예방의학회지 : 제21권 제1호
Korean J. of Preventive Medicine
Vol. 21, No. 1, May 1988

*Vibrio parahaemolyticus*의 環境因子에 對한 抵抗性

경상북도 보건환경연구소

김 상 철

경북대학교 의과대학 예방의학교실

김 두 희·박 순 우

= **Abstract** =

Resistance of *Vibrio parahaemolyticus* Against the Environmental Factors

Sang Chual Kim

Kyungpook Institute of Health and Environmental Conservation

Doohie Kim and Soon Woo Park

Department of Preventive Medicine and Public Health, College of Medicine, Kyungpook National University

This study was carried out to investigate for resistance of *V. parahaemolyticus* that isolated from patients of food poisoning and fish and shellfish, captured in east coast of Kyungpook province of Korea from 1985 to 1986. VP ATCC 17802 and NAG V. ATCC 6538 were used as control.

In fish, shellfish and seaweed, the more temperature increased, the shorter survival time was.

In case of sea-water, the more temperature rose up, the longer survival time was, particularly in 37℃ and 25℃, the strains had survived after 6 months. And in tapwater, it was sterilized in 150 mins. and survived for 11.5 days on maximum in ground water.

In kimchi, at room temperature, germicidal time was shorter more than 6 times compared with that which had been kept in refrigerator. It survived for 57.1 days in milk, 49.2 mins. in yougurt.

Strains had been surviving in frozen condition at −70℃ even after 6 months, present study time.

In resistance test in water bath at several degrees of temperature, all the strains were sterilized in 20 mins. with 60℃.

In resistance test to driness, number of surviving strains dropped rapidly in 10−11% water contents.

In UV 2538Å, strains were sterilized in 20 mins.

In resistance test to alcohol, strains had survived for 0.1−4 mins. in fermentative wine of below than 25% and distilled wine of over than 25% in alcohol concentration.

The bactericidal concentration of disinfectant was 1% in phenol and 3% in cresol.

In 0.1M acetic acid and 0.1M lactic acid, number of surviving colonies decreased rapidly but not in citric acid. The more NaCl concentration rose up, the lower decreasing rate of number of surviving colonies was.

The strains had showed sensitive response to vancomycin, chloramphenicol, gentamicin, and resisted to carbenicillin, ampicillin and kanamycin. When one day culture strain was cultured till 25th day, resistant strains to tetracycline and cephalothin were changed to sensitive.

I. 서 론

장염 비브리오균은 1951년 Fujino 등(1953)에 의하여 처음 분리된 후 1963년 Sakazaki(1963)에 의하여 *Vibrio*속균 이라고 제창되어 1965년 미국 Institute of American, Type, Culture, Collection에서 *Vibrio parahaemolyticus* type culture No. 17802 및 17803으로 정식 명명되었다.

이 균은 연안 해수와 여기에 서식하는 어패류에 기생하는 호염성 세균으로서 장염 및 급성위장염 증상을 나타낸다(Thomson, 1971).

보건사회부통계(1987)에 의하면, 1986년경의 우리나라 식중독 발생 건수 중 세균에 의한 식중독이 73%를 차지하였고 그중 장염 비브리오로 인한 식중독이 17.8%를 차지하였는데 그 중요한 원인식품은 어패류와 그 가공품이었다.

이웃 일본의 경우에도 전체 세균성 식중독의 과반수 이상이 장염비브리오에 의한 감염으로 보고(일본해양학회, 1979)된 바 있어 공중보건학적 측면에서 관심이 점차 높아지고 있다. 이와 같이 국민보건과 밀접한 관계를 가지고 있는 장염 비브리오균은 일본, 동남아시아 등(Baross, 1970)의 해수 및 어패류에 넓게 분포되어 있다.

우리나라에서는 1967년 전등(1964)이 포항 근해에서 잡은 어패류와 해수에서 장염 비브리오에 대한 오염 분포도를 조사하여 보고한 이래, 많은 학자들(서등, 1973 ; 주, 1974 ; Chun등, 1974 ; 오등, 1979 ; 윤등, 1983 ; 송등, 1984 ; 양, 1984 ; 양등, 1984 ; 양등, 1984 ; 최등, 1984)에 의해 이균에 대한 분포상태 및 생물화학적성상에 대하여 보고된 바 있다.

그러나 한국에서 분리된 장염 비브리오의 외적 환경인자들의 저항성에 관한 논문(Chun등, 1972 ; Seol등, 1975)은 소수에 지나지 않는 상태로서 그마저도 극히 제한된 부분의 실험에 국한되어있는 실정이다(유, 1970).

본 연구는 이러한 실정을 감안하여 장염 비브리오균의 일반 환경인자와 물리 화학적 제 인자에 대한 저항성 시험을 하여 약간의 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1985년부터 1986년까지 2년간 경상북도 동해안 어시장의 어패류에서 분리된 *Vibrio parahaemolyticus* K-3주외 5종(12주)과 식중독 환자에서 분리된 K-12주외 3종(12주) 및 대조군으로 국립보건원에서 분양받은 *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802와 NAG *Vibrio* ATCC 6538 각 1주를 사용하였다.

일반 환경인자에 대한 검체로서는 피조개(*Scapharca broughtonii*) 홍합(*Mylius crasstesta*), 쥐치(*Stephamolepis. cirrhifer*), 조기(*Pseudosciaena manchurica*), 미역(*Undaria pinnatifida*)등의 해산물과 식품으로 우유, 김치 및 요구르트를 선택하였다. 기타 해수, 상수 및 지하수 등도 실험재료로 사용하였다.

물리적 환경인자에 대한 검체로서 피조개, 쥐치, 미역, 명태포 및 새우추출액을 재료로 하여 실험에 임하였다.

화학적 환경인자에 사용한 검체 중 알콜의 경우, 시판 주류 중 맥주, 탁주, 포도주, 소주 및 위스키를 선택하였고, 소독력 관찰을 위해 석탄산과 크레졸을 택하고 유기산의 영향을 실험하기 위해 유산, 빙초산 및 구연산을 대상 검체로 하였다.

약제 내성시험에서는 gentamicin외 9종의 disc(BBL, U. S. A)를 사용하였으며 이의 역가시험에 사용한 균주는 E. coli ATCC 25922로서 모든 disc가 허용범위에 들었다 (표 1).

실험방법은 Koneman등(1985)의 diagnostic of microbiology와 국립보건원의 병원 미생물 검사 기준 중 장염 비브리오 동정방법(정, 1986)에 준하였고 생균수 측정은 pour plate법에 따라 시험하였다.

혈청학적 반응은 일본 Denka Seiken사의 K-항혈청(Group-11, 71종)을 사용하여 균의 증감과 사멸상태를 관찰하였다.

시험전 단계로 3% 펩톤수에 균주를 각각 이식한 후 magnetic봉으로 60rpm회전 시키면서 16내지 18시간 동안 37℃ 부란기에서 증균시켰다. 이 증균액을 0.85% saline으로 10^1내지 10^8배까지 희석하여 각 배수별 희석액을 표준한천배지에 각 1㎖씩 분주한 후 37℃ 부란기 상에서 48±3시간 배양 하였다. 희석 배수별로 집락을 계산한후 10^7/㎖내지 10^8/㎖의 균액을 검액으로 하였다.

일반 및 물리화학적 환경 인자들을 검체로 하여 필요한 조작을 행한 후 각 검액 일정량을 가검물에 주입하고 해당시간에 3% 펩톤수로 이식하여 37℃ 부란기에서 16내지 18시간, 60rpm으로 회전하면서 증균시킨 후 이 증균액을 다시 TCBS agar에 이식하여 18내지 24시간 배

Table 1. Kirby-Bauer zone diameter interpretative standard and quality control values of reference organism

Antibiotics*	Disc content (mg)	Zone diameter(mm)			E. coli ATCC 25922	
		Resis-tant	Inter-mediate	Suscep-tible	Acceptible range(mm)	Range tested (mm)
Vancomycin(Va)	30	≤ 9	10−11	≥12	−	25−27
Streptomycin(Sm)	10	≤11	12−14	≥15	12−20	14−21
Chloramphenicol(Cm)	30	≤12	13−17	≥18	21−27	24−25
Tetracycline(Te)	30	≤14	15−17	≥19	18−25	19−24
Gentamicin(Gm)	10	≤12	13−14	≥15	19−26	21−27
Carbenicillin(Cb)	50	≤17	18−22	≥23	22−26	23−26
Ampicillin(Am)	10	≤11	12−13	≥14	15−20	18−20
Kanamycin(Km)	5	≤13	14−17	≥18	17−25	19−24
Nitrofurantoin(F/M)	100	≤10	15−16	≥17	20−24	21−23
Cephalothin(Ct)	30	≤14	15−17	≥18	18−23	20−24

* : Antibiotics : BBL. Co.

양시켰다. 전형적인 녹색의 집락을 관찰하여 균의 생존 유무를 보았으며, 만일 집락의 형태가 불완전할 시는 혈청학적인 검사나 그람염색 또는 생물 화학적인 동정을 실시 하였다(그림 1).

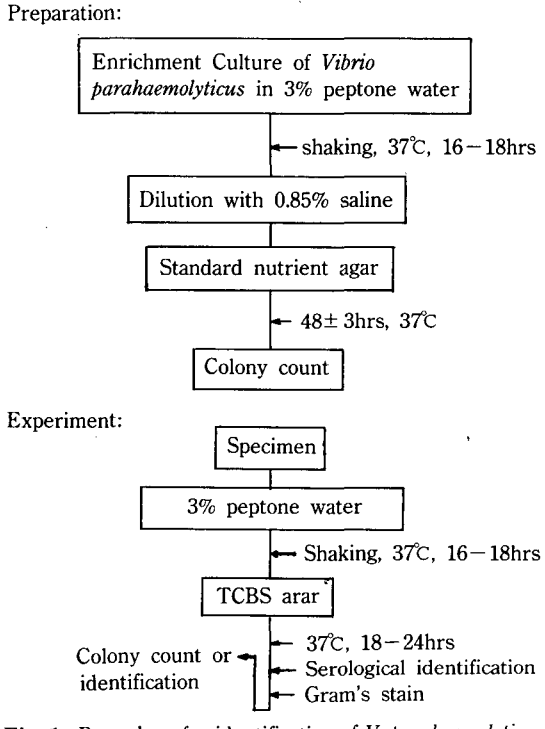

Fig. 1. Procedure for identification of *V. parahaemolyticus*

III. 성 적

어패류 및 해초중에서의 실험 결과 피조개 및 홍합과 같은 패류와 쥐치 및 조기와 같은 어류에서보다 미역에서의 생존기간이 현저히 길었다. 일반적으로 온도가 상승할수록 균의 사멸시간이 빨랐으며 환자유래균과 어패류유래균 사이의 생존 시간에는 별다른 차이를 발견할 수 없었다(표 2).

장염 비브리오균의 해수중 생존시간이 어패류와 다른 점은 온도가 하강할수록 생존시간이 단축되는 것이었다. 37℃와 25℃에서는 특이하게 6개월이 경과한 현재(1987. 6. 10)까지도 증식을 계속하고 있다. 4℃에서 최장 98.5일, −20℃에서 최장 34.0일 생존하였다(표 3).

잔류염소 농도가 0.2ppm인 상수에서 37.5내지 150분간 생존하였고 온도가 낮을수록 사멸시간이 단축됨을 볼 수 있었다(표 4).

지하수(지하 150m, 경도 180ppm)의 경우 균 생존시간이 5.3내지 11.5일이었으며 전반적으로 수온이 낮을수록 사멸시간이 짧았다(표 5).

식품중에서의 생존시간을 관찰한 결과 김치에 있어서 pH 4.5(담근후 24시간 경과한 김치)의 사멸시간 보다 pH 3.9(담근후 1주일간 상온에 방치)에서 빨랐으며 생존 범위는 10내지 250분이었다.

우유에서는 최장 57.0일, 요구르트에서는 최장 49.2분의 생존시간을 나타냈다(표 6).

Table 2. Survival time(hours) of *V. parahaemolyticus* in fish and shellfish at each temperature

Temperature	Scapharca broughtonii (피조개)		Mylilus crasstesta (홍 합)		Stephamole pis. cirrhifer (쥐 치)		Pseudosciaena manchurica (조 기)		Undaria pinnatifida (미 역)	
Strains	37℃	25℃	37℃	25℃	37℃	25℃	37℃	25℃	37℃	25℃
V. P. ATCC 17802	48.0	72.0	75.0	96.0	72.0	97.0	96.0	120.0	732.0	840.0
NAG. V. ATCC 6538	47.0	49.0	119.0	120.0	120.0	144.0	119.0	120.0	840.0	1263.0
Strains from patient	47.5 ± 0.58	65.8 ± 11.90	77.5 ± 11.68	107.8 ± 14.15	94.8 ± 28.02	132.0 ± 15.12	88.3 ± 22.20	107.8 ± 32.38	942.0 ± 209.80	1128.0 ± 192.75
Strains from fish or shellfish	45.2 ± 1.94	62.3 ± 30.04	78.8 ± 25.44	102.8 ± 12.95	94.5 ± 26.87	132.2 ± 15.20	95.0 ± 21.94	112.2 ± 26.42	867.3 ± 51.92	1182.0 ± 117.51

V. P. ATCC 17802 : *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802
NAG. V. ATCC 6538 : Non agglutination *Vibrio* ATCC 6538

Table 3. Survival time(days) of *V. Parahaemolyticus* in sea water by COD concentration at each temperature

COD(ppm) / Strains	37℃*		25℃*		4℃*		−20℃	
	0.8	3.5	0.8	3.5	0.8	3.5	0.8	3.5
V. P. ATCC 17802	186.0	186.0	186.0	186.0	90.5	87.0	30.5	30.5
NAG. V. ATCC 6538	186.0	186.0	186.0	186.0	98.0	98.0	30.0	31.0
Strains from patient	186.0	186.0	186.0	186.0	61.6 ± 4.57	61.1 ± 4.57	34.0 ± 2.35	31.6 ± 10.49
Strains from fish or shellfish	186.0	186.0	186.0	186.0	71.7 ± 10.37	71.7 ± 10.37	27.7 ± 6.90	27.9 ± 8.72

* : Survive at present time, June 10. 1987

Table 4. Survival time of *V. parahaemolyticus* in tap water at each temperature

	HOCL, OCl^- (0.2 ppm)	
	25℃	4℃
V. P. ATCC 17802	150.0 mins	120.0 mins
NAG. V. ATCC 6538	60.0	40.0
Strains from patient	55.0 ± 5.77	37.5 ± 5.00
Strains from fish or shellfish	103.0 ± 54.28	90.0 ± 50.60

Table 5. Survival time of *V. parahaemolyticus* in ground water at each temperature

Strains	37℃	25℃	4℃
V. P. ATCC 17802	11.0 days	9.5 days	7.5 days
NAG. V. ATCC 6538	11.5	11.0	11.0
Strains from patient	10.8 ± 2.84	9.9 ± 1.11	6.3 ± 1.85
Strains from fish or shellfish	11.4 ± 0.20	9.9 ± 1.07	5.3 ± 0.27

Table 6. Survival time of *V. parahaemolyticus* in milk, kimchi and yogurt at each temperature

Food	Strains	37℃	25℃	4℃
Milk (pH 6.7)	V. P. ATCC 17802	57.0 days	57.0 days	56.5 days
	NAG. V. ACTT 6538	9.5	21.0	57.0
	Strains from patient	45.4± 23.6	28.6± 19.06	23.1± 1.44
	Strains from fish or shellfish	57.1± 0.80	57.1± 0.59	51.8± 12.91
Kimchi (pH 3.9)	V. P. ATCC 17802	10.0 mins	10.0 mins	20.0 mins
	NAG. V. ACTT 6538	10.0	10.0	15.0
	Strains from patient	11.3± 2.50	12.5± 2.89	18.8± 2.50
	Strains from fish or shellfish	11.7± 2.58	10.8± 2.04	21.7± 2.58
Kimchi (pH 4.5)	V. P. ATCC 17802	70.0mins	70.0mins	180.0mins
	NAG. V. ACTT 6538	30.0	30.0	120.0
	Strains from patient	72.5± 2.89	71.3± 2.89	195.0± 57.00
	Strains from fish or shellfish	71.7± 2.58	71.7± 2.58	250.0± 45.17
Yogurt (pH 3.6−3.8)	V. P. ATCC 17802	20.0mins	10.0mins	45.0mins
	NAG. V. ACTT 6538	40.0	10.0	15.0
	Strains from patient	25.0± 10.00	8.8± 2.50	45.0± 27.39
	Strains from fish or shellfish	18.3± 4.08	7.5± 2.74	49.2± 29.23

냉장 및 냉동하에서 균체 저항성을 살펴본 결과 4℃에서 최장 8일, −20℃에서 최장 20.5일간 생존하였으며 −70℃의 경우 6개월이 경과한 현재(1987. 6. 10)도 사멸되지 않고 생존하고 있다(표 7).

항온조에서의 각 온도별 내열성시험 결과 48℃에서 60분이 경과한 뒤 대부분의 균주가 사멸하였으나 패류에서 분리된 K-57의 경우 60℃에서 10분간 생존하였다(표 8).

각 검체의 함수율에 따른 균체의 생존시간을 관찰한 결과, 24시간 후의 함수율 24.1± 0.78%에서 90%이상의 균주가 생존하고 있었으며 48시간 후의 함수율 10.9± 0.41%에서 대부분의 균주가 급격히 사멸하기 시작하여 120시간 뒤, 5.9± 0.39%의 함수율에서는 모든 균주가 사멸하였다(그림 2).

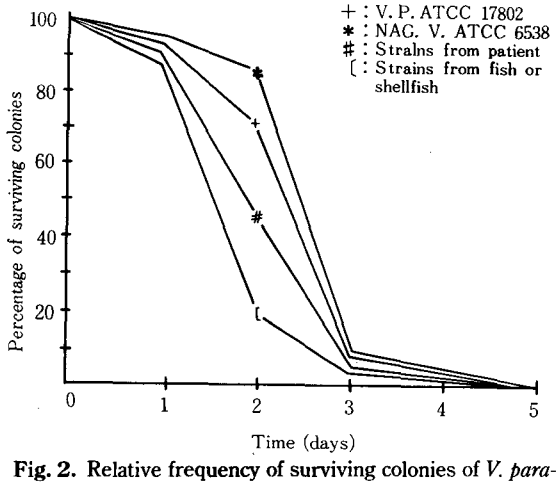

Fig. 2. Relative frequency of surviving colonies of *V. parahaemolyticus* on dried fish at each time

Table 7. Effect of refrigeration(4℃, −20℃, −70℃) on survival time(days) of *V. parahaemolyticus* in fish, shellfish and seaweed

Strains	*Scapharca broughtonii* (피조개)			*Stephamole pis. cirrhifer* (쥐치)			*Undaria pinnatifida* (미역)		
	4℃	−20℃	−70℃*	4℃	−20℃	−70℃*	4℃	−20℃	−70℃*
V. P. ATCC 17802	6.5	7.0	186.0	5.0	4.5	186.0	6.5	3.0	186.0
NAG. V. ATCC 6538	7.0	20.5	186.0	6.0	4.5	186.0	8.0	3.5	186.0
Strains from	6.8	14.8	186.0	5.0	5.6	186.0	6.5	3.5	186.0
patient	± 0.29	± 2.60		± 0.71	± 0.85		± 2.12	± 0.41	
Strains from fish or	6.4	13.8	186.0	3.3	4.5	186.0	5.9	4.1	186.0
patient	± 0.59	± 3.79		± 1.70	± 1.14		± 1.53	± 0.86	

* : Survive until present time, June 10. 1987

Table 8. Survival time(mins) of *V. parahaemolyticus* in crab extract mixed with 3% peptone broth (A) and 3% peptone broth (B) in water bath at each temperature

Strains		40℃		42℃		44℃		46℃		48℃		50℃		55℃		60℃	
		30	60	30	60	30	60	30	60	30	60	30	60	30	60	10	20
V. P. ATCC 17802	A	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
K-56-2*	A	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
K-56-3*	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
K-28#	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
K-57#	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−

* : Strains from food poisoning patient
# : Strains from fish or shellfish

자외선 2538Å하에서 균의 증감상태에 대한 실험 결과, 20분내에 전 균주가 사멸하였으며 환자에서 분리된 균이 어패류에서 분리된 균주보다 UV에 대한 저항성이 컸다 (그림 3).

시판 주류와 희석알콜(EOH)을 비교하면서 장염 비브리오균의 사멸시간을 살펴보았다. 맥주에서 2.5내지 4.0분, 탁주는 0.5내지 0.6분, 포도주가 0.7내지 1.2분, 청주에서 0.5내지 0.8분, 그리고 소주와 위스키에서 0.1분으로 알콜 농도가 증가함에 따라 사멸시간이 짧아졌으며 희석 알콜과 시판주류간에 있어서 생존시간에 차이를 보였다 (희석 알콜 : pH 6−7, 시판주류 : pH 3−5)(표 9).

소독수중 석탄산과 크레졸에 대한 균의 저항성을 실험한 결과 석탄산에서 1%, 크레졸에서 3%의 유효 소독농도를 나타내었다(그림 4).

유기산(빙초산, 구연산)의 농도에 따른 균의 감소 상태를 관찰해 보았다. 빙초산(0.1M)에서 10^7/mℓ의 집락이 30분후 10^5/mℓ로 2배수 정도의 집락수 감소를 보였고 0.3 M농도에서 6배수의 감소를 나타내어, 유기산의 농도가 높아질수록 사멸되는 정도가 증가하였으나 구연산의 경우는 그러한 변화를 나타내지 않았다(표 10).

0.5% NaCl 존재하에서 0.1M 유기산으로 pH를 5.0으로 조정하여 2% 폴리펩톤내에서 1시간 배양 후 균 증감상

Table 9. Survival time(mins) of *V. parahaemlyticus* in alcohol by concentrations

Strains	4%		8%		9%		16%		25%		40%	
	EOH	Beer	EOH	Tackjoo	EOH	Wine	EOH	Cungjoo	EOH	Sojoo	EOH	Whisky
V. P. ATTCC 17802	8.0	4.0	6.0	0.5	5.0	0.8	0.3	0.8	0.1	0.1	0.1	0.1
NAG. V. ATCC 6538	8.0	4.0	7.0	0.5	3.0	0.7	0.3	0.5	0.2	0.1	0.1	0.1
Strains from patient	4.5 ± 4.45	2.5 ± 1.00	1.9 ± 1.49	0.5 ± 0.20	1.7 ± 1.56	1.2 ± 0.50	0.3 ± 0.00	0.5 ± 0.00	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00
Strains from fish or shellfish	7.0 ± 3.16	3.7 ± 0.52	3.3 ± 1.03	0.6 ± 0.10	3.2 ± 0.98	0.9 ± 0.03	0.3 ± 0.04	0.5 ± 0.16	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Table 10. Effect of concentration of sodium acetate and citrate at pH 5.5 on viability.

(unit : surviving colonies/ml)

Organic acid		Concentration		
		0.03 M	0.1 M	0.3 M
Acetic acid	0 min	4.1×10^{7}	1.2×10^{7}	1.9×10^{7}
	30	3.9×10^{7}	2.1×10^{5}	1.5×10^{1}
Citric acid	0		6.8×10^{7}	3.5×10^{7}
	30		5.1×10^{7}	3.0×10^{7}

Note : *Vibrio parahaemolyticus* K-56

Incubation mixture contained 2% polypeptone, 0.5% sodium chloride and sodium salt of organic acid(pH 5.5). Incubation was carried out at 37℃ in BHI agar medium with 2% sodium chloride(pH 8.0).

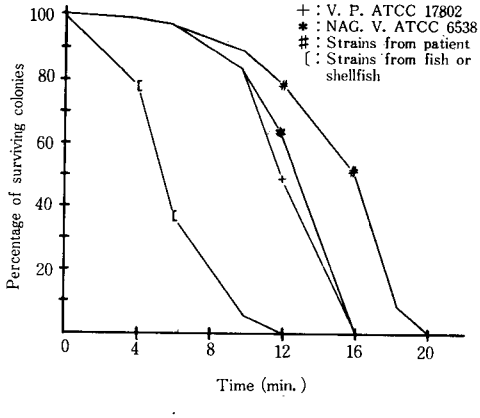

Fig. 3. Relative frequency of surviving colonies of *V. parahaemolyticus* after exposure to ultraviolet ray(2538 Å) at each time

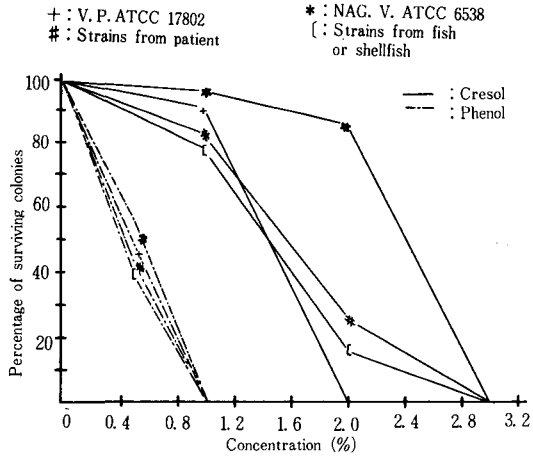

Fig. 4. Relative frequency of surviving colonies of *V. parahaemolyticus* by concentration of disinfectant

Table 11. Surviving colonies of *V. parahaemolyticus* after 60min. exposure to 0.1M sodium salt of organic acid with 0.5% sodium chloride(pH 5.0)

(unit : surviving colonies/ml)

Strains	Time (mins)	Na-Acetate	Na-Lactate	Na-Citrate
V. P. ATCC 17802	0	3.8×10^{7}	4.0×10^{7}	8.5×10^{7}
	60	2.9×10^{2}	3.4×10^{1}	0.8×10^{7}
NAG. V. ATCC 6538	0	3.6×10^{7}	2.7×10^{7}	4.7×10^{7}
	60	3.0×10^{2}	2.3×10^{2}	2.8×10^{7}
V. P. K-56	0	2.7×10^{7}	1.1×10^{7}	3.9×10^{7}
	60	1.9×10^{1}	0.9×10^{2}	3.1×10^{7}
V. P. K-56-2	0	4.1×10^{7}	1.8×10^{7}	1.4×10^{7}
	60	3.1×10^{2}	2.0×10^{1}	1.0×10^{7}
V. P. K-28	0	2.7×10^{7}	3.7×10^{7}	2.2×10^{7}
	60	0.9×10^{2}	2.9×10^{2}	1.9×10^{7}
V. P. K-57	0	3.8×10^{7}	4.8×10^{7}	3.1×10^{7}
	60	4.0×10^{1}	2.7×10^{1}	2.8×10^{6}

Note : Incubation mixture contained 2% polypeptone, 0.5% sodium chloride and 0.1M sodium acetate, lactate or citrate. Incubation was carried out at 37℃ in BHI agar medium with 2% sodium chloride(pH 8.0).

Table 12. Surviving colonies of *V. parahaemolyticus* after 60min. exposure to 0.1M sodium salt of organic acid with 0.5% sodium chloride(pH 5.0)

(unit : surviving colonies/ml)

Strains	Time (mins)	Na-Acetate	Na-Lactate	Na-Citrate
V. P. ATCC 17802	0	6.8×10^{7}	7.7×10^{7}	7.3×10^{7}
	60	6.1×10^{4}	6.1×10^{6}	6.7×10^{7}
NAG. V. ATCC 6538	0	5.5×10^{7}	4.2×10^{7}	5.4×10^{7}
	60	1.9×10^{4}	3.9×10^{6}	4.9×10^{7}
V. P. K-56-1	0	3.1×10^{7}	4.1×10^{7}	6.4×10^{7}
	60	3.0×10^{3}	5.1×10^{6}	6.0×10^{7}
V. P. K-56-2	0	4.8×10^{7}	8.1×10^{7}	2.9×10^{7}
	60	1.9×10^{4}	5.8×10^{6}	2.5×10^{6}
V. P. K-28	0	3.7×10^{7}	3.1×10^{7}	4.8×10^{7}
	60	2.5×10^{4}	2.1×10^{6}	4.1×10^{7}
V. P. K-57	0	1.6×10^{7}	2.1×10^{7}	2.6×10^{7}
	60	0.9×10^{4}	2.0×10^{6}	3.0×10^{7}

태를 살펴 본 결과, 빙초산과 유산에서는 5내지 6배수의 집락 감소를 보였으나 구연산의 경우는 그러한 변화를 보이지 않았다(표 11).

표 11과 같은 조성이나 NaCl의 농도를 3%로 증가시킨 상태에서 각 균주의 감소 상태를 실험한 결과, 식염의 농도가 0.5%에서 3%로 증가함에 따라 균수의 감소가 둔화되었다(표 12).

약제내성에서 감수성을 나타낸 항생제는 Vm, Cm, Gm, F/M 및 Ct 등이었으며 Cb, Am, Te 및 Km 등에서는 저항성을 보였다(표 13).

1일간 배양시킨 균과 25일간 배양시킨 균주간의 약제내성 비교 실험에서 Te외 6종의 항생제가 내성에 차이를 보였고 억제대가 평균 3㎜증가 하였다(표 14).

Table 13. Sensitivity of *V. parahaemolyticus* to the antibiotics

Strains	Sensitive	Intermediate	Resistant
V. P. ATCC 17802	Va Cm Gm F/M Ct	Sm Te	Cb Am Km
NAG. V. ATCC 6538	Cm Cb Gm Am	Sm	Va Te Km
K-12	Va Sm Gm F/M	Ct	Cb Te Km Cm Ct Am
K-56-1	Va Sm Gm Cm F/M	Te	Cb Am Km
K-56-2	Va Sm Gm Cm F/M	Ct	Cb Am Km
K-56-3	Va Cm Gm F/M	Sm Te	Cb Am Km Ct
NAVP*	Va Cm Gm F/M	Sm Te	Cb Am Km
K-3	Va Cm Gm F/M	Sm Te Ct	Cb Am
K-28	Va Cm Cb F/M	Sm	Cb Am Te Km
K-51	Va Cm Gm F/M	–	Cb Am Te Km Ct
K-57	Va Cm Gm F/M	Sm Ct	Cb Am Te Km
K-61	Va Cm Gm F/M Sm	Te	Cb Am Km Ct

K-12, K-56-1, K-56-2, K-56-3 : Strains from food poisoning patient
NAVP, K-3, K-28, K-51, K-57, K-61 : Strains from fish or shellfish
* : NAVP : Non-agglutination *V. parahaemolyticus*

Table 14. Comparison of sensitivity to antibiotics between 1 day and 25 day culture strains

Strains	Period of Culture (days)	Va	Sm	Cm	Te	Cb	Gm	Am	Km	F/M	Ct
V. P. ATCC 17802	1	–	–	–	M	–	–	R	–	–	–
	25	–	–	–	S	–	–	S	–	–	–
NAG. V. ATCC 6538	1	R	M	–	R	–	–	–	R	–	–
	25	S	S	–	S	–	–	–	M	–	–
K-12	1	–	–	–	R	–	–	–	–	–	R
	25	–	–	–	S	–	–	–	–	–	M
K-56-1	1	–	–	–	M	–	–	–	–	–	M
	25	–	–	–	S	–	–	–	–	–	S
K-3	1	–	M	–	–	–	–	–	–	–	R
	25	–	S	–	–	–	–	–	–	–	S
K-28	1	–	–	–	–	–	R	–	–	–	–
	25	–	–	–	–	–	S	–	–	–	–

S : Sensitive M : Intermediate R : Resistant – : No change

Ⅳ. 고 찰

식중독 발생은 그 사회 환경의 변화에 따라 변천하는 것이 보통이다. 그러나 우리나라에서는 아직도 식중독 발생율이 좀처럼 떨어지지 않고 있으며 그중에서도 세균성 식중독이 대부분을 차지하고 있다. 1986년 통계에 의하면 세균성이 73%이고 그중 17.8%가 장염 비브리오로 판명되었다. 그러나 장염 비브리오의 외적 환경인자에 대한 저항성의 연구가 드문 실정이다. 따라서 본 연구에서는 환경인자에 대한 균의 생존시간을 중점적으로 관

찰해 봄으로써 그 저항성을 알고저 하였다.

어패류 및 해초에서의 생존기간은 피조개, 홍합, 쥐치, 조기 및 미역 등에서 온도가 상승할수록 생존기간이 짧았으며 하강할수록 그 기간이 길었다. 이것은 어패류의 변질속도가 빠른 점과 균주의 증식활성이 강한데 따른 결과로 추측된다.

해수에 있어서는 어패류의 경우와는 달리 온도가 하강할수록 사멸시간이 짧아졌는데 Miwatani등(1975)에 의하면 균분리와 해수 온도와는 밀접한 관련성이 있다고 하였다. 이것은 장염 비브리오균이 겨울동안 해수보다 해안이나 인접 강어구의 퇴적물에서 살고 있다는 보고와 일련의 연관성이 있다고 보아진다. 또 37℃와 25℃에서 6개월이 경과한 현재까지 생존하고 있다는 점을 미루어 볼 때 하절기 해수중에 증식 활성이 더 높다고 생각되어지며 이것은 해수온도 30℃가 한계점(Baross등, 1970)인 점을 고려해 보면 타당성 있는 결과로 생각된다. 각 COD별 생존 시간차는 인정할 수 없었다.

염소의 살균효과는 이등(1974)이 실험한 배수희석법에 따랐다. 수중에서 유리잔류 염소의 살균력을 크게 좌우하는 것은 pH와의 관계(박, 1977)로 보여지며 25℃보다 4℃의 상수에서 사멸시간이 빠른것은 동일 pH에서 온도가 낮을수록 강한 살균력을 가지는 HOCl이 수중에 증가됨에 따라 나타난 결과라 생각된다.

지하수 중에서는 온도가 상승할수록 생존시간이 길었다. 그러나 이에 대한 문헌이 없어 그 원인에 대하여서는 알 수 없었다.

식품중 김치의 경우 1주일간 37℃에서 방치하여 숙성시킨 김치내의 균주가 평균 5배 이상 사멸시간이 빨랐으며 4℃에서는 8배이상 생존기간이 단축되었다. 최근 김장용 김치를 담글시 해산물을 많이 넣는 경향을 감안할 때 일정시간의 숙성이 필요할 것으로 보인다. 김등(1979)에 의하면 고추의 주성분인 capsaicin의 농도가 10㎎/㎖ 이하에서는 사용한 균주 모두가 증식하였으나 100㎎/㎖의 농도일 때는 *Bacillus cereus* 및 *Sarrcina luter*등에 의한 정균 효과가 있다고 하며 마늘중 allysulfide성분만을 추출하여 사용할 때는 석탄산의 약 15배의 살균력을 가진다고 하였다(고, 1982). 김치속에서 균생존 시간이 짧은 것은 pH외 고추, 마늘 등과 같은 복합적인 여러인자들의 영향으로 추측되어진다.

김(1981)에 의하면 우유 등에 유산 발효균을 주입시 유당이 유산, 초산 및 에텔 등의 물질로 바뀌어 독특한 향기를 낸다고 하였다. 따라서 요구르트의 유산은 균의 증식에 상당한 억제작용이 있다고 보아지며, 37℃에서 최장 40.0분 그리고 4℃에서 49.2분으로 우유의 최장 시간인 57.1일에 비해 극히 짧은 시간동안 생존후 사멸하였다. 유(1970)의 연구에서 요구르트내 균주 생존시간이 10분, 우유의 경우 72시간, 김치(pH3.2)에서 60분으로, 본 실험과는 현저한 차이를 보였다.

냉동 및 냉장하에서 균의 증감상태를 관찰해 본 결과 패류에서는 온도가 하강할수록 균 생존기간이 증가하였고 어류와 해초의 경우 −20℃에서 생존기간이 짧아졌다가 −70℃의 순간 동결에서 6개월 이상 생존하였는데 이것은 동결상태로 있는 동안 번식을 정지하고 효소작용이나 산화작용 등이 이루어지지 않는데 따른 결과로 보여진다(유, 1967).

내열성 실험의 결과 48℃에서 60분만에 대부분의 균주가 사멸하였으나, 패류 유래균인 K-57주는 60℃에서 10분까지 생존하였다. VP균주는 열에 상당히 약하다는 것을 알 수 있었다.

세균이 식품중에서 증식하기 위해서는 보통 50%정도의 수분이 필요하다고 알려져 있다(양, 1972). 그러나 실제 실험의 결과, 24시간후의 함수율 24.1±0.78%에서 전균주의 90%이상이 생존하다가 2일째 함수율 10.9±0.41%를 기점으로 집락수가 급격히 감소한 후 5일째의 함수율 5.9±0.1%에서 전 균주가 사멸하였다.

장염 비브리오는 UV 2538Å에서 20분내에 사멸하였으며 환자에서 분리된 균주의 자외선에 대한 저항성이 어패류 유래균 보다 강하였다. 이것은 순간 조사후 사멸시간이 배양시간과 밀접한 관련성이 있다는 보고(유, 1967)와 함께 환자 체내에서 형성된 저항성 인자들에 의한 영향으로 추측된다.

유(1970)는 주류의 알콜 농도에 따른 실험에서 탁주중 균의 생존시간이 10분, 포도주에서 5분이내, 소주에서 1분이내라고 보고한 바 있으나 본 연구에서 나온 결과와는 상당한 차이가 있었다. 시판주류중 발효주(4−16% 알콜)에서 0.5내지 4분간 생존하였고 증류주(25−40%)의 경우 0.1분에 전 균주가 사멸하였다. 시판주류와 희석알콜(EOH)간에 사멸시간의 차이가 나는 것은 알콜 농도와 pH에 의한 영향으로 생각된다(증류주 pH : 7.0−7.5, 발효주 pH : 3−5).

석탄산과 크레졸에 대한 유효 소독농도는 석탄산이 1%,

크레졸이 3%이었으며 이들의 석탄산계수는 4(항온조온도 : 20℃, 공시균 : S. typhi-O 901)이었다.

能勢(1986)에 의하면 pH 5.5의 비교적 약한 산성상태에서 0.5% 식염을 첨가한 0.1M 초산이나 유산에 의해 현저한 생균수의 감소가 있었는데 반해 구연산에서는 그 작용이 인정되지 않았다고 하였다. 본 연구에서도 K-56주에 대해 0.03내지 0.3M의 구연산과 빙초산으로 실험한 결과, mole수가 증가할수록 초산 존재하에서 생균수의 큰 감소가 있었으나 구연산에 있어서는 그러하지 않았다. 0.5% NaCl에 있어서는 균의 감소폭이 큰데 반해 3% NaCl 존재하에서는 둔화되었다. 그러나 균주간의 차이나 식염과 균주간의 함수관계는 인정되지 않았다.

초산과 유산은 산미식품의 대표적인 유기산으로서 과실류에 다량 함유되어 있다. 특히 레몬, 귤 등에서는 0.1내지 0.3mole정도 포함되어 있다(能勢, 1980). 따라서 식중독의 원인식품이 되는 어패류에 레몬, 귤 등을 곁들여 먹을 시 pH 저하에 따른 본균의 사멸에 상당한 영향을 줄 것으로 생각된다.

Kirby-Bauer방법(이등, 1986 ; 조등, 1976)에 따른 약제내성 시험결과 Va, Cm, Gm, F/M 및 Ct 등에 감수성을 보였고, Cb, Am, Te 및 Km 등에 저항성을 나타내었다. 또 1일 배양균과 25일 배양균 사이의 항생제 내성 비교에서 Te외 6종의 disc가 내성에 차이를 보였고 억제대가 평균 3㎜ 증가하였다. 이는 장시간 배양에 따른 균력의 저하와 연관성이 있을 것으로 추측되나 이를 뒷받침할 관련문헌을 찾을 수 없었다.

*Vibrio parahaemolyticus*균 감염의 가장 확실한 예방법은 가열 조리하는 것이지만 생식하는 인구가 증가하는 현실로 볼 때 환자 발생도 계속 늘어날 것으로 예상된다(민, 1983). 따라서 본 균으로 발생하는 식중독을 사전 예방하기 위해서는 어시장에서 가정까지의 유통과정의 점검과 함께 어패류를 섭취시 관련된 제 인자들을 고려함으로써 기대할 만한 효과를 거둘 것으로 생각된다.

II. 요 약

본 연구는 식중독 환자와 1985년부터 1986년까지 2년간 경상북도 동해안에서 어획한 어패류로부터 분리 동정된 장염 비브리오균의 저항성에 대해서 관찰한 것으로, 대조균은 VP ATCC 17802와 NAG V. ATCC 6538이었다.

어패류와 해초 등에서는 온도가 상승할수록 생존기간이 짧았다.

해수온도가 상승할수록 생존기간이 길었으며 특히 37℃와 25℃에서 6개월이 지난 현재도(1987. 6. 10) 생존을 계속하고 있다.

상수에서 150분내 사멸하였고 지하수에서 11.5일간 생존하였다.

숙성된 김치(pH 3.9)가 냉장고에서 보관된 김치(pH 4.5)보다 균의 사멸시간이 빨랐으며, 우유에서 57.1일, 요구르트에서 49.2분간 생존하였다.

-70℃의 냉동상태에서는 6개월이 경과한 현재까지도 생존하고 있으나 60℃의 항온조에서는 20분내에 전 균주가 사멸하였다.

내건성 실험에서 10-11% 함수율을 기점으로 생존수가 급격히 떨어지는 양상을 보였다.

자외선 2538Å의 조사에서 20분내에 전 균주가 사멸하였다.

알콜에 대한 시험결과 25%미만의 발효주에서는 0.5내지 4분간 생존하였고 25% 이상의 증류주 경우 0.1분내 사멸하였다.

소독액의 유효 살균농도는 석탄산 1%, 크레졸 3%이었다.

0.1M 빙초산과 유산 함유배지에서 60분간 배양후, 생균수가 급격히 저하하였으나 구연산의 경우는 그렇지 않았으며 염도가 증가할수록 생균수 감소폭이 줄어 들었다.

Vancomycin, Chloramphenicol, Gentamicin, Cephalothin 및 Nitrofurantoin 등에 감수성을 보였으며 Carbenicillin, Ampicillin 및 Kanamycin 등에 저항성을 나타내었다. 또 1일 배양균을 25일간 증균시킬 때 Tetracycline, Cephalothin 등에 대한 저항성이 감수성으로 변화하였다.

참 고 문 헌

고광호. 식품영양용어사전. 박영사, 서울, *1982*, 쪽. *65*

김기경, 염 곤. 한국산 고추중의 Capsaicin함량과 항균작용에 관한 연구. 국립보건원보 *1979* ; *16* : *244*

김기성. 발효유제품의 제조기술. 기술정보지, *1981* ; *4* : *65*

민창홍. 우리나라 식중독의 현황. 대한의학협회지 *1983* ; *26* (*4*) : *283-284*

박충현. 위생공학. 서울, 동명사, *1977*, 쪽. *106－107*
보건사회부. '86급성전염병통계연보. 서울, *1987*, 쪽. *180*
서인수, 한왕수, 권종규. 장염 비브리오의 역학 및 병원성에 관한 연구. 국립보건원보 *1973* ; *10* : *391－395*
송철, 손준용, 이길웅. 비브리오 균속 질환의 세균학적 조사 연구. 국립보건원보 *1984* ; *21* : *117－132*
양차범. 식품위생학. 서울, 문운당, *1972*, 쪽. *78－83*
양학도. 부산시 각 시장에서 판매되는 어패류의 장염 비브리오균의 오염도. 부산의사회지 *1984* ; *20(8)* : *27－32*
양학도, 오양효, 김영부. 세균성식중독과 원인균의 검사. 녹십자의보 *1984* ; *3(12)* : *116－135*
양학도, 오양효, 김영부. 식중독 원인균이 생산한 독소와 그 검출법. 녹십자의보 *1984* ; *1(12)* : *23－32*
오홍백, 조명원. *Vibrio parahaemolyticus*의 분리 및 그 M. I. C에 대한 고찰. 대한임상병리사회지 *1979* ; *11(2)* : *24－30*
유병식. 용원성에 의한 포도상구균의 분류에 관한 연구. 현대의학 *1967* ; *7(5)* : *597*
유재근. 어패류 유통 과정별 세균오염도 조사. 공중보건학잡지 *1970* ; *7(1)* : *45－49*
윤승기, 정태화, 박윤수. 비브리오 균속에 관하여. 대한임상병리사회지 *1983* ; *15(1)* : *65－71*
이건섭, 김승곤, 김태운. 최신 병원 미생물학. 서울, 고문사, *1986*, 쪽. *81－86*
이성관, 김두희. 장티푸스의 인체 감염원 및 그 균의 저항성. 경대의대잡지 *1974* ; *15(1)* : *105－106*
전도기, 정재규, 김두희. 1973년 경북지구에 침입한 El Tor Cholera 의 역학적 관찰. 대한의학협회지 *1964* ; *7(8)* : *760－768*
정태화. 병원미생물 검사기준. 국립보건연구원보, 서울, *1986*, 쪽 *153－156*
조민기, 조희숙. 병원성 세균에 대한 항생제 내성 시험방법의 검토. 국립보건원보 *1976* ; *13* : *91－98*
주진우. 탄닌산 및 트립신 처리 적혈구를 사용한 *Vibrio parahaemolyticus*의 혈구 응집반응에 관한 연구. 부산의대잡지 *1974* ; *14(2)* : *55－61*
최성문, 최병현, 오수경. 어패류중의 장염 *Vibrio*균의 분포와 항생제 병용효과에 관한 연구. 서울특별시 보건환경연구소보 *1984* ; *20* : *113－118*
能勢征子. 腸炎 ビブリオの 酸損傷 からの 回復. 增殖に及ぼすクエン酸と胆汁酸 影響. 食衛誌 *1986* ; *27(5)* : *492－500*
日本海洋學會. 海洋環境調査法. 恒星社厚生閣. *1979. p. 438*
Baross J, Listone J. *Occurrence of Vibrio parahaemolyticus and related hemolytic vibrios in marine environments of Washington State. A S Microbiol 1970* ; *20(2)* : *179*
Chun DK, Chung JK, Seol SY, Tak RB. *Vibrio parahaemolyticus in the Republic of Korea. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 1974* ; *23(6) 198－203*
Chun DK, Seol SY, Tak RB, Park CK. *Inbibitory effect of glycerin on Vibrio parahaemolyticus and Salmonella. American Society for Microbiology 1972* ; *24(5)* : *675－678*
Fujino TY, Okuno D, Nakada A, Aoyama K, Fukai K, Murai, Ucho T. *On the bacteriological examination of "Shirasu" food poisoning. Med J Osaka Univ 1953* ; *4* : *299－304*
Koneman ME. Sommers HM, Allen SD, Dowell VR. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Vibrio species. 1985, pp. 192－197*
Miwatani TY, Takeda J, Sakurai A, Yoshihara, Taga S. *Effect of heat(Arrhenius effect) on crude hemolysin of Vibrio parahaemolyticus. Infect Immunity 1975* ; *6* : *36－37*
Sakazaki R, Iwanami R, Fukumi H. *Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacteria, Vibrio parahaemolyticus I. Morphological, cultural and biochemical properties and its taxinomical position. Jap Med Sci Biol 1963* ; *16* : *161－188*
Seol SY, Cho DT, Chun D K. *Susceptibility of enteropathogenic vibrio to antimicrobial drugs. The Korean Central Journal of Medicine 1975* ; *29(3)* : *253－258*
Thomson WK, Trenholm DA. *The isolation of Vibrio parahaemolyticus and related halophilic bacteria from Canadian Atlantic shellfish. Can J Microbiol 1971* ; *17* : *545－549*