

仁川 地域 海水 및 海産物에서의 腸炎비브리오菌 分離에 關한 研究

鄭璟錫*·李喜珠**

仁川看護保健專門大學* · 仁川基督病院**

Studies on the Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from the Sea Water and Marine Products in Incheon

Kyung Suck Chung* and Hee Joo Lee**

* *Department of Clinical Pathology, Incheon Junior Nursing
College & Allied Health Sciences*

** *Department of Clinical Pathology, Incheon Christian Hospital*

Abstract

V. parahaemolyticus is a species of gram-negative asporogenous rod which gives rise to gastroenteritis in man and widely distributed in Korea.

In this study, the distribution of *V. parahaemolyticus* among sea water and various marine products in Incheon during the period of July 1984 to August 1984 was studied.

The following results were obtained :

1. *V. parahaemolyticus* were isolated from 16 (15.4%) of 104 specimens of sea water and various marine products. 8 strains (11.0%) were from fish and marine products 3 (25.0%) from aquarium water, 3 from chopping board 1 from sea water and 1 from sea water in basin.
2. Among the 14 strains tested, 10 were Kanagawa phenomenon positive and 4 were negative.
3. 16 strains were tested for K antigens and 3 were found to be K₁₇, 1 each of K₂₂, K₂₅, K₃₄ and K₅₇. 7 strains were not agglutinated with any K-type multiserum.

I. 緒 論

腸炎비브리오는 원래 沿岸 海水中에棲息하는細菌으로 주로 魚貝類를 媒介體로 하여 사람에게 感染되어 食中毒을 일으키게 되는 好鹽性細菌이다.¹⁾ 腸炎비브리오는 日本, 우리나라를 爲始해서 아시아 지역뿐 아니라 美國 및 유럽까지 分布되어^{2-7,15)} 있는 것으로 報告되어 있으며, 특히 日本은 1950年 藤野²⁾ 등이 정어리에 依한 集團 食中毒 事件에서 이 菌을 分離한 以來 繼續적으로 活發한 研究 報告를 하고 있다.

우리 나라에서도 1967年 全⁸⁾ 등이 浦項近海의 魚貝類와 海水 등에서 報告한 以來 腸炎비브리오菌에 關한 많은 研究 報告가 있다.⁹⁻¹⁹⁾ 腸炎비브리오菌의 感染經路는 海水를 源泉으로해서 魚貝類에 汚染되며 그 流通過程에서 상당수가 增殖하게 되고 이것을 사람이 生食을 하므로서 感染된다고 推定된다. 또한 여름철에 腸炎비브리오菌에 의한 食中毒患者가 많은 것은 夏節氣에 海水의 溫度가 높아짐에 따라 菌이 더욱더 增殖하기 때문인 것으로 알려져 있다.^{4,3)}

이에 著者等은 1984年 7月과 8月 사이에 仁川市에 있는 沿岸魚市場을 選定하여 이곳에서 販賣되고 있는 魚貝類 및 海水와 함께 횃집의 水族館에 供給되고 있는 海水와 도마로부터 腸炎비브리오菌의 分布狀況을 調査하고자 本實驗을 하였으며 그 結果를 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1984年 7月, 8月에 걸쳐서 仁川市 沿岸魚市場에서 採取한 魚貝類 및 沿岸 近海水, 횃집에 供給되고 있는 水族館 供給水, 횃집의 도마 등을 材料로 하였다.

2. 實驗方法

(1) 腸炎비브리오菌의 分離 및 同定: 採取한 魚貝類는 될수 있는한 빨리 實驗室까지 運搬하여서 滅菌된 Petri dish에 놓고 가위로써 可檢物을 外部分과 內部 內容物을 잘게 잘라서 各 1g 씩을, 海水는 各 1m/ 씩을 그리고 도마는 滅菌된 면봉으로 문질러서 3% NaCl 을 添加한 Alkaline peptone 水(pH 8.4) 10m/ 에 接種하고 37°C에, 18~24時間 培養한후 TCBS 寒天平版培地에서 18~24時間 培養하여 sucrose 非分解集落을 取한후 Gram 染色과 여러가지 生化學的 檢査를 實施하였으며, 生化學的 同定은 在來式 方法과 API 20 E (Analytab Products, Plainview, N. Y.) 을 使用하였다.

(2) 溶血反應

① 赤血球 浮遊液의 調製法

Alsever 溶液에 採血한 사람血液 및 家免血液을 滅菌 生理食鹽水로서 3回 遠心洗滌하고 滅菌 生理食鹽水와 洗滌赤血球 沈渣量이 2:1 比率로 赤血球 浮遊液을 만들었다.

② 血液 寒天 平版培地

Wagatsuma 培地에 사람 및 家免赤血球浮遊液을 5% 比率로 加하여 만들었다.

③ 判定規定

血液 寒天 平版培地 表面을 잘 乾燥 시킨후 菌을 接種하여 37°C 24時間 및 48時間 培養後 集落 周圍에 溶血의 明確한 透明帶가 생긴것은 陽性으로 判定하고 透明帶가 생기지 않은 것을 陰性으로 判定하였다.^{20,21,23)}

(3) K-因子 血清에 對한 凝集試驗: slide 上 凝集反應으로 實施하였으며 診斷用 血清은 日本 生研社製를 使用하였다.

III. 實驗成績

1. 可檢物 種類에 對한 腸炎비브리오菌의 分離 成績

Table 1. Occurrence of *V. parahaemolyticus* in marine products and environmental sources

Type of specimens	No. of specimens examined	No. of strains isolated (%)
Fish	34	3 (8.8)
Shellfish	20	1 (5.0)
Cuttlefish	6	1 (16.7)
Shrimp	3	1 (33.3)
Crab	4	0 (0.0)
Oyster	2	1 (50.0)
Trumpet shell	4	1 (25.0)
Supply water into aquarium	12	3 (25.0)
Sea water in basin	2	1 (50.0)
Sea water	6	1 (16.7)
Chopping board	11	3 (27.3)
Total	104	16 (15.4)

魚貝類 및 海水, 水族館水, 도마 등의 總104 檢體에서 16株(15.4%)를 分離하였다. 그리고 檢體別로는 魚類 8.8(34 檢體에서 3株), 조개 5(20 檢體에서 1株), 오징어 16(6 檢體에서 1株), 새우 33(3 檢體에서 1株), 소라, 고동 25(4 檢體에서 1株)였으며 같은 2 檢體에서 1株 分離되었고 계에서 4 檢體中 하나도 分離되지 않았다(表 1).

2. 分離된 腸炎비브리오菌의 生化學的 性狀^{1,3)}

Gram 陰性桿菌으로 運動性이 있고, TCBS에서 典型的인 sucrose 非分解 菌의 綠色集落을 形成하였으며 V-P 反應陰性이었으며 3~7% NaCl peptone 水에서 增殖하고 0%와 10% NaCl peptone 水에서는 增殖하지 못하였다(表 2).

3. 分離된 腸炎비브리오菌의 Kanagawa 溶血 現象

分離된 菌株中 14株에 對한 Wagatsuma 血

液 寒天平版培地上的 溶血反應의 成績은 陽性 10株(71.4%), 陰性 4株(28.6%)이었다(表 3).

Table 3. Hemolytic activity of *V. parahaemolyticus* isolated

Hemolytic activity	No. of strains
Positive	10
Negative	4
Total	14

Table 4. Serotypes of *V. parahaemolyticus* isolated

Serotypes	No. of strains
K ₂₈	3
K ₁₇	2
K ₂₂	1
K ₂₅	1
K ₃₄	1
K ₅₇	1
Non typable	7
Total	16

Table 2. Biological properties of *V. parahaemolyticus* isolated

Biological Properties	Control strains ATCC 17802	Test* strains (%)
Gram stain	-	-
Motility	+**	+ (100)
KIA	K/A	K/A(100)
Indole	+	+ (100)
Methyl Red	+	+ (100)
Voges-Proskauers	-	- (0)
Simmon's Citrate	+	+ (100)
Lysine	+	+ (81.3)
Arginine	-	- (0)
Ornithine	+	+ (88.8)
Glucose acid	+	+ (100)
Glucose gas	-	- (0)
Lactose	-	- (0)
Sucrose	-	- (0)
Arabinose	+	+ (88.8)
Adonitol	-	- (0)
Dulcitol	-	- (0)
Inositol	-	- (0)
Maltose	+	+ (100)
Mannitol	+	+ (100)
Mannose	+	+ (100)
Rhamnose	-	- (0)
Salicin	-	- (0)
Xylose	-	- (0)
Nitrate to Nitrite	+	+ (100)
Oxidation - Fermentation	F	F (100)
Oxidase	+	+ (100)
Catalase	+	+ (100)
Gelatinase	+	+ (100)
Growth in 0 % NaCl	-	- (0)
3 % NaCl	+	+ (100)
7 % NaCl	+	+ (100)
10 % NaCl	-	- (0)

(* 16 strains were tested.
** + : positive, - : negative reaction.)

4. K 抗原에 對한 血清反應
分離된 菌株의 血清反應 成績은 總 16 株中
에서 9 株(56.3%)가 K 因子 血清에 凝集反應
陽性을 나타냈으며 그중 K₂₈ 型이 3 株, K₁₇ 型

이 2 株, K₂₂, K₂₅, K₃₄, K₅₇ 型이 1 株였으며,
나머지 7 株(43.7%)는 凝集反應 陰性을 나타
내었다(表 4).

IV. 考 察

腸炎비브리오菌의 食中毒은 주로 腸炎비브리오菌이 海洋棲息 微生物이기 때문에 魚貝類를 生食으로 즐겨하는 國民들 사이에 많은 食中毒을 일으키게 한다.

우리 나라에서도 生선회를 즐기는 傾向으로 腸炎비브리오菌은 여름철 食中毒의 原因菌으로 重要한 菌이다.

仁川市 沿岸魚市場에서 販賣되는 海産物과 海水等を 中心으로 腸炎비브리오菌의 分離를 試圖하였던 바 104檢體에서 16株(15.4%)가 分離되었는데 이는 여름철 南海岸地域의 海産物 및 海水에서 分離한 季(45.2%)⁹⁾, 梁(17.82%)¹²⁾, 朱(22.5%)¹³⁾, 梁(74.5%)²⁰⁾, 朱(32.6%)²²⁾의 成績보다 다소 낮은 傾向을 나타내었으며, 表1에서 分離된 菌株에 對한 分布를 보면 海産物에서 11.0%(73檢體), 仁川沿岸 海水에서 16.7%(6檢體)가 分離되어 1983年 朱²²⁾의 海産物 37.6%(檢體 314), 海水 33.8%(檢體 314)과는 상당히 큰 차이를 보였다.

한편 水族館 供給水에서 25.0%(12檢體 中 3株), 海産物을 담은 涵지물에서 2檢體 中 1株가 分離되어 1981年 徐¹⁸⁾ 등이 水族館水에서 조사한 38.7%(75檢體)보다는 다소 낮은 傾向을 나타낸다.

또한, 蕐집의 廚房器인 도마에서 11檢體 中 3株(27.3%)가 分離되었는데, 이는 1981年 徐¹⁸⁾ 등의 16.0%보다는 다소 높았다.

表2의 生物學的 性狀에 있어 分離된 腸炎비브리오菌은 V-P反應이 100% 陰性을 나타내었으며, 好鹽性試驗에서는 3~7%에서 100% 發育이 可能하였고, 0%와 10%濃度에서는 發育하지 못했음을 觀察하였다.

分離된 菌株에 對한 溶血反應의 成績은 檢體 14株에 대해서 實施하였던 바 Kanagawa 現象 陽性反應 10株(71.4%), 陰性反應 4株

(28.6%)로서 陽性反應이 훨씬 높았다.

이는 患者로부터 나온 菌株은 溶血을 나타내지만 自然界에서 分離한 菌株은 非溶血을 나타낸다는 加藤²³⁾의 報告와 一致하지 않았으나 요즘 Kanagawa 現象이 自然界의 分離株에서도 점차 溶血 菌株가 많이 出現한다는 國內의 金¹⁶⁾, 梁¹²⁾, 朱^{13, 22)}의 成績과는 비슷한 樣相이라고 思料된다.

分離된 菌株에 對한 血清學的 反應에 있어서는 K₂₈型이 3株, K₁₇型이 2株, K₂₂型이 1株, K₂₅型이 1株, K₃₄型이 1株, K₅₇型이 1株이었다.

이는 1983年 朱²²⁾의 K₂₈型이 26株(28.8%)로서 가장 많았고 다음 順位로 K₁₇型이 14株(15.5%)인 것과 本 調査에 나타난 樣相과 비슷하다.

以上 本 實驗成績에 비추어 볼 때 食中毒의 原因이 되는 腸炎비브리오菌이 魚貝類에 汚染된 것은 물론이거니와, 이것을 다루는 蕐집에 供給되는 水族館水 및 廚房器인 도마에서 상당히 많은 菌이 檢出이 되었다는 것은 놀라운 사실이며 管理를 爲해서는 環境衛生學的 側面에서 우선적으로 考慮되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

1984年 7月과 8월에 걸쳐 仁川地域의 海水 및 各種 魚貝類에서 腸炎비브리오菌의 分離를 試圖하였으며, 그 分離한 菌에 對하여 얻은 成績은 다음과 같다.

1. 總 可檢物 104株에서 16株(15.4%)가 分離되었다. 可檢物別 分布를 보면 海産物에서 8株(11.0%), 水族館 供給水에서 3株(25.0%) 海産物을 담은 涵지물에서 1株(50.0%), 海水에서 1株(16.0%), 도마에서 3株(27.0%)가 分離되었다.

2. 分離된 腸炎비브리오菌의 溶血 反應 成績

은, Kanagawa 溶血現象 陽性 10株(71.4%), Kanagawa 溶血現象 陰性이 4株(28.6%)였다.

3. 分離된 腸炎비브리오菌에 對한 血清型은 K₂₈型이 3株, K₁₇型이 2株, K₂₂, K₂₅, K₃₄, K₅₇型이 1株이었다.

參 考 文 獻

1. Sakazaki, R. Tamura, K. Kato, T. Ohara, Y. Yamai, S. : Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacteria., *Vibrio parahaemolyticus*. III. Enteropathogenicity. Jap. J. Med. Sci. & Biol., 21; 325-331, 1968.
2. Fujino, T. Okuno, T. Nakada, D. Aoyama, A. Fukai, K. Mukai, T. Ueno, T. : On the bacteriological examination of sharasu food poisoning. Med. J. Osaka Univ., 4; 299-304, 1953.
3. Wachsmuth, I. K. Morris, G. K. Feeley, J. C. : *Vibrio* in manual of clinical microbiology, 3rd ed., edited by Lennette, E. H. Balows, A. Hausler, W. J. Trauant, J. P. Washington, p. 231, 1980.
4. Franca, S. M. Gibbs, D. L. Samuels, P. Johnson, W. D. Jr : *Vibrio parahaemolyticus* in Brazilian Coastal Waters. J. Am. Med. Asso. 244:587, 1980.
5. 善養寺浩 : 諸外國에서의 腸炎 *Vibrio* 研究의 動向, A-1. 歐洲에서의 腸炎 *Vibrio* 研究의 動向. Media Circle, 6:4, 1971.
6. 淺川豊 : 諸外國에서의 腸炎 *Vibrio* 研究의 動向, A-2. 美國에서의 腸炎 *Vibrio* 研究의 動向. Media Circle, 16:4, 1971.
7. 坂崎利一 : 諸外國에서의 腸炎 *Vibrio* 研究의 動向, 印度 및 濠洲에서의 腸炎 *Vibrio* Media Circle, 16:4, 1971.
8. Chun, D. K. at al. : Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* in Korea. J. Kor. Mod. Med, 6(1) : 105-109, 1967. (in Korean).
9. Lee, Y. T. Lee, C. H. Kee, R. S. : The distribution of pathogenic *Vibrios* along the coastal districts of Korea ; I. An observation of vibriosis prevalent in 1969 and the distribution of *vibrios* in the environments of coastal areas during the periods from 1967 to 1969. Personal communication, 1-14.
10. Ju, J. W. : A study on the Isolation of *Salmonellae* and *V. parahaemolyticus* from sea water and marine products in Busan. University Journal (Busan university), 15:377-388, 1972, (in Korean).
11. Yang, H. D. Ju, J. W. : Studies on the isolation of *V. parahaemolyticus* from sea water and marine products in Busan. University Journal (Busan university), 16:137-145, 1973, (in Korean).
12. Yang, H. D. : The studies on the isolation of *V. parahaemolyticus* from sea water and marine products in Busan. Journal of Busan Medical College, 15:91-100, 1975. (in Korean).
13. Ju, J. W. : Studies on *Vibrio parahemolyticus*. On the isolation of *V. parahaemolyticus* from sea water and marine produces in Keo Je island. Journal of Busan Medical Colledge, 15(2) : 79-86, 1975, (in Korean).
14. Yang, H. D. : Studies on the isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from sea water and sea mud in Busan. Journal of Busan Medical College, 16(2) : 53-60, 1976. (in Korean).

15. Ju, J.W.: Study on *V. parahaemolyticus* isolation from diarrheal patients in Japan and Indonesia. J. Kor. soc., microbiology, 13(1) : 37-42, 1978, (in Korean).
16. Kim, Y.B. : Biochemical test for *Vibrio parahaemolyticus* isolated from sea water. Journal of Busan medical college, 20 : 55, 1980.
17. Ryu, J.K. Oh, S.H. Kim, N.C. : The characteristics of *Vibrio parahamolyticus* cultures isolated in Tegillaria. Kor. J. Env. Hlth. soc. 5(1) : 71, 1978, (in Korean).
18. Suh, I.S. Jeong, H.M. : A study of epidemiology and pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*. III. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* around seashore of Masan. J. Kor. soc., microbiology, 16(1) : 7-12, 1981, (in Korean).
19. Ju, J. W. et al. : Studies on *Vibrio parahaemolyticus* from sea water, sea mud and marine products in Busan sea sides, Journal of science (Busan national university), 34 : 369-376, 1982, (in Korean).
20. Wagatsuma, S. : Modified Wagatsuma media. Missan media, 58 ; 2-4, 1970, (in Japanese).
21. Chun, D.K. Chung, J.K. Tak, R.B. Seol, Y. S. : Nature of the Kanagawa phenomenon of *Vibrio parahaemolyticus*. Infect and immunity, 12 : 81, 1975.
22. Ju, J.W. : Studies on *Vibrio parahaemolyticus* on the southern seas of Korea - On the Isolation of *V. parahaemolyticus* from sea water, sea mud and marine products in Jeju, Keo Je, Namhae, Yockji, Busan and Masan. J. Kor. soc. microbiology, 18(1) : 1, 1983, (in Korean).
23. 加藤貞治 : 腸炎ビブリオの溶血能による群別法. モダンメデイア, 12 : 6, 1966.