

곰소만 해역 해수에서 분리한 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*)의 항균제 내성 및 최소발육억제농도의 구명

김태옥 · 엄인선 · 김희대¹ · 박권삼*

군산대학교 식품생명공학과, ¹충북도립대학 바이오생명의약과

Antimicrobial Resistance and Minimum Inhibitory Concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* Strains Isolated from Gomso Bay, Korea

Tae-Ok Kim, In-Seon Um, Hee-Dai Kim¹ and Kwon-Sam Park*

Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea
¹Department of Biotechnology and Biomedicine, Chungbuk Provincial College, Cheongju 28160, Korea

Seventy-nine *Vibrio parahaemolyticus* isolates from surface seawater from Gomso Bay, west coast of Korea, were analyzed for the presence of virulence genes and their susceptibility to 30 different antimicrobials. All 79 isolates were examined for the presence of two virulence genes (*tdh* or *trh*) using polymerase chain reaction (PCR); however, no isolates possessed either the *tdh* or *trh* gene. According to a disk diffusion susceptibility test, all of the strains studied were resistant to oxacillin, penicillin, and vancomycin, followed by ticarcillin (97.5%), ampicillin (96.2%), clindamycin (86.1%), erythromycin (10.1%), streptomycin (7.6%), cefoxitin (6.3%), amikacin (2.5%), and cephalothin (2.5%). However, all of the strains were susceptible to 19 other antimicrobials including cefepime, ceftaxime, chloramphenicol, gentamycin, nalidixic acid, sulfamethoxazole/trimethoprim, and trimethoprim. All 79 isolates (100%) were resistant to four or more classes of antimicrobials, and two strains exhibited resistance to eight antimicrobial agents. The average minimum inhibitory concentrations (MICs) for *V. parahaemolyticus* for ampicillin, penicillin, ticarcillin, and vacomycin were 946.5, 1,305.9, 1,032.3, and 45.0 µg/mL, respectively.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Antimicrobial resistance, Virulence genes, Minimum inhibitory concentration, Gomso Bay

서론

장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*)는 그람 음성, 간균, 무포자, 저도 호염성균으로 해수 또는 기수에서 서식하며 이 균에 오염된 어패류를 생식하거나 불충분하게 가열 처리된 수산물물을 섭취하면 주로 복통, 설사, 구토, 오한 및 미열 등을 동반하는 급성위장염 증상을 유발하는 식중독 원인세균이다(Honda and Iida, 1993; Zhang and Orth, 2013). 식품의약품안전처 식품안전정보포털의 식중독통계에 의하면 2006년부터 2015년까지 10년 동안 우리나라에서 발생한 장염비브리오에 의한 식중독 사고는 주로 6월에서 10월 사이의 하절기에 발생하였으

며 사고 건수 및 환자수는 전체 세균성 식중독 사고의 12.5% 및 5.4%를 차지하며 이 균에 의한 식중독 사고는 과거보다는 감소 추세이나 지속적으로 발생하고 있다(MFDS, 2016). 이 균이 생산하는 대표적인 병원성 독소는 내열성용혈독(thermostable direct hemolysin, TDH), 내열성용혈독 관련용혈독(TDH-related hemolysin, TRH) 및 type III secretion systems (TTSS 1 및 2)를 통해 분비되는 각종 effector 단백질 등이 보고되어 있으나 정확한 병원성 메커니즘에 관한 설명은 아직도 부족한 실정이다(Honda and Iida, 1993; Park et al., 2004; Letchumanan et al., 2014; Wang et al., 2015). 해수 또는 어패류 등 자연계에서 분리한 대부분의 장염비브리오는 병원성 인자를 보유하지 않은

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0582>



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/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 49(5) 582-588, October 2016

Received 8 August 2016; Revised 31 August 2016; Accepted 1 September 2016

*Corresponding author: Tel: +82. 63. 469. 1822 Fax: +82. 63. 469. 7448

E-mail address: parkks@kunsan.ac.kr

비병원성 균주인 반면 식중독 사고의 환자 가검물에서 분리한 장염비브리오는 대부분 병원성 유전자를 보유하고 있는 것으로 알려져 있다(Sakazaki et al., 1968; Honda and Iida, 1993). 따라서 장염비브리오의 위해 평가 또는 기준규격을 설정하는 경우에는 시료 중의 장염비브리오 전체 균수 보다는 병원성 유전자를 보유하는 장염비브리오의 균수로 고려해야 할 필요가 있다고 판단된다.

페니실린 발견 이후 다양한 종류의 항균제는 사람과 동물의 치료, 질병예방 및 성장촉진 등의 목적으로 사용되고 있다. 지속적인 항균제의 사용은 양식어류 및 해수 유래 장염비브리오에서 다양한 항균제 내성균의 증가를 가중시키는 결과로 나타나고 있다(Son et al., 2005; Lee et al., 2007; Oh et al., 2008; Lee et al., 2009; Ryu et al., 2010; Yu et al., 2010; Kim et al., 2014; Kang et al., 2016; Kim et al., 2016). 세균이 항균제 내성을 갖게 되는 이유는 분해 효소에 의한 항균제의 불활성화, 표적 항균 물질의 변화, 세포막의 항균제 투과성 변화 및 세포 밖으로 항균제의 유출 등의 다양한 방법에 의한 것으로 알려져 있으며 이들 메커니즘이 단독 또는 복합적으로 작용하여 세균은 항균제에 내성을 갖게 된다. 획득 내성은 세균 염색체의 유전자 변이, plasmid 또는 transposon에 매개되는 내성유전자의 획득에 의해 생기며, 내성 유전자는 염색체 또는 plasmid에 존재한다(Kuhl et al., 1978). 그람 음성 세균에서 항균제 다제내성유전자가 삽입되어 있는 integron은 세균 염색체에서 이동성을 가진 DNA 단편인 transposon을 통하여 유전자의 한 복제단위에서 다른 복제 단위로 이동되는데 일반적으로 접합을 통하여 동종 및 이종 세균으로 확산된다고 보고되어 있다(Rowe-Magnus and Mazel, 2002).

다양한 유래의 장염비브리오에 대한 항균제 내성 연구보고는 다수 존재하나 내성 항균제에 대한 최소발육억제농도에 관한 연구논문은 거의 없는 실정이다. 따라서 본 논문은 장염비브리오의 각종 항균제 내성 및 내성 항균제의 최소발육억제농도에 대한 기초자료를 얻기 위하여 2014년 6월부터 2015년 10월까지 전북 곰소만 해역의 표층 해수에서 분리한 장염비브리오 79 균주를 대상으로 항균제 내성 양상 및 내성 항균제에 대한 최소발육억제농도를 검토하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 시약

실험에 사용한 장염비브리오는 2014년 6월부터 2015년 10월까지 전북 곰소만해역의 표층 해수에서 분리한 장염비브리오 79균주와 병원성 유전자 유무를 확인하기 위하여 장염비브리오 RIMD2210633 (Makino et al., 2003) 및 TH3996 (Park et al., 2000)를 표준 균주로 사용하였다. 항균제 감수성 정도 관리를 위하여 *Escherichia coli* ATCC 25922와 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923을 사용하였다. 유전자 증폭을 위한 각종

효소는 Takara (Otsu, Japan)사의 제품, 항균제 디스크는 Becton Dickinson (BBL Sensi-Disk, Sparks, MD, USA)사의 제품 및 각종 항균제는 Sigma (St. Louis, MO, USA)사의 제품을 사용하였다.

장염비브리오의 분리 및 동정

표층 해수의 장염비브리오는 식품공전에서 제시한 방법에 준하여 분리하였다(MFDS, 2016). 표층 해수는 선박을 이용하여 채수기로 멸균채수병에 채수 후 얼음이 채워진 아이스박스에 넣어 4℃로 유지하면서 실험실로 옮겨 실험에 사용하였다. 해수 10 mL를 double strength alkaline peptone water (Merck, Darmstadt, Germany) 10 mL에 접종하여 35℃에서 18-24시간 배양 후 thiosulfate-citrate-bile-salts (TCBS) agar (Difco, Detroit, MI, USA)에 백금으로 접종 후 35℃에서 18-24시간 배양하였다. TCBS 배지에서 장염비브리오로 추정되는 전형적인 3-5 mm 크기의 청록색 집락을 triple sugar iron agar (Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하고 35℃에서 24시간 배양한 후 전형적인 반응을 나타내는 균주는 API 20E system (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, France)으로 생화학적 시험을 실시하여 일차적으로 장염비브리오로 동정하였다. 또한 장염비브리오 동정에 이용되고 있는 *toxR* (Kim et al., 1999) 및 *hns* (No et al., 2011) 유전자의 존재 유무는 PCR assay로 확인하였으며 두 유전자 존재가 확인된 균주에 한하여 최종적으로 장염비브리오로 동정하였다. 동일 균주의 중복 분리를 배제하기 위하여 하나의 해수 시료에서 한 균주의 장염비브리오만을 분리하였다. 동정이 완료된 장염비브리오는 Luria-Bertani (tryptone 1%, yeast-extract 0.5%, NaCl 3%) broth에 배양 후 최종 농도 15%가 되도록 멸균된 글리세린을 첨가하여 cryovial storage box (Simport, Canada)에 넣어 -80℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

DNA 증폭용 primer set

실험에 사용한 DNA 증폭용 primers의 염기서열 및 예상 증폭 DNA 크기 등은 Table 1과 같다. Primers는 Bioneer (Daejeon, Korea)에 의뢰 합성하였다. TDH, TRH, *toxR* 및 H-NS 유전자 DNA 증폭을 위한 PCR 조건은 95℃에서 3분간 1회 열 변성 후 95℃ 30초, 55℃ 30초, 72℃ 30초를 한 단위로 하여 이를 30회 반복하여 DNA를 증폭하였다. 증폭된 DNA 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동 후 ethidium bromide로 염색하여 Vilber Lourmat (Bio-Paint ST4, France)사 Gel-Doc system으로 확인하였다.

항균제 감수성 시험

각종 항균제에 대한 감수성은 Acar and Goldstein (1991)의 디스크확산법과 미국 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002)에 준하여 시험하였다. 식염 3% 첨가된 LB broth에 시험 균주를 접종하여 35℃에서 하룻밤 배양한 후 멸균 생리식염수로 2회 세정하고 농도를 McFar-

Table 1. Primers used in this study

Target gene	Oligonucleotide sequence	Amplicon size (bp)	Reference
<i>toxR</i>	5'-AGCCCGCTTTCTTCAGACTC-3' 5'-AACGAGTCTTCTGCATGGTG-3'	399	Kim et al., 1999
<i>tdh</i>	5'-GTAAGGTCTCTGACTTTTGGAC-3' 5'-TGGAATAGAACCCTTCATCTTCACC-3'	269	Lee and Park, 2010
<i>trh</i>	5'-TTGGCTTCGATATTTTCAGTATCT-3' 5'-CATAACAAACATATGCCCATTTCCG-3'	486	Lee and Park, 2010
<i>hns</i>	5'-AAACACGTTAACCTATTAATAGG-3' 5'-AACGGGAGCCTTTTAAACAAGA-3'	465	No et al., 2011

land No. 0.5로 조정하여 두께 0.4 mm의 Muller Hinton agar (Merck, Germany) 평판에 균을 도말 하였다. 여기에 검사 항균제 디스크를 고착하여 35°C에서 16-18시간 배양한 후 각 항균제에 의해 형성된 생육저지환의 크기를 측정하고 표준 지표에 따라 감수성 여부를 평가하였다. 시험 항균제는 amikacin (AK; 30 µg), ampicillin (AMP; 10 µg), cefepime (FEP; 30 µg), cefotaxime (CTX; 30 µg), cefotetan (CTT; 30 µg), cefoxitin (FOX; 30 µg), cefuroxime (CXM; 30 µg), ceftriaxone (CRO; 30 µg), cephalothin (KF; 30 µg), cephazolin (KZ; 30 µg), chloramphenicol (C; 30 µg), ciprofloxacin (CIP; 5 µg), clindamycin (CC; 2 µg), erythromycin (E; 15 µg), gentamicin (GN; 10 µg), imipenem (IPM; 10 µg), kanamycin (K; 30 µg), nalidixic acid (NA; 30 µg), nitrofurantoin (F; 100 µg), norfloxacin (NOR; 10 µg), oxacillin (OX; 1 µg), penicillin (P; 10 µg), pipemidic acid (PIP; 20 µg), rifampin (RD; 5 µg), streptomycin (S; 10 µg), sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT; 23.75/1.25 µg), tetracycline (TE; 30 µg), ticarcillin (TIC; 75 µg), trimethoprim (W; 5 µg), vancomycin (VA; 30 µg) 등 30종의 항균제 디스크를 사용하였다.

최소발육억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 측정

최소발육억제농도는 미국 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002)에 기초하여 변법으로 측정하였다. 멸균된 Muller Hinton broth (Merck, Germany)에 2,048 µg/mL에서 1 µg/mL까지 절반씩 농도를 달리한 항균제를 첨가한 후 멸균된 소형시험관에 각 농도의 항균제가 첨가된 배지를 2 mL씩 분주하였다. 여기에 식염이 3% 첨가된 LB broth에서 하룻밤 전 배양한 시험균액 3 µL를 접종하여 35°C에서 18시간 정치 배양한 후 균 증식 여부는 육안으로 확인하여 최소발육억제농도를 측정하였다.

결과 및 고찰

곰소만 표층해수에서 분리한 장염비브리오의 특성

해수 유래 장염비브리오의 항균제 내성 양상 및 최소발육억제



Fig. 1. Location of sampling stations in Gomso Bay, Korea, from June 2014 to October 2015.

농도를 검토하기 위하여 2014년 6월부터 2015년 10월까지 전북 곰소만 해역 10개 지점에서 10회 시료를 채취하여 총 100개 해수 시료에서 79균주의 장염비브리오를 분리하였다. 해수 채취 지점은 Fig. 1에 나타내었다. 장염비브리오의 분리는 식품공전에서 제시하는 방법에 따라 실시하였으며 동정은 생화학적 시험 및 유전학적 방법 즉, *toxR* (Kim et al., 1999) 및 *hns* (No et al., 2011) 유전자의 존재 유무로 확인하였으며 두 유전자를 보유하는 균주는 최종적으로 장염비브리오로 동정하였다. 그 결과 79균주에서는 *toxR* 및 *hns* 유전자의 예상 DNA 증폭 산물과 동일한 크기의 DNA 단편이 전기영동 결과 확인되었다(자료 미제시). 생화학적 시험에서 장염비브리오로 동정되었으나 *toxR* 및 *hns* 유전자 모두 증폭이 확인되지 않은 6균주는 장염비브리오가 아닌 것으로 판명되었기에 실험에 사용하지 않았다. 과거 대부분의 연구에서 장염비브리오 동정을 생화학적 결과만으로 동정한 사례가 많았기 때문에 장염비브리오가 아닌 비브리오속의 균주도 실험에 포함했을 가능성이 대두된다. 따라서 장염비브리오의 분리 및 동정의 정확성을 높이기 위해서는 생화학적 결과뿐만 아니라 *toxR* 및 *hns* 유전자의 존재유무까지 확인하는 것이 반드시 필요하다고 판단된다. 병원성 유전자의 보유성을 PCR assay로 검토한 결과, 표준균주에서는 병원성 유전자의 증폭이 확인된 반면, 분리된 79균주에서는 TDH

또는 TRH 유전자가 증폭된 균주는 없었다(자료 미제시). 환경 유래 장염비브리오의 병원성 유전자 보유율은 매우 낮은 것으로 보고되어 있었으나(Shirai et al., 1990), 최근에는 새로운 검출 방법의 개발로 인하여 환경 유래 장염비브리오에서 병원성 유전자를 보유하고 있는 균주의 검출율은 높아지고 있는 추세이다(Deepanjali et al., 2005; Jones et al., 2012; Ellingsen et al., 2013; Gutierrez et al., 2013; Kang et al., 2016; Kim et al., 2016). 결과적으로 곰소만 해역의 표층해수에서 분리된 79균주는 병원성 유전자를 보유하지 않은 비병원성 장염비브리오인 것으로 확인되었다.

장염비브리오의 항균제 내성 양상

해수 및 어패류 등 다양한 환경시료에서 분리한 장염비브리오는 amikacin, ampicillin, cephalothin, cefoxitin, gentamicin, kanamycin, rifampin, streptomycin 및 vancomycin 등의 단독 항균제에 내성을 나타낼 뿐만 아니라 다제내성균의 검출 빈도도 높은 것으로 보고되어 있다(Son et al., 2005; Lee et al., 2009; Ryu et al., 2010; Han et al., 2012; Kim et al., 2014; Kang et al., 2016; Kim et al., 2016). 곰소만 해역 해수에서 분리한 장염비브리오 79균주를 대상으로 30 종의 항균제에 대한 감수성 여부를 디스크확산법으로 측정된 결과는 Table 2와 같다. 30종의 항균제 중 11종의 항균제는 79균주 또는 일부 균주에서 내성을 나타내었으며, 나머지 19종의 항균제에 대해서는 모든 균주에서 감수성을 나타내었다. 내성율이 높은 항균제는 oxacillin, penicillin, vancomycin, ticarcillin, ampicillin, clindamycin, erythromycin, streptomycin, cefoxitin, amikacin 및 cephalothin 순서였다. 내성율은 oxacillin, penicillin 및 vancomycin은 100%의 내성을 나타내며, ticarcillin (97.5%), ampicillin (96.2%), clindamycin (86.1%), erythromycin (10.1%), streptomycin (7.6%), cefoxitin (6.3%), amikacin (2.5%) 및 cephalothin (2.5%) 이었다. Cefotaxime을 포함한 19종의 항균제에 대해서는 모든 균주는 감수성을 나타내었다. 이 결과는 과거에 보고된 여러 결과와 크게 다르지 않았으며, 각종 항균제에 대한 장염비브리오의 내성 및 감수성 비율은 분리원, 분리 시기 및 분리 장소 등의 요인에 따라 차이가 있다는 기존의 연구결과와 대체로 일치하는 결과였다(Son et al., 2005; Lee et al., 2007; Lee and Park, 2010; Ryu et al., 2010; Han et al., 2012; Kim et al., 2014; Kang et al., 2016; Kim et al., 2016). 또한 실험에 사용한 79균주에 대한 항균제 내성 양상에 관한 결과는 Table 3과 같다. 4종의 항균제에 내성을 나타내는 균주는 1균주(1.3%)였으며, 5종의 항균제에 내성을 나타내는 균주는 9균주(11.4%), 6종의 항균제에 내성을 나타내는 균주는 54균주(68.4%), 7종의 항균제에 내성을 나타내는 균주는 13균주(16.5%) 및 8종의 항균제에 내성균은 2균주(2.5%)로 파악되었다. 가장 높은 빈도의 항균제 내성 조합은 AMP-CC-OX-P-TIC-VA로 50균주(63.3%)이었으며, 다음으로 AMP-OX-P-TIC-VA은 8균주

Table 2. Antimicrobial susceptibility and resistance of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from surface seawater in Gomso Bay

Antimicrobials	Disc content (µg)	No. of isolates		
		Resistant	Intermediate	Susceptible
Amikacin (AK)	30	2	4	73
Ampicillin (AMP)	10	76	3	0
Cefepime (FEP)	30	0	2	77
Cefotaxime (CTX)	30	0	0	79
Cefotetan (CTT)	30	0	2	77
Cefoxitin (FOX)	30	5	16	58
Cefuroxime (CXM)	30	0	5	74
Ceftriaxone (CRO)	30	0	0	79
Cephalothin (KF)	30	2	7	70
Cephazolin (KZ)	30	0	11	68
Chloramphenicol (C)	30	0	1	78
Ciprofloxacin (CIP)	5	0	8	71
Clindamycin (CC)	2	68	11	0
Erythromycin (E)	15	8	6	65
Gentamicin (GN)	10	0	1	78
Imipenem (IPM)	10	0	0	79
Kanamycin (K)	30	0	1	78
Nalidixic acid (NA)	30	0	1	78
Nitrofurantoin (F)	100	0	22	57
Norfloxacin (NOR)	10	0	3	76
Oxacillin (OX)	1	79	0	0
Penicillin (P)	10	79	0	0
Pipemidic acid (PIP)	20	0	2	77
Rifampin (RD)	5	0	4	75
Streptomycin (S)	10	6	2	71
Sulfamethoxazole /Trimethoprim (SXT)	25	0	0	79
Tetracycline (TE)	30	0	1	78
Ticarcillin (TIC)	75	77	2	0
Trimethoprim (W)	5	0	2	77
Vancomycin (VA)	30	79	0	0

(10.1%) 및 AMP-CC-OX-P-S-TIC-VA은 6균주(7.6%)로 파악되었으며 기타 항균제 내성 조합 빈도는 4균주 이하로 낮은 편이었다(Table 3). 결과적으로 곰소만 해역 표층해수에서 분리한 장염비브리오는 최소 4종 이상의 항균제에 내성을 나타내고 있다는 점에서 심각성은 매우 크다고 판단된다. 이렇게 다제내성을 나타내는 이유로는 곰소만으로 유입되는 육상유입수에 항균제가 포함되어 있어 해수 중의 장염비브리오가 항균제 내성을 획득하게 되었거나, 항균제 내성을 갖고 있는 균주가 보유하

Table 3. Antimicrobial resistance patterns of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from surface seawater in Gomso Bay

Resistance type	No. of resistant strains
CC-OX-P-VA	1
AMP-OX-P-TIC-VA	8
CC-FOX-OX-P-VA	1
AK-CC-E-OX-TIC-VA	1
AMP-E-OX-P-TIC-VA	2
AMP-CC-OX-P-TIC-VA	50
AMP-KF-OX-P-TIC-VA	1
AMP-CC-OX-P-S-TIC-VA	6
AMP-CC-E-OX-P-TIC-VA	3
AMP-CC-FOX-OX-P-TIC-VA	3
AMP-CC-KF-OX-P-TIC-VA	1
AK-AMP-CC-E-OX-P-TIC-VA	1
AMP-CC-E-FOX-OX-P-TIC-VA	1
Total	79

AK, amikacin; AMP, ampicillin; CC, clindamycin; E, erythromycin; FOX, cefoxitin; KF, cephalothin; OX, oxacillin; P, penicillin; S, streptomycin; TIC, ticarcillin; VA, vancomycin.

고 있는 plasmid가 장염비브리오에 수평적 전이가 있었거나 또는 해수에 존재하는 장염비브리오의 특이적인 bacteriophage에 존재하는 항균제 내성유전자가 장염비브리오에 수평적 전이를 통해 내성유전자를 획득하였을 것으로 추정된다.

장염비브리오의 최소발육억제농도 측정

내성을 나타내는 11종 항균제의 장염비브리오에 대한 최소발육억제농도를 측정된 결과는 Table 4과 같다. Amikacin에 내성을 나타내는 2균주의 MIC는 32 및 16 µg/mL이었으며, 감수성을 나타내는 나머지 77 균주의 MIC는 1 µg/mL 이하로 측정되었다. Ampicillin에 내성을 나타내는 균주의 MIC가 2,048 µg/mL인 균주는 8균주(10.1%), 1,024 µg/mL의 MIC를 나타내는 균주는 41균주(51.9%), 512 µg/mL의 MIC를 나타내는 균주는 26균주(32.9%) 및 256 µg/mL의 MIC를 나타내는 균주는 1균주 (1.3%)로 파악되었으며 감수성을 나타내는 3균주(3.8%)의 MIC는 2.0 µg/mL이었다.

Ampicillin에 내성을 나타내는 균주의 MIC의 평균은 946.5 µg/mL로 확인되었다. 이 결과는 자연계에서 분리한 장염비브리오는 일반적으로 ampicillin에 고도 내성을 나타내고 있다는 기존의 결과와 대체로 유사하였다(Tanil et al., 2005; Lee et al., 2009; Lee and Park, 2010; Kim et al., 2014). Clindamycin에 내성을 나타내는 균주의 MIC는 대체로 낮아 평균 16.0 µg/

Table 4. Minimum inhibitory concentration of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from surface seawater in Gomso Bay

Antimicrobials	µg/mL												
	>1	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048
Amikacin	77 (97.4%)					1 (1.3%)	1 (1.3%)						
Ampicillin			3 (3.8%)						1 (1.3%)	26 (32.9%)	41 (51.9%)	8 (10.1%)	
Cindamycin		11 (13.9%)			26 (32.9%)	29 (36.7%)	13 (16.5%)						
Erythromycin	71 (89.8%)			3 (3.8%)	4 (5.1%)	1 (1.3%)							
Cefoxitin	74 (93.7%)				3 (3.8%)	2 (2.5%)							
Cephalothin		16 (20.3%)	61 (77.2%)							2 (2.5%)			
Oxacillin									31 (39.2%)	42 (53.2%)	6 (7.6%)		
Penicillin										4 (5.1%)	6 (7.6%)	41 (51.9%)	28 (35.4%)
Streptomycin	73 (92.4%)					5 (6.3%)	1 (1.3%)						
Ticarcillin					2 (2.5%)				1 (1.3%)		23 (29.1%)	40 (50.6%)	13 (16.5%)
Vancomycin						6 (7.6%)	43 (54.4%)	30 (38.0%)					

mL로 확인되었으며 감수성을 나타내는 11균주의 MIC는 2.0 µg/mL이었다. 또한 erythromycin, streptomycin 및 cefoxitin에 대한 MIC는 매우 낮은 농도로 파악되었다. Cephalothin에 대한 MIC는 평균 256 µg/mL로 확인되었으며, oxacillin의 평균 MIC는 225.2 µg/mL로 확인되었다. Penicillin 및 ticarcillin에 대한 MIC는 대체로 높은 농도로 평균 1,305.9 µg/mL 및 1,032.3 µg/mL로 확인되었으며, vancomycin에 대한 MIC는 45.0 µg/mL로 확인되었다. 결과적으로 장염비브리오는 ampicillin, penicillin, ticarcillin oxacillin 및 cephalothin 등의 항균제에 대해서는 MIC가 대체로 높은 반면 amikacin, clindamycin, erythromycin, cefoxitin, streptomycin, vancomycin 등의 MIC는 상대적으로 낮은 것으로 확인되었다(Table 4).

본 실험에 제공된 곰소만 해역에서 분리한 79균주 모든 장염비브리오는 4종 이상의 항균제에 내성을 나타낼 뿐만 아니라 ampicillin, penicillin, 및 ticarcillin에 대한 MIC는 다른 항균제에 비해 대체로 높은 것으로 확인되었다. 또한 다수의 항균제에 대해서도 내성 보유 현상이 보편화되어 있다는 점에서 장염비브리오의 항균제 내성에 관한 꾸준한 모니터링은 필요하다고 판단된다. 더불어 다양한 항균제 내성 유전자의 동정 및 염색체 DNA상에서의 존재 양상 등의 파악은 내성유전자의 획득 및 확산 메커니즘을 이해하는데 큰 도움이 될 것으로 기대된다.

References

- Acar JF and Goldstein FW. 1991. Disk susceptibility test. In: Antibiotics in Laboratory Medicine, Lorian V, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A., 17-52.
- Deepanjali A, Kumar HS, Karunasagar I and Karunasagar I. 2005. Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India. *Appl Environ Microbiol* 71, 3575-3580.
- Ellingsen AB, Olsen JS, Granum PE, Rørvik LM and González-Escalona N. 2013. Genetic characterization of *trh* positive *Vibrio* spp. isolated from Norway. *Front Cell Infect Microbiol* 3, 1-10. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2013.00107>.
- Gutierrez West CK, Klein SL and Lovell CR. 2013. High frequency of virulence factor genes *tdh*, *trh*, and *tlh* in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from a pristine estuary. *Appl Environ Microbiol* 79, 2247-2252. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.03792-12>.
- Han AR, Yoon YJ and Kim JW. 2012. Antibiotic resistance and plasmid profile of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from Kyunggi-Incheon coastal area. *Korean J Microbiol* 48, 22-28.
- Honda T and Iida T. 1993. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins. *Rev Med Microbiol* 4, 106-113.
- Jones JL, Ludeke CH, Bowers JC, Garrett N, Fischer M, Parsons MB, Bopp CA and DePaola A. 2012. Biochemical, serological, and virulence characterization of clinical and oyster *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *J Clin Microbiol* 50, 2343-2352. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00196-12>.
- Kang CH, Shin Y, Kim W, Kim Y, Song K, Oh EG, Kim S, Yu H and So JS. 2016. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters in Korea. *Environ Sci Pollut Res Int* 23, 918-926. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-5650-9>.
- Kim SK, An SR, Park BM, Oh EG, Song KC, Kim JW and Yu HS. 2016. Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the oyster *Crassostrea gigas*. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 116-123. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0116>.
- Kim TO, Eum IS, Jo SM, Kim HD and Park KS. 2014. Antimicrobial-resistance profiles and virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seawater in the Wando area. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 220-226. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0220>.
- Kim YB, Okuda J, Matsumoto C, Takahashi N, Hashimoto S and Nishibuchi M. 1999. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *J Clin Microbiol* 37, 1173-1177.
- Kuhl SA, Pattee PA and Baldwin NJ. 1978. Chromosomal map location of the methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 135, 460-465.
- Lee H, Oh YH, Park SG and Choi SM. 2007. Antibiotic susceptibility and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the seafood. *Kor J Env Hlth* 33, 16-20.
- Lee HW, Lim SK and Kim MN. 2009. Characteristics of ampicillin-resistant *Vibrio* spp. isolated from a west coastal area of Korea peninsula. *J Kor Fish Soc* 42, 20-25.
- Lee KW and Park KS. 2010. Antibiotic-resistance profiles and the identification of the ampicillin-resistance gene of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seawater. *Korean J Fish Aquat Sci* 43, 637-641. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2010.0637>.
- Letchumanan V, Chan KG and Lee LH. 2014. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Front Microbiol* 5, 705. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00705>.
- Makino K, Oshima K, Kurokawa K, Yokoyama K, Uda T, Tagomori K, Iijima Y, Najima M, Nakano M, Yamashita A, Kubota Y, Kimura S, Yasunaga T, Honda T, Shinagawa H, Hattori M and Iida T. 2003. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*. *Lancet* 361, 743-749.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). 2016. Retrieved from http://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthy-foodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=519&menu_grp=MENU_GRP02 on August 1.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2002. Performance standards for antimicrobial sus-

- ceptibility testing. Twelfth informational supplement M100-S12. Wayne, Pennsylvania, U.S.A., 19087-19098.
- No AR, Okada K, Kogure K and Park KS. 2011. Rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus* by PCR targeted to the histone-like nucleoid structure (H-NS) gene and its genetic characterization. *Lett Appl Microbiol* 53, 127-133. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03072.x>.
- Oh EG, Yu HS, Shin SB, Son KT, Park KB, Kwon JY, Lee TS and Lee HJ. 2008. Trimethoprim resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the fish farm. *J Kor Fish Soc* 41, 324-329.
- Park KS, Iida T, Yamaichi Y, Oyagi T, Yamamoto K and Honda T. 2000. Genetic characterization of DNA region containing the *trh* and *ure* genes of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect Immun* 68, 5742-5748.
- Park KS, Ono T, Rokuda M, Jang MH, Okada K, Iida T and Honda T. 2004. Functional characterization of two type III secretion systems of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect Immun* 72, 6659-6665.
- Rowe-Magnus DA and Mazel D. 2002. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. *Int J Med Microbiol* 292, 115-125.
- Ryu SH, Hwang YO, Park SG and Lee YK. 2010. Antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from commercial marine products. *Korean J Food Sci Technol* 42, 508-513.
- Sakazaki R, Tamura K, Kato T, Obara Y and Yamai S. 1968. Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacterium, *Vibrio parahaemolyticus*. 3. Enteropathogenicity. *Jpn J Med Sci Biol* 21, 325-331.
- Shirai H, Ito H, Hirayama T, Nakamoto Y, Nakabayashi N, Kumagai K, Takeda Y and Nishibuchi M. 1990. Molecular epidemiological evidence for association of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* with gastroenteritis. *Infect Immun* 58, 3568-3573.
- Son KT, Oh EG, Lee TS, Lee HJ, Kim PH and Kim JH. 2005. Antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* from farms on the southern coast of Korea. *J Kor Fish Soc* 38, 365-371.
- Tanil GB, Radu S, Nishibuchi M, Rahim RA, Napis S, Maurice L and Gunsalam JW. 2005. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from coastal seawater in peninsular Malaysia. *Southeast Asian J Trop Public Health* 36, 940-945.
- Wang R, Zhong Y, Gu X, Yuan J, Saeed AF and Wang S. 2015. The pathogenesis, detection, and prevention of *Vibrio parahaemolyticus*. *Front Microbiol* 6, 144. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00144>.
- Yu HS, Park KB, Oh EG, Lee TS, Shin SB, Kwon JY, Kim JH and Son KT. 2010. Trimethoprim resistance by class I integron in *Vibrio parahaemolyticus* from a fish farm. *Korean J Fish Aquat Sci* 43, 125-130.
- Zhang L and Orth K. 2013. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Curr Opin Microbiol* 16, 70-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.02.002>.