

한국 남해안 일대의 해수 및 해산물에서 *Vibrio vulnificus*의 분리연구

부산대학교 자연과학대학 미생물학과 · 부산대학교 대학원 미생물학과¹

주진우 · 김일¹

= Abstract =

Studies on the Isolation of *Vibrio vulnificus* from Sea Water and Marine Products in the Southern Sea of Korea

Jin-Woo Ju and Il Kim¹

Department of Microbiology, College of Natural Science, Pusan National University

Department of Microbiology, Graduate School, Pusan National University¹

Authors studies on the isolation of *V. vulnificus* from sea water, sea mud fishes, shellfishes and algae at the seashores of Pusan, Masan, Chungmu and Ulsan in Korea in 1985.

Authors carried out test for isolated strains to bacteriological test, hemolysis test about erythrocytes of various animal, sensitivity test of various chemotherapeutic agents and serological test with antiserum of *V. vulnificus*.

The results obtained were as follows:

1. *V. vulnificus* was isolated 15 strains from 399 total specimens; 110 cases of sea water, 40 cases of sea mud, 90 cases of fishes, 60 cases of shellfishes and 79 cases of various algae, respectively.
2. Nine strains were isolated from sea water, 4 strains were isolated from sea mud and 2 strains were isolated from fishes, respectively.
3. Two strains among 15 strains isolated were lactose positive reaction.
4. All strains isolated were grown in concentration of 0.5% ~ 7.0% NaCl, but were not grown 0% and 8.0% NaCl.
5. Hemolysis reaction about various erythrocytes was sensitived to guinea pig, human and rabbit erythrocytes, but was not sensitived to sheep erythrocytes.
6. Sensitivity test using with chemotherapeutic agents of "BioLab" Microbial Sensitivity Test Discs were generally sensitived to amikacin, ampicillin, clindamycin, erythromycin, gentamycin, kanamycin, streptomycin, tetracyclin and tobramycin, and were moderate to penicillin, but were resistant to methicillin and lincomycin, respectively.
7. The distribution of serotypes of *V. vulnificus* isolated were on antiserum of 0.1~07 of *V. vulnificus*: 1 case of 01 and 2 cases of 07, respectively.

서론

*Vibrio vulnificus*는 해양서식미생물로서 해수, 해니, 어류, 패류, 해조류 및 각종 해양생물에 부착, 서식하고 있는 호염성세균이다. 분류학적 위치는 *Vibrio*과의 *Vibrio*속에 속하는 균으로서 패혈증, 수막염, 창상감염, 폐렴 및 각막염을 유발하며 여름철에 식중독을 유발하는 *Vibrio parahaemolyticus*

(이하 장염비브리오)와 같은 속에 속하는 그램 음성 간균이다^{13, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 25}.

본 균은 생화학적 성상이 장염비브리오와 유사하기 때문에 종종 장염비브리오로 잘못 동정되어 왔으며, 해수 및 해산물에서 거의 드물게 장염비브리오 분리과정 중에 분리·동정되고 있다.

저자들은 1985년 9월~11월에 부산, 마산, 충무 및 울산의 해수, 해니, 어류, 패류 및 해조류를 가검물로 사용하여 본 균을 15주 분리하였으며 그 분

리주의 생화학적 동정, 혈청형, 용혈반응 및 각종 화학요법제에 대한 감수성등을 연구하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 대상지역

부산, 마산, 충무, 울산등의 해안을 대상지역으로 선정하였다.

2. 사용재료

해수, 해니, 어류, 패류 및 해조류를 사용하였다.

3. 대조균주

분리균과 비교·검토하기 위해서 7주의 0군혈청형인 O1~O7형을 대조균주로 사용하였다. 즉 일본 국립예방위생연구소 Dr. T. Shimada로부터 분양받은 serovar 1: ATCC 27562, serovar 2: D3894, serovar 3: E240, serovar 4: 1115-80, serovar 5: E571 serovar 6: 91-81, serovar 7: 1338-80 등이다.

4. 사용배지

(1) 3% 식염첨가 펩톤수(중균배지): 채취한 각 가검물에서 *V. vulnificus*를 중균시킬 때 사용하였다.

(2) TCBS한천배지(분리배지): *V. vulnificus*를 분리할 때 사용하였다.

(3) 3% 식염첨가 BHI한천배지: 분리주의 생화학적 동정 및 혈청학적 시험을 실시하기 위해서 집락을 재차 분리할 때와 화학요법제 감수성시험을 실시할 때 사용하였다.

5. 분리방법

각종 해산물은 멸균된 페트리접시에 놓고 가위로 잘게 잘라서 각각 2g씩, 해수는 2ml씩, 해니는 2g씩을 중균배지에 넣고 37°C, 18~24시간 배양하였다.

그 후 TCBS한천배지에서 37°C, 18~24시간 배양하고 sucrose 비분해성(농녹색 집락)인 지름 0.5~1mm 정도의 집락을 분리하였다.

6. 생화학적 동정시험^{1), 2)}

(1) TCBS한천배지에서 sucrose 비분해성(농녹색 집락)으로 지름 0.5~1mm정도인 집락을 관찰하고 그램염색을 실시하여 검경하였다.

(2) TSI한천반사면 배지의 성상을 관찰하였다.

(3) SIM배지에 천자하여 37°C, 24시간 배양하여

운동성과 유화수소생산여부를 관찰하고 Kovac시약을 1~2방울 떨어뜨려 인돌시험을 실시하였다.

(4) 탄소원의 구연산이용시험은 Simmon's 및 Christensen배지에서 37°C, 24시간 배양하고 관찰하였다.

(5) 아미노산 탈탄산시험은 각 아미노산(L-arginine, L-lysine, L-ornithine)을 1.0% 비율로 첨가한 decarboxylase 기초배지에 균을 접종하여 멸균유동파라핀을 증충하고 37°C, 48시간 배양한 후 관찰하였다.

(6) 당분해시험은 각종의 당을 1.0% 비율로 첨가한 phenol red broth에서 37°C, 24시간 배양한 후 관찰하였다.

(7) 핵산분해효소(DNase)시험은 DNA 한천배지(EIKEN CHEMICAL Co.)에서 37°C, 18~24시간 배양한 후 1.5N 염산을 충분히 떨어뜨려 15분뒤에 집락주위에 생긴 투명대의 유무를 관찰하고 투명대가 생긴것을 양성으로 판정하였다.

(8) Hugh-Leifson(OF배지)배지로서 산화 및 발효 시험과 포도당으로 부터 가스생산을 시험하였다. 본 배지 두개의 시험관에 각각 접종하고 한 시험관에는 멸균유동파라핀을 증충하여 37°C, 24시간 배양하였다.

포도당 산화(oxidation: O): 유동파라핀을 증충하지 않은 시험관은 황색으로 변화되고, 유동파라핀을 증충한 시험관은 변화되지 않은 것이다.

포도당 발효(fermentation: F): 두개의 시험관 모두 황색으로 변화된 것이다.

포도당 비분해: 두개의 시험관 모두 변화되지 않은 것이다.

(9) 발육온도시험은 두개의 BHI 액체배지(3% 식염 첨가)에 접종하여 각각 5°C, 40°C~42°C 에서 24~48시간 배양한 후 발육여부를 관찰하였다.

(10) 호염성시험은 식염을 각각 0%, 0.5%, 3%, 6%, 6.5%, 7%, 8%, 9%, 10% 씩을 첨가한 BHI액체배지에서 37°C, 24~48시간 배양한 후 증균여부를 관찰하였다.

7. 용혈반응³⁾

사용한 배지는 3% 식염첨가 보통 한천배지로서 사용한 적혈구는 사람, 토끼, 모르모트 및 면양의 적혈구이다.

(1) 적혈구부유액의 조제법: 탈심유소 각종 혈액을 멸균생리적식염수로 잘 씻고 멸균생리적식염수와 세척혈구의 양이 4:1로 되도록 적혈구 부유액을 만들었다.

(2) 혈액한천배지의 조제법: 보통한천배지에 각종

적혈구부유액을 3% 비율로 첨가하여 혈액한천배지를 만들었다.

(3) 용혈현상의 관정: 혈액한천배지에 균을 접종하여 37°C, 24시간 배양한 후 집락주위에 명확한 투명대가 생긴것을 양성으로 판정하였다.

8. 화학요법제 감수성시험²¹⁾

Biological Laboratories Ltd., Newzealand 제품을 사용하였다.

(1) 사용한 화학요법제. 디스크: Amikacin (AK), ampicillin (Am), clindamycin (Cl), erythromycin (Em), gentamycin (Gm), kanamycin (Km), lincomycin (Lm), methicillin (Me), penicillin (Pc), streptomycin (Sm), tetracycline (Tc) 및 tobramycin (Tm) 등이다.

(2) 실시방법: BHI 액체배지에서 18시간 배양한 균을 멸균면봉으로 BHI 한천배지에 잘 도말한후 각 디스크를 배지표면에 부착시키고 37°C, 18~24 시간 배양한 후 디스크주변의 발육저지대를 측정하여 판정하였다.

9. 혈청응집시험^{16, 22)}

일본 국립예방위생연구소 Shimada 와 Sakazaki에 의하여 연구된 O군 항혈청을 사용하였다.

(1) O항원 조제법

2% 식염첨가 BHI 한천배지에서 18~24시간 배양하고 2% 식염수로 부유액을 만들어 100°C 2시간 가열한 후 3,000 rpm으로 15~20분 원심분리하고 침전균체를 2회 세척하여 농부유액으로 만들었다.

(2) 실시방법

O군 항혈청은 O1~O7형으로 구분되어 있으므로 O1형부터 O7형까지 차례로 조자판법 응집반응을 실시하였다. 대조균주의 응집반응과 비교하여 응집반응이 명확하게 일어난 O항원을 그 O 혈청형의 O형으로 판정하였다.

성 적

1. *V. vulnificus* 분리성적

총 가검물 399예에서 15주(3.8%)를 분리할수 있었다. 가검별로서는 해수 110예 중 9주(8.2%), 해나 40예 중 4주(10.0%) 및 어류 90예 중 2주(2.2%) 이었고 패류 60예 및 해조류 79예에서는 분리되지 않았다(표 1 참고).

2. 분리균주의 생화학적 시험성적

TCBS 한천배지에서 37°C, 18~24시간 배양하여 지름 0.5~1 mm의 전형적인 sucrose 비분해성인 농

녹색집락을 관찰할 수 있었으며 그람음성 간균이었다. TSI 한천반사면배지에서 모두 K/A 이었고 8주가 미량의 유화수소를 생성하였다. SIM 반유동한천배지에서는 운동성과 인돌생성을 관찰할 수 있었다. 5°C에는 발육하지 않았고 40°C~42°C에는 3주만 발육하고 12주는 발육하지 않았다. 구연산은 4주만 이용하였고 핵산분해효소시험은 13주가 양성, 2주가 음성이었다. MR, gelatinase, 질산염환원, ONPG, catalase 및 oxidase 시험은 양성이었고, VP 및 urease 시험은 음성이었다. 포도당산화 및 발효시험에서 포도당분해는 발효에 의하였고 가스발생은 없었다. 아미노산 탈탄산시험 중 arginine은 음성, lysine은 양성, ornithine은 12주가 양성, 3주가 음성이었다(표 2 참고).

당분해시험은 cellobiose, maltose 및 salicin이 양성, lactose는 2주만 양성, 13주는 음성이었다. 그리고 adonitol, arabinose, dulcitol, rhamnose, sorbitol, sucrose 및 xylose는 음성이었다(표 3 참고).

호염성시험에서 식염을 0.5%, 1%, 3%, 6% 및 6.5% 첨가한 배지는 모두 발육하였으나 0%, 8%, 9%, 10%에는 발육하지 않았고 7%에는 13주가 발육하였다(표 4 참고).

3. 용혈반응 성적

분리균주에 대한 용혈반응성은 표 5와 같다.

모르모트적혈구의 용혈성이 +++ 이상으로 용혈성이 제일 높았으며, 사람 및 토끼적혈구는 ++ 이상으로 서로 비슷하였고 면양적혈구는 용혈이 일어나지 않았다.

Table 1. Isolation of *V. vulnificus* from sea water, sea mud, fishes, shellfishes and algae in the southern sea of Korea in 1985

Specimens tested ^a	Total (%)
Sea water	9 ^b /100 ^c (8.2) ^d
Sea mud	4/40 (10.0)
Fishes	2/90 (2.2)
Shellfishes	0/60 (0.0)
Algae	0/79 (0.0)
Total (%)	15/399 (3.8)

^a Pusan, Masan, Chungmu and Ulsan in the Southern Sea of Korea.

^b Cases isolated.

^c Cases tested.

^d Figures with parentheses indicate per cent.

Table 2. Biochemical characteristics of 15 strains of *V. vulnificus* isolated from sea water, sea mud, fishes, shellfishes and algae in 1985

Test	Strains tested	
	Results 15 isolated strains	Results of 7 reference strains
	of <i>V. vulnificus</i> ^a	of <i>V. vulnificus</i> ^b
Gram stain	Negative bacilli (100) ^c	Negative bacilli (100)
Motility (SIM)	+ (100)	+ (100)
TSI reaction	K/A (100)	K/A 5(71.4) A/A2 (28.6)
H ₂ S	+ 8(53.3) - 7 (46.7)	- (100)
Indole	+ (100)	+ (100)
Growth at 5°C	- (100)	- (100)
40°C-42°C	+ 3 (20.0) - 12 (80.0)	+ (100)
M-R	+ (100)	+ (100)
V-P	- (100)	- (100)
Citrate (Simmon's)	+ 4 (26.7) - 11 (73.3)	+ 3 (42.6) - 4 (57.4)
(Christensen)	+ 4 (26.7) - 11 (73.3)	+ 3 (42.6) - 4 (57.4)
Gelatinase	+ (100)	+ (100)
Urease	- (100)	- (100)
Nitrate reduction	+ (100)	+ (100)
DNase	+ 13 (86.7) - 2 (13.3)	- (100)
ONPG	+ (100)	0
Catalase	+ (100)	+ (100)
Oxidase	+ (100)	+ (100)
O-F medium glucose, open	+ (100)	+ (100)
O-P medium glucose, sealed	+ (100)	+ (100)
O-P medium glucose, gas	- (100)	- (100)
Arginine dehydrolase	- (100)	- (100)
Lysine decarboxylase	+ (100)	+ (100)
Ornithine decarboxylase	+ 12 (80.0) - 3 (20.0)	+ 2 (28.6) - 5 (71.4)

^a Strains isolated.

^b Reference strains isolated from human, sea fish and sea water in Japan were distributed by T. SHIMADA of Dept. of Bacteriology, NIH in Japan.

^c Figures with parentheses indicate per cent.

4. 화학요법제 시험성적

분리균주에 대한 화학요법제 시험성적은 표 6과 같다.

Amikacin (15주), gentamycin (14주), kanamycin (11주), streptomycin (13주), tetracycline (10주) 및 tobramycin (15주)은 감수성이 있었고, lincomycin (15주) 및 methicillin (15주)은 내성을 나타내었으며 ampicillin, clindamycin, erythromycin 및 penicillin은 중등도의 감수성이 있었다.

5. 혈청응집 시험성적

분리균주에 대한 혈청응집 시험성적은 표 7과 같다.

해니에서 분리한 1주가 O군 O1형으로 동정되었고, 해수에서 분리한 2주가 O7형으로 동정되었다. 다른 12주는 어느형에도 응집이 나타나지 않았다.

고 찰

Table 3. Carbohydrate tests of 15 strains of *V. vulnificus* isolated from sea water, sea mud, fishes, shellfishes and algae in 1985

Kinds of carbohydrates	Strains tested	
	Results 15 isolated strains of <i>V. vulnificus</i> ^a	Results of 7 reference strains of <i>V. vulnificus</i> ^a
Adonitol	- (100) ^c	- (100)
Arabinose	- (100)	- (100)
Cellobiose	+ (100)	+ (100)
Dulcitol	- (100)	- (100)
Lactose	+ 2 (13.3) - 13 (86.7)	+ 4 (57.4) - 3 (42.6)
Maltose	+ (100)	+ (100)
Rhamnose	- (100)	- (100)
Salicin	+ (100)	+ (100)
Sorbitol	- (100)	- (100)
Sucrose	- (100)	- (100)
Xylose	- (100)	- (100)

a, b and c are same as Table 2.

Table 4. Halophilism tests of 15 strains of *V. vulnificus* isolated from sea water, sea mud, fishes, shellfishes and algae in 1985

Concentration of NaCl (%)	Strains tested	
	Results 15 isolated strains of <i>V. vulnificus</i> ^a	Results of 7 reference strains of <i>V. vulnificus</i> ^a
0	- (100) ^c	- (100)
0.5	+ (100)	+ (100)
3	+ (100)	+ (100)
6	+ (100)	+ (100)
6.5	+ (100)	+ (100)
7	+ 13 (86.7) - 2 (13.3)	- (100)
8	- (100)	- (100)
9	- (100)	- (100)
10	- (100)	- (100)

a, b and c are same as Table 2.

*Vibrio vulnificus*는 해양서식미생물로서 해수나 해산물중에 존재하는 세균으로 알려지고 있으나 국내의 경우 이 방면에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 균은 일본 국립예방위생연구소(NIH) Sakazaki et al에 의해 "Vibrio biotype 6330"으로 최초로 연구되었고 그 후 미국의 CDC(Centers for Disease Control)에서 L-Vibrio 혹은 lactose 분해성 Vibrio라고 명명하여 *Vibrio vulnificus*라는 학명을 붙였다^{17, 20, 21}. 본 균은 원래 비병원성으로 알려져 왔으

나 연구가 진행됨에 따라 창상감염, 패혈증, 수막염, 폐렴 및 각막염의 원인균으로 알려지고 있다^{14, 17, 19, 20, 22, 23}. 특히 패혈증의 경우는 간염환자, 만성알콜중독자, 당뇨병환자 및 백혈병 환자와 같이 신체의 면역력이 약한 사람에게 감염되며, 감염될 경우 대부분 패혈증이 일어나게 되는데 그 사망율은 50% 이상으로 보고되고 있다^{14, 17, 20}. 감염원인은 생선회, 굴, 게 및 피조개를 날 것으로 비위생적인 처리방법에 의해 먹었을 때 18~24시간 이후에 식중독증상과 같은 미열, 구토, 전

Table 5. Comparative results of hemolysis of isolated *V. vulnificus* on each nutrient agar medium added 3% human, rabbit, guinea pig and sheep erythrocytes, respectively

K-hemolysis ^d	Results 15 isolated strains of <i>V. vulnificus</i> ^a				Results of 7 reference strains of <i>V. vulnificus</i> ^b			
	Kinds of erythrocytes							
	Human	Rabbit	Guinea pig	Sheep	Human	Rabbit	Guinea pig	Sheep
++++ ^c			5(33.3) ^c	—				—
+++	4(26.7)	5(33.3)	10(66.7)	—	7(100)	7(100)	7(100)	—
++	11(73.3)	10(66.7)		—				—
+				—				—
-				15(100)				7(100)
Total(%)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)

a, b and c are same as table 2.

d KANAGAWA hemolytic phenomenon.

e ++++; more than 5mm, +++: 3.0 to less than 5mm, ++: 1.0 to less than 3mm, +: less than 1.0mm.

f Nonhemolysis.

Table 6. Sensitivity test using with chemotherapeutic agents of "BioLab" Microbial Sensitivity Test Discs to 15 strains of *V. vulnificus* isolated strains in 1985

Results	Kinds of chemotherapeutic agents											
	Ak ^a	Am	Cl	Em	Gm	Km	Lm	Me	Pc	Sm	Tc	Tm
Susceptible	15(100) ^b	4(26.7)	3(20.0)	6(40.0)	14(93.3)	11(73.3)				13(86.7)	10(66.7)	15(100)
Intermediate		5(33.3)	4(26.7)	6(40.0)	1(6.7)	4(26.7)			4(26.7)	2(13.3)	5(33.3)	
Resistant		6(40.0)	8(53.3)	3(20.0)			15(100)	15(100)	11(73.3)			
Total (%)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)	15(100)

^a Ak: amikacin, Am: ampicillin, Cl: clindamycin, Em: erythromycin, Gm: gentamycin, Km: kanamycin, Lm: lincomycin, Me: methicillin, Pc: penicillin, Sm: streptomycin, Tc: tetracycline, Tm: tobramycin.

^b Figures with parentheses indicate percent.

Table 7. Serotypes of *V. vulnificus* isolated from sea water, sea mud, fishes, shellfishes and algae in 1985.

O group antiserum ^a	Cases identified	Sources
01	1	Sea mud
02	—	—
03	—	—
04	—	—
05	—	—
06	—	—
07	2	Sea water
u.T. ^b	12	Sea water Sea mud Fisheries
Total	15	

^a Manufacture is Dept. of Bacteriology, NIH in Japan.

^b Untypable strains.

신권태 및 설사를 동반하는 초기증상을 나타내고 그 후 본 균이 혈류에 침입하여 생육·증식함으로써 패혈증을 일으켜 혈구파괴와 독소에 의한 중독증으로 사망하게 된다. 창상감염의 경우는 피부상처가 생겼을 때 피부에 침입함으로써 발생하는 것이다. 바다에서 조개껍질 및 굴껍질에 찔과상을 입었거나 썩은 돌부리, 제 및 성계침에 피부상처를 입었을 때 본 균이 침입하면 부종, 발적 및 수포 등의 초기 증상이 나타난 후 국소피부가 썩어가는 피부괴사성으로 진행된다. 그러나 감염자가 간이나 기타 장기에 이상이 없는 건강인일 경우는 사망율이 거의 없는 것으로 보고되고 있다^{14, 17, 18}.

해양의 각종 가검물에서의 분리연구는 외국의 경우, Kelly¹⁹, Oliver et al^{20, 21} 및 Tamplin et al²²에 의하여 연구가 되고 있으며 국내의 경우는 송철등²³, 정윤섭등²⁴ 및 주진우·김일¹⁰에 의하여 연구되고 있으나 현재까지 해양환경에서의 분리 연구는

그다지 많지 않은 편이다.

저자들은 총 가검물 399에서 15주(3.8%)를 분리하였는데 해수 9주, 해니 4주 및 어류 2주이고 패류와 해조류는 분리되지 않았다. 이성적은 송철¹⁾ 등의 1182예중 8주(0.7%), 정운섭²⁾의 217예 중 5주(2.3%) 및 주진우·김일³⁾의 1807예 중 6주(0.3%) 분리 보다는 높은 편이다. 송철¹⁾ 등과 정운섭²⁾ 등이 어류와 패류에서 분리하였던 것과는 달리 해수와 해니에서 상당수 분리할 수 있었다.

본 균이 발생하는 환경요인은 수온과 염도에 밀접한 관련성이 있는 것으로 Kelly⁴⁾, Oliver⁵⁾ 및 Tamplin⁶⁾에 의하여 알려지고 있는데 여름과 가을철에 채취한 해수 및 어패류에서 분리율이 높다고 보고하고 있다. 국내의 연구자들도 여름과 가을철에 본 균의 분리를 보고하고 있는데 저자들의 경우도 85년 4월~8월중의 분리성적보다 9월~11월중의 분리성적이 높았다.

생화학적 시험에서 분리균주 중 O군 O1형과 O7형에 동정된 2주를 포함하여 8주가 유화수소를 생성하였는데, 일반적으로 본 균을 비롯한 대부분의 *Vibrio* 속균이 유화수소를 생성하지 않는 것으로 간주되고 있으나, Oliver et al^{7), 8)}은 본 균의 유화수소 생성을 보고하고 있다. 분리한 유화수소생성균들은 천자한 부위에서만 소량의 검은 침전물을 형성하였다.

인돌, MR, gelatinase, ONPG, catalase, oxidase 및 질산염환원시험은 양성이었으며, VP 및 urease 시험은 음성이었고 구연산은 4주만 이용하였다. 포도당의 분해는 발효에 의한 분해로 가스생산은 없었다. 그리고 핵산분해효소시험은 분리균주 중 13주가 양성, 2주가 음성, 대조균주는 모두 음성이었는데, 본 균의 핵산분해효소시험은 Farmer III et al⁹⁾에 의해 50%양성으로 보고되고 있다. 아미노산 탈탄산시험은 arginine이 음성, lysine이 양성, ornithine은 12주가 양성, 3주가 음성이었다.

당분해시험은 adonitol, arabinose, dulcitol, rhamnose, sorbitol, sucrose 및 xylose가 음성, cellobiose, maltose 및 salicin이 양성이었다. 그러나 lactose는 분리균주의 경우 2주가 양성, 13주는 음성이었고 대조균주는 7주 중 4주가 양성, 3주는 음성이었다. 일반적으로 본 균은 lactose 분해성균으로 알려졌다으나 Farmer III et al⁹⁾에 의하면 124주 중 85%정도만 lactose를 분해하는 것으로 보고되고 있다. Lactose음성의 경우는 6일간 배양해도 음성이 나타났고 양성의 경우는 24시간, 48시간 배양 후에 분해하는 것을 관찰할 수 있었다. 이 사실은 Baumann et al¹⁰⁾의 야생주(wild type strain)는 lac-

tose를 분해할 수 없고, 자발적인 변이에 의하여 lactose분해능을 가진 균주만이 lactose를 분해할 수 있다는 보고와 일치하였다. 그런데 Hollis et al¹¹⁾의 임상유래주, Tison et al¹²⁾의 병든뱀장어유래주 및 Oliver et al¹³⁾의 해양환경유래주들은 100% lactose양성으로 보고되고 있다. 이중 Oliver et al¹³⁾의 경우는 본 균의 분리기초에 TCBS상에서 sucrose 비분해성인 집락을 phenol red lactose broth에 접종하여 양성인 균만 선택적으로 실험하였기 때문에 음성인 균의 분리실험은 실시되지 않았다. 본 연구에서 저자들은 lactose음성인 균주들에 대하여 β -galactosidase의 존재유무를 파악하기 위해서 ONPG 시험을 실시한 결과 β -galactosidase가 모두 존재하는 것을 관찰할 수 있었다. 본 균은 Farmer III et al⁹⁾의 *Vibrio*속균의 검색표를 참고로 할때 lactose 및 ONPG시험은 100% 양성이 아니며 ONPG양성균이 lactose양성균이 아니라는 사실이다.

호염성시험에서 분리균주들은 염농도 0%, 8%, 9%, 10%에 발육하지 않았고 0.5%, 3%, 6%, 6.5%에는 모두 발육하였으며 7%에는 13주가 발육하였고 2주는 발육하지 않았다. 6.5%, 7% 염농도에 관해서는 거의 보고가 되지 않았으나 Hollis et al¹¹⁾ 및 Oliver et al¹³⁾은 염농도 8% 및 10%에서 발육하는 균들에 대하여 보고하고 있다. 그리고 Kelly⁴⁾는 해양환경유래주와 임상유래주로 염농도 0.5~10.5%에서 발육율을 측정한 결과 0.5%~6.5%에는 발육이 가능하였으나 4%~6.5% 일 때는 발육이 지연되었다고 보고하고 있다. 본 분리균주들 중 혈청형이 동정된 3주는 7% 염농도에서 발육하였고, 혈청형이 동정되지 않았으나 lactose양성인 2주는 6.5% 염농도까지만 발육하였다.

발육온도시험에서 5°C일 때는 발육하지 않았고 40°C~42°C일 때는 3주만 발육하였다. 42°C에서의 발육여부는 연구자의 분리균주에 따라 차이가 있는데 Oliver et al¹³⁾의 분리균은 모두 발육하였으며 Kelly⁴⁾ 및 Tison et al¹²⁾의 분리균은 대부분 발육하지 않았음을 보고하고 있다.

이와같은 여러가지 특성들은 장염비브리오와 유사하기 때문에 본 균과 장염비브리오 간의 감별은 arabinose, cellobiose, lactose 및 salicin의 당과 ONPG, 호염성시험 및 혈청응집 시험을 고려하여 이루어져야 하겠다.

혈청응집시험은 Shimada와 Sakazaki¹⁴⁾가 연구한 O군 항혈청을 사용하였다. 이 O군 항혈청은 70균주로 연구하여 O1~O7형의 7형으로 분류한 것이다. 사용균주의 분리원은 사람(27주), 어류(37주) 및 해수(6주)인데 일본의 59주, 미국 CDC의 11

주가 사용되었다. 70균주의 H항원은 동일하였으나 이중 2주는 연구된 O군 혈청형들에 응집이 되지 않았다고 한다. 저자들의 분리균주들은 O1형에 1주, O7형에 2주가 응집을 나타내었고 12주는 어느 O군형에도 응집이 일어나지 않았다. 이 중에는 lactose 양성인 2주도 포함되어 있는데, O1~O7형에 응집을 나타내지 않는 균주들을 해양환경에 존재하는 다른 O군형으로 추정하여 비형별균주 (untypable strain)로 분류하였다. 정운섭등¹¹⁾의 보고에 의하면 환자와 굴에서 분리한 균주들을 Sakazaki에 의뢰하여 시험한 결과 O1형, O4형 및 O7형이 확인되었다고 하였다. 그러므로 우리나라 해안지역에도 본 균의 O군 O1형, O4형 및 O7형이 존재하고 그 외의 O군형과 아직 확인되지 않은 O군형들도 많이 존재하는 것으로 추정된다. 따라서 본 균의 O항원에 대한 연구가 계속적으로 진행되어 본 균의 분리·동정을 위해서 더 많은 O군형이 규명되어야 하겠다.

용혈반응시험은 분리균주와 대조균주 모두 사람, 토끼 및 모르모트적혈구에 용혈을 나타냈으나 면양적혈구에는 용혈이 일어나지 않았다. 적혈구 중에서도 모르모트적혈구가 제일 감수성이 있었으며 사람과 토끼적혈구는 비슷한 성적을 나타내었다. 이 성적은 4월~8월에 분리한 6주의 성적 및 대조균주 7주의 성적과 대체로 유사한 것으로, 모르모트적혈구는 다른적혈구보다는 용혈성이 높았고 면양적혈구는 감수성이 없었다. 주진우, 김영희¹²⁾의 각종 적혈구에 대한 장염비브리오의 용혈성과 비교해 보면 면양적혈구는 장염비브리오와 본 균에 감수성이 없으며, 보통 혈액찬란배지상에서 본 균의 용혈성은 장염비브리오의 용혈성균주와 용혈성이 다소 비슷하였다.

화학요법제 감수성시험에서 amikacin, gentamycin, kanamycin, streptomycin, tetracycline 및 tobramycin이 감수성이 있었고, lincomycin 및 methicillin은 모두 내성이 있었으며, 대체적으로 ampicillin, clindamycin, erythromycin 및 penicillin에 중등도의 감수성을 나타내었다. penicillin은 대부분 그램양성균에 작용하고 그램음성균에는 거의 감수성이 없는것으로 알려져 있으나, 본 균의 경우 Oliver et al¹³⁾ 및 Hollis et al¹⁴⁾이 분리한 균은 대부분 감수성이 있는 것으로 보고되고 있다. 그리고 저자들이 시험한 대조균주의 경우 7주 중 6주가 중등도의 감수성을 나타내었다. Farmer III et al¹⁵⁾의 Vibrio속균에 관한 화학요법제 감수성시험에 의하면 penicillin에 거의 감수성이 없으며 ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, gentamycin 및 nal-

dixic acid에 99% 이상 감수성이 있음을 보고하고 있다. 그러나 본 분리균주의 경우 ampicillin에 내성이 있는 균주가 6주 있었는데, 혈청형이 동정된 3주는 내성을 나타내었고 lactose 양성인 2주는 감수성을 나타내었다. 이 성적은 4월~8월에 분리한 6주와 대조균주의 화학요법제 감수성 시험성과 대체로 유사한 성적이었다.

본 균은 같은 Vibrio속균으로 유사한 생화학적 성상을 나타내는 장염비브리오와 생태학적 환경요인도 비슷한 것으로 보고되고 있다^{13,14)}. 국내의 경우, 장염비브리오는 과거부터 많은 연구자에 의하여 연구가 되어졌고, 현재는 주진우^{12,16)}에 의하여 매년 연구보고되고 있으나 본 균에 관한 해양환경에서의 분리연구는 많지 않은 실정이다. 그러므로 본 균에 대한 계속적인 연구를 통해 우리나라 해안 환경에 존재하는 본 균의 생태학적인 환경요인의 분석과 계절별발생율이 비교·연구되기를 바란다. 그리고 본 균뿐만 아니라 같은 Vibrio속균으로서 현재 인체병원성으로 문제가 되고있는 NAG Vibrio, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. hollisae*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. alginolyticus* 등에 관해서도 많은 연구가 이루어져서 이들 균에 대해서도 우리나라 해양환경의 생태학적 환경요인의 분석과 분리균주의 특성에 따른 병원성이 명확히 규명되어 환자의 치료와 발생 예방대책이 다각도로 검토되어야 할 것이다.

특히 본 균은 식중독을 유발하는 장염비브리오와는 달리 해양환경에서 잘 분리되지 않으나 그 증상이 심각하여 감염될 경우 사망율이 높음으로 철저한 예방대책이 요구된다. 본 균으로 인한 피부괴저병의 국내최초의 발생은 1979년 전남 해안지방에서 10명이 발병하여 6명이 사망하고 4명은 치료불능 상태가 된것으로 그 이후 84년에 8명이 사망하였고 85년에는 전남일대에서 6월 29일 발생하여 삼천포, 충무, 부산동지의 도서 및 해안도시로 산발적으로 확산하여 7월 20일까지 17명이 발병하여 7명이 사망하였다고 한다. 따라서 보사부는 7월 17일 어패류 중 오염도가 심한 피조개, 산낙지, 생굴, 꼬막, 미더덕등을 9월말까지 판매금지시켰고, 날것으로 먹자 말고 익혀서 먹도록 전국 시·도에 지시하였다. 근래에 발생한 모든환자가 40대 이상으로 음주벽과 간질환이 있었으며 발병 2~3일 전에 생선, 피조개, 낙지등을 날것으로 먹은 사실이 대부분 이었는데, 보통 사망률은 50% 이상이었다.

감염초기에는 오한, 발열, 복부통증과 피부(주로 팔·다리)에 붉은 반점과 물집이 생기면서 발병하였다. 상처에 감염되었을 때는 12시간 정도의 잠복

기를 거쳐 사망율이 50%에 달하며, 혈액속에 침입을 일으키는 원발성패혈증의 경우는 16시간의 잠복기를 지나서 100%의 사망율을 나타내고 있다¹¹⁾. 그러므로 요리시에 위생적인 처리방법이 이루어져야 하겠다. 본 균은 담수에 약하므로 수도물로 깨끗하게 충분히 씻는것이 좋으며 열에 민감하므로 해산물의 냉장보관과 가열처리방법에 의한 음식물섭취가 필수적이라고 사려된다. 그리고 어시장, 어촌 및 해안도시의 해수와 해산물에 관련된 직종을 가진 사람들은 찰과상방지를 위해 장갑 및 장화등을 착용하고 누구든지 상처가 생겼을 때는 신속한 의과적인 치료를 하여 본 균의 감염을 예방하여야겠다.

결 론

1985년 9월~11월동안 부산, 마산, 충무 및 울산등의 지역에서 해수, 해니, 어류, 패류 및 해조류를 가검물로 사용하여 *Vibrio vulnificus*를 분리하였다. 그 분리주의 생화학적 동정, 혈청형, 용혈반응 및 각종 화학요법제 시험적성은 다음과 같다.

1. 대상 전지역의 해수(110예), 해니(40예), 어류(90예), 패류(60예) 및 해조류(79예)의 총가검물 399예에서 15주(3.8%)를 분리할 수 있었다.

2. 분리된 15주의 가검물별 분리성적은 해수 9예(8.2%), 해니 4예(10.0%), 어류 2예(2.2%)이고 패류 및 해조류는 분리되지 않았다.

3. 분리주들은 모두 arabinose 및 sucrose음성으로 ONPG, cellobiose 및 salicin이 양성되었고, 2주는 lactose 양성을 나타내었다.

4. 분리주들은 염농도 0% 및 8%에서 발육하지 않았으며 0.5%~6.5% 사이에서 모두 발육하였고 13주는 7%까지 발육하였다.

5. 용혈반응시험에서 사람, 토끼 및 모르모트적혈구는 감수성이 있었고 면양적혈구는 감수성이 없었다.

6. 분리주들은 amikacin, ampicillin, clindamycin, erythromycin, gentamycin, kanamycin, streptomycin, tetracycline 및 tobramycin에 감수성이 있었고 penicillin은 중등도의 감수성이 있었으며 licomycin 및 methicillin은 내성이 있었다.

7. *Vibrio vulnificus* O군 항혈청 O1~O7형으로 실시한 혈청응집 시험은 O1형에 1주, O7형에 2주가 동정되었다.

참 고 문 헌

- 1) 부산일보사: 보사부의 귀조개, 삼낙지, 생굴, 미더덕, 꼬막등의 판매금지령, 부산일보 12785호(7월 18일), 1985.
- 2) 송철·손준용, 이길웅, 유재창, 박만석, 박경수, 이인택, 김병훈, 김영자: 비브리오균속 질환의 세균학적 조사연구(1984). (1) 우리나라 연안의 비브리오균속 분포에 관한 연구. 국립보건원보 21: 117, 1984.
- 3) 정운섭, 진명숙, 정해경, 권오현, 이삼열: 어패류에서의 *Vibrio vulnificus* 분리. 대한미생물학회지 19: 73, 1984.
- 4) 정운섭, 김진주, 이삼열: 우리나라에서 분리된 *Vibrio vulnificus*의 혈청형. 대한미생물학회지, 20: 266, 1985.
- 5) 주진우, 조경중: 부산 근해의 해수. 해니 및 해산물에서 장염비브리오 분리연구. 부산대학교 자연과학논문집 34: 369, 1982.
- 6) 주진우: 한국 남해안일대의 장염비브리오 분포연구-제주, 거제, 남해, 육지, 부산 및 마산 근해의 해수·해저펄 및 해산물에서 장염비브리오 분리-. 대한미생물학회지 18: 1, 1983.
- 7) 주진우: 부산근해의 해수, 해니 및 각종 해산물에서 장염비브리오 분리연구. 부산대학교 자연과학논문집 36: 337, 1983.
- 8) 주진우, 김영희: 각종 적혈구에 대한 장염비브리오의 용혈성에 관한 연구. 대한미생물학회지 19: 49, 1984.
- 9) 주진우, 송철, 손준용, 임승호, 이기희: 부산근해의 해수·해니·어패류 및 해조류등에서 장염비브리오 분리연구. 부산대학교 자연과학논문집 38: 247, 1984.
- 10) 주진우, 김 일: *Vibrio vulnificus*에 관한 연구-한국 동·남해안 일대의 해수 및 해산물에서 *Vibrio vulnificus*의 분리-. 부산대학교 자연과학논문집 40: 215, 1985.
- 11) 조선일보사: 보사부의 전남지역 피서병환자 역학조사단 파견. 조선일보 19776호(7월 13일), 1985.
- 12) Baumann P, Bauman L and Hall BG: Lactose utilization by *Vibrio vulnificus*. *Curr. Microbiol.* 6:131, 1981.
- 13) Baumann P and Schubert RHW: *Vibrionaceae*, p. 516. In Kreig NR (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology volume 1*. The Williams and Willsons Co., Blatimore, 1984.
- 14) Blake PA, Merson MH, Weavever RE, Hollis DG and Heublein PC: Disease caused by a marine vibrio. *N. Engl. J. Med.* 300:1, 1979.

- 15) Bowdre JH, Poole MD and Oliver JD: Edema and hemoconcentration in mice experimentally infected with *Vibrio vulnificus*. *Infect. Immun.* **32**:1193, 1981.
- 16) Carruthers MM and Kabat WJ: *Vibrio vulnificus* (lactose-positive vibrio) and *Vibrio parahaemolyticus* differ in their susceptibilities to human serum. *Infect. Immun.* **32**:964, 1981.
- 17) Farmer III JJ, Hickman-brenner FW and Kelly MT: *Vibrio*, p. 282. In Lennette EH, Balows A, Hausler JR WJ and Jean Shadomy H (ed.), *Manual of clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1985.
- 18) Hollis DG, Weaver RE, Baker CN and Thornsberry C: Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* **3**:425, 1976.
- 19) Kelly MT and Avery DM: Lactose-positive *Vibrio* in seawater: A cause of pneumonia and septicemia in a drowning victim. *J. Clin. Microbiol.* **11**:278, 1980.
- 20) Kelly MT and McCormick: Acute bacterial myositis caused by *Vibrio vulnificus*. *J. Am. Med. Assoc.* **246**:72, 1981.
- 21) Kelly MT: Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Ebeneckea) vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. *Appl. and Environ. Microbiol.* **44**:820, 1982.
- 22) Kreger A and Lockwood D: Detection of extracellular toxin(s) produced by *Vibrio vulnificus*. *Infect. Immun.* **33**:583, 1981.
- 23) Lovian V: *Antibiotics in Laboratory Medicine*. The Williams and Willsons Co., Baltimore, 1980.
- 24) Macfaddin JF: *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. 2nd. The Williams and Willsons Co., Baltimore, 1980.
- 25) Oliver JD: The pathogenicity and ecology of *Vibrio vulnificus*. *Mar. Technol. Soc. J.* **15**: 45, 1981.
- 26) Oliver JD: Lethal cold stress of *Vibrio vulnificus* in oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**:710, 1981.
- 27) Oliver JD, Warner RA and Cleland DR: Distribution and ecology of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting marine vibrios in coastal waters of the southeastern United States. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**:1404, 1982.
- 28) Oliver JD, Warner RA and Cleland DR: Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting vibrios in the marine environment. *Appl. and Environ. Microbiol.* **45**:985, 1983.
- 29) Reichelt JL and Baumann P: Taxonomy of the marine, luminous bacteria. *Arch. Mikrobiol.* **94**:283, 1973.
- 30) Sakazaki R, Tamura K, Ikuta K and Sebald M: Taxonomical studies on marine vibrios. p. 583. In Iizuka H and Hasegawa T (ed.), *Proceedings of the First International Conference on Culture Collections*, University of Tokyo Press, Tokyo, 1970.
- 31) Shewan JM and Verron MM: Genus I. *Vibrio*, p. 340. In Buchanen RE and Gibbons NE (ed.), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. The Williams and Willsons Co., Baltimore, 1974.
- 32) Shimada T and Sakazaki R: On the serology of *Vibrio vulnificus*. *J.J. Med. Sci. Biol.* **37**:241, 1984.
- 33) Tamplin M, Rodrick GE, Blake NJ and Cuba T: Isolation and characterization of *Vibrio vulnificus* from two Florida estuaries. *Appl. and Environ. Microbiol.* **44**:1466, 1982.
- 34) Tison DL, Nishibuchi M, Greenwood JD and Seidler RJ: *Vibrio vulnificus* biogroup 2: New biogroup pathogenic for eels. *Appl and Environ. Microbiol.* **44**:640, 1982.