 저항성 시험 및 항생물질에 대한 감수성을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

어패류 및 해수 439건의 검체에서 *Vibrio*속 세균 155균주가 분리되어 35.3%의 분리율을 보였으며, *V. parahaemolyticus*가 140주(31.9%), *V. vulnificus*는 15주(3.4%)가 분리되었으나 콜레라의 원인균인 *V. cholerae*는 분리되지 않았다.

지역별 분리율은 포항지역이 41.5%(76주), 영덕 39.4%(28주), 울진 30%(18주), 경주 26.4%(33주)의 순으로 분리되었으며, 검체별로는 기수가 30주(71.4%), 해수 53주(47.3%), 어패류 72주(25.3%)의 순으로 분리되었다. 월별 분리율은 8월에 34주(55.7%)가 분리되어 가장 높은 분포를 나타내었다.

*V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus*의 생육 최적조건은 온도 30°C, pH는 8.0, NaCl 농도는 2%로 나타났다.

열에 대한 저항성은 60°C에서 *V. vulnificus*는 10분, *V. parahaemolyticus*는 15분에 사멸하였다. *V. parahaemolyticus*가 *V. vulnificus*보다 열에 대한 저항성이 강한것으로 나타났다. *Vibrio*속 세균의 저온에 대한 저항성은 -18°C에서 *V. vulnificus*는 4일, *V. parahaemolyticus*는 6일만에 사멸하여 저온 저항성은 *V. parahaemolyticus*가 *V. vulnificus*보다 강한것으로 나타났다.

pH에 대한 저항성은 *V. parahaemolyticus*는 pH 4.5 이하, 11.0 이상에서는 증식하지 않았고, *V. vulnificus*는 pH 4.5 이하, 10.0 이상에서는 증식하지 못하였다.

NaCl 농도에 대한 저항성은 *V. parahaemolyticus*는 10%, *V. vulnificus*는 7%의 농도까지 균 증식이 일어났으며, *V. parahaemolyticus*가 *V. vulnificus*보다 높은 것으로 나타났다.

V. parahaemolyticus 16주를 대상으로 항생제 감수성을 시험한 결과 ampicillin은 12주, cephalothin은 8주, streptomycin과 ticarcillin은 각각 1주가 내성을 나타내었다. 따라서 장염비브리오로 인한 집단 식중독 발생시 감염자들에게 높은 감수성을 보인 항생제를 투여하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Kcabra, J. J.: Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2, 19-25, 1972.
2. Krieg, N. R. and Holt, J. G. : *Bergey's manual of sys-*

- tematic bacteriology. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984.
3. Bauman, P. : Re-evaluation of taxonomy of *Vibrio*. *Curr. Microbiol.*, **4**, 127-132, 1980.
 4. 국립보건원 : 감염병실험실진단지침. 국립보건원, 1996.
 5. 국립보건원 : 2001년 발생한 콜레라 유형의 역학적 특성(전국). *감염병발생정보*, **12**(10), 119-121, 2001.
 6. Blake, P. A., Weaver, R. E. and Hollis, D. G. : Disease of human (other than Cholera) caused by *Vibrios*. *Annual Review of Microbiology*, **34**, 341-367, 1984.
 7. 吉田登 : *Vibrio vulnificus* によって 急死し 1部 検例. *傳染病學雜誌*, **64**(2), 236-241, 1990.
 8. 김영만 : 어패류의 비브리오패혈증균 오염과 그 대책. *한국식품위생학회지*, **8**(2), 13-21, 1993.
 9. 국립보건원 : 감염병실험실진단지침. 국립보건원, 1996.
 10. 주진우, 박민정, 허문수, 정초록 : 부산과 대천 해안에서 *V. vulnificus*와 *V. parahaemolyticus*의 분리 및 동정. *대한미생물학회지*, **35**(4), 309-316, 2000.
 11. Martinez-Manzanares : Relationship between indicators of fecal pollution in shellfish- growing water and occurrence of human pathogenic microorganisms in shellfish. *J. Food Prot.*, **55**, 609-614, 1992.
 12. 주진우 : 한국 남해안 일대의 해수, 해니, 및 각종 해산물에서 장염비브리오균의 분리 연구. *대한미생물학회지*, **18**(1), 1-9, 1983.
 13. 백성덕, 서민호, 김성광 : 해수, 어패류 및 생활하수에서의 *Vibrio*속의 분리 동정과 항생제 감수성. *계명대학교논문집*, **9**(3), 312-321, 1990.
 14. 손진창, 정광현, 허 완, 권오근, 박승우 : 경북 동해연안의 해수, 하수 및 어패류에서 *Vibrio*속의 분리와 분포에 관한 조사. *경북보건환경연구원보*, **13**, 29-46, 2000.
 15. 주진우 : 한국 흑산도와 홍도해안의 *Vibrio* species 분리. *대한미생물학회지*, **25**(2), 107-114, 1990.
 16. Todd, E. C. D. : Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. *J. Food. Prot.*, **52**, 595-601, 1989.
 17. 김순천, 김개환, 조성완, 박종태, 이 향, 전두영, 하동룡 : 전남해안지역에서의 *Vibrio* spp. 분포와 생태. *전남보건환경연구원보*, **2**, 7-17, 1990.
 18. 양송주, 김형선, 권지영, 장수현, 김영만 : 금강하구에 있어서 *Vibrio vulnificus*의 생태학적 특성. *식품위생안전성학회*, **10**(2), 53-59, 1995.
 19. 강동훈, 전상수, 정덕화, 조성환 : 남해연안에 분포되어 있는 *Vibrio parahaemolyticus*의 성장 및 Grapefruit Seed Extract 처리에 의한 항균효과. *식품위생안전성학회*, **9**(3), 141-149, 1994.
 20. 이인숙, 이정복, 박용배, 강정복, 이명진 : 경기도 연안의 장염비브리오 분포조사 및 각종 환경이 장염비브리오균 증식에 미치는 영향 조사 연구. *경기도보건환경연구소보*, **3**, 55-70, 1989.
 21. 월간첨단환경기술 : 2002 환경산업총람. 서울, 환경관리연구소, 2002.
 22. 김상철 : *Vibrio parahaemolyticus*의 환경인자에 대한 저항성. 석사학위논문, 경북대학교, 1987.
 23. 이상조, 김미정, 정종교, 이도영 : 경북지역에서 분리된 *Vibrio*속의 분자생물학적 연구(2000~2001). *경북보건환경연구원보*, **14**, 9-47, 2001.