

피틴산(Phytic acid)이 비브리오(*Vibrio vulnificus*) 패혈증에 미치는 영향

정영호¹ · 조천휘¹ · 이선우² · 임치환¹

Influence of Septic in *Vibrio Vulnificus* from Phytic Acid

Young-Ho Chung¹ · Chun-Hwi Cho¹ · Sun-Woo Lee² · Chi-Hwan Lim¹

ABSTRACT

Phytic acid chelates excellently the metallic ions and the positive ions, especially has high affinity with Fe^{2+} and Ca^{2+} . Merits of phytic acid can be taken in easily, edible and harmless to body, so it was investigated that phytic acid can be substituted for EDTA in this study.

1. The Intensificative effect of chelating agent and disinfective osmotic shock of *Vibrio vulnificus*

The number of initial existent fungi measured 1.7×10^6 . The percentages of the survival fungi against the osmotic shock by distilled water were calculated at 1 minute, 3 minute and 5 minute after inoculation. The percentages of the survival fungi in Mg^{2+} were 92.5%, 91.8% and 79.8% at each time, the average percentage was 88%. Also the sudden extinction was observed around 1 minute after inoculation and the survival fungi were not observed from 3 through 5 minute in spite of repeated experimentation.

¹ 충남대학교 농업생명과학대학 응용생물 화학식품학부(Division of Applied Biology, Chemistry & Food Science, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

² 동아대학교 자원과학대학 생물공학과(Dept. of Biotechnology, College of Natural Resources and Life Sciences, Dang-A University, 840 Hadan 2-Dong, Saha-gu, Busan, Korea)

교신저자 : 임치환(E-mail : chlim@cnu.ac.kr Tel : 042-821-6734)

2. Influence of *Vibrio vulnificus* on the survival of the mice.

The first mouse started to die in 180 minute after inoculation in case that the inoculating number was 2.3×10^7 cfu/ml. All died within 4.5 hour. The average of survival time was 226 minute. The first mouse started to die in 228 minute after inoculation in case that the inoculating number was 0.8×10^6 cfu/ml. All died within 5 hour. The average of survival time was 300 minute and the survival time was 1.3 times high. The tendencies of death in two cases were similar, but the fatal rate were largely dependent on inoculating number.

1. 서 론

비브리오 균은 전 세계적으로는 1976년부터 그 정체가 확실하지는 않지만 아주 치명적인 새로운 균이 있다는 정도로 인지되었고, 1982년에 비로소 비브리오 패혈증의 정체와 그 원인 균의 실체가 밝혀졌다. 비브리오 패혈증은 인류의 생명을 위협하는 감염병 중에서는 비교적 최근에 새로이 발생한 질환이라 할 수 있다. 국내에서 비브리오 패혈증은 전남지방에서 1979년 최초로 발생하였고, 처음에는 걸리면 죽는 소위 '괴질' 또는 살이 썩어들어 가기 때문에 '괴저병'이라고 알려졌으며 그 후 호남 지방을 중심으로 매년 꾸준히 발생하고 있으며 호남 지역뿐 아니라 점점 전국적으로 광범위하게 해안지역을 중심으로 발생하고 있고, 그 빈도가 줄어들지 않고 있는 실정이다(Kim 등, 1985; Jo, 1986; Gug, 1980).

V. vulnificus 패혈증은 1976년 미국 CDC(Center for Disease Control)의 Hollis 등(1976)이 *V. vulnificus*의 세균학적 성상을 발표한 이래 세계 각국에서 세균배양검사에 의해 확진된 사례가 계속보고되고 있으며(Mertens A 등, 1979; Kelly MT 등, 1980; Yoshida S 등, 1983) 이에 대한 치료 및 예방할 수 있는 방법이 절실하게 요구되는 상황이다.

1981년에 Oliver(1981)는 oyster homogenate에 접종된 *V. vulnificus*가 빙점 근처의 온도에 노출되었을 때 급격하게 사멸해 간다고 보고하여 냉동 또는 냉장만으로 오염된 해산물로부터 *V. vulnificus*를 손쉽게 제거될 것이라는 가능성을 제시하였다. 그러나 최근에 Johnston 등(1983)과 Chung 등(1986)이 *V. vulnificus*가 냉동 및 냉장만으로 크게 사멸되지 않는다는 실험 결과를 발표하였다. 또한 최근 Rhee 등(1987)은 *V. vulnificus*를 증류수에 접종하여 급격한 osmotic shock를 가해 주었더니 5분 이내에 거의 완벽한 사멸작용이 일어난다고 보고하여 염분이 없는 수돗물 또는 증류수로 해산물을 세척하여 섭취하면 *V. vulnificus* 패혈증을 예방할 수 있으리라는 가능성을 시사하였다. 그러나 증류수에 의해 억제된 *V. vulnificus*가 적당한 온도와 배지에 의해 상당한 정도 재활성화 된다는 Go(1987)의 주장에 의해 실제적 효용 가치가 상당히 감소된 것으로 사료된다. 이에 *V. vulnificus* 패혈증은 오염된 해산물을 생식으로 먹거나, 해수온도가 상승하는 계절에 외상이 있는 사람이 해안의 해수나 침출물에 접촉된 후 감염으로 인한 패혈증, 고열, 오한 그리고 속 등이 발생하여 사망을 초래할 수 있는 경우가 발생하고 있다. 본 연구는 이러한 보고들을 참조하여 Mg^{2+} 등의

2가 이온이 증류수에 의한 osmotic shock 로부터 *V. vulnificus*를 탁월하게 보호해 준다는 Rhee 등(1987)의 보고에 착안하여 2가 이온 chelation agent로 널리 알려진 ethylenediami netetraacetic acid(EDTA)의 일정한 농도 용액에 균을 접종하여 osmotic shock를 가해주었더니 3분 이내에 완전히 불가역적인 살균 작용을 관찰할 수 있었고, phytic acid(이하 PA)가 EDTA보다 더욱 안전하고 chelation의 효과가 있으리라 생각되어 비교 검토하였으며, 중금속 중독시 혈중 철농도를 감소시키기 위해 양이온 착화물로 널리 알려진 Calcium disodiummethylenediminetetraacetate (이하 CaEDTA)와 PA를 mice에 투여하여 생존율을 확인한 결과 *V. vulnificus*패혈증에 대한 효과적인 결과를 얻어 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

가. 시 약

본 실험에 사용된 에탄올, 메탄올 등 유기용매는 1급 시약을 사용하였으며, 배지는 Luria Bertani agar(LB agar), 대한 멸균 생리식염수(대한약품주), 1.5ml 튜브, 탈지면, 피펫팁, 일회용 1ml 주사기(26gauge), 전배양체, phytic acid(TCI, 50% in Water), Petri Dish(녹십자, 87×15mm), CaEDTA(Sigma Ultra), Sodium chloride(동양제약화학), Sodium Hydroxide(대정화학), Magnesium chloride(대정화학)등의 제품을 사용하였다.

나. 살균적 Osmotic Shock 및 Chelating Agent의 강화효과

1) 공시균

V. vulnificus 균주는 전남대 의과대학 미생물

학과로부터 분양받은 표준균주 CMPC6를 사용하였다. 공시균은 modified salt water yeast extract agar(Oliver와 Colwell, 1973) 사면 배지에 보관하면서 각 실험에 사용하였으며 매 2주마다 계대 배양하였다.

2) 증류수 및 Mg^{2+} 에 의한 osmotic shock

증류수 및 Mg^{2+} 에 의하여 osmotic shock를 받았을 때 생존율 변화를 관찰하기 위한 실험은 다음과 같이 실시하였다. 냉동 보관중인 공시균을 12시간 동안 전배양하고 그 배양액 0.5ml을 500 ml 삼각플라스크에 분주되어 있는 약 200ml의 2.5% NaCl brain heart infusion(BHI) 또는 HI 액체 배지에 접종하여 37°C에서 220rpm의 속도로 4~6시간동안 지수증식기까지 진탕 배양하였다. 그리고 배양액을 4°C에서 12,000g로 원심분리하고 인산완충식염수(phosphate buffered saline: PBS)로 균부유액의 혼탁도를 약 10^9 cfu/ml 정도의 농도가 되게 조정된 후 증류수내 염도가 거의 없게 하고 증류수 9.9ml의 살균수에 세균 현탁액을 0.1ml 첨가하여 100배 희석한 후 균주의 최종 농도는 약 4.5×10^7 cfu/ml 정도의 균 농도로 실험을 시작하였다. Mg^{2+} 등의 2가 이온이 증류수에 의한 osmotic shock로 부터 *V. vulnificus*를 탁월하게 보호해 준다는 보고가 있어 균의 생존 균수를 비교하고자 $MgCl_2$ 100mg을 증류수 10ml에 녹여 10.5mM을 조제하여 stock solution으로 만들어 매 실험 실시 때마다 희석하여 Mg이온은 2 mM이 되도록 희석하여 사용하였다. 생존균수를 측정하기 위해 초기 세균 현탁액을 $10^2 \sim 10^6$ 배로 희석한 후, 접종은 시간대 별로 1분, 3분 및 5분씩 각각에 100 μ l의 접종액을 취하여 LB agar 배지에서 도말하여 37°C에서 밤샘 배양하여 생존균수를 희석평판법(dilution plating)으로 판별하여

생존균수를 결정하였다. 이하 osmotic shock에 관한 실험은 모두 실온에서 실시하였다.

3) EDTA 및 PA에 의한 osmotic shock의 살균 효과

EDTA는 0.5M이 되게 stock solution으로 만들어 매 실험 실시 때마다 희석하여 사용하였다. stock solution은 disodium salt (Sigma Co., St. Louis, Missouri)에 적당량의 5N NaOH를 가하여 완전히 녹인 다음 HCl로 pH 7.7까지 적정한 후 탈 이온수를 가하여 원하는 농도가 되게 하였다. phytic acid(50%PA)는 1ml을 9ml mass flask에 증류수로 녹여 104mM이 되게 stock solution으로 만들어 매 실험 실시 때마다 희석하여 사용하였으며 자체 산도의 영향을 제거시키기 위해 암모니아수를 가하여 pH 7.0~8.0까지 원하는 농도가 되게 하였다. 접종은 위에 언급한 방법대로 시행하였다. *V. vulnificus*에 대하여 우수한 살균 효과를 나타낸다고 알려진(Chung 등, 1989; Rhee 등, 1991) EDTA 및 PA의 작용을 알아보기 위하여 이들 chelating agent가 세균 outer membrane의 2가 이온이 일차적으로 chelation시키고 이때 주위의 삼투압이 급격히 감소하면 더욱 강력한 osmotic shock 가해져 불가역적인 세균의 사멸을 초래하는 것인지를 구명하기 위해 1mM 및 0.1 mM EDTA 및 PA 각각의 농도에 균을 접종하여 1분, 3분 및 5분에서 osmotic shock 강화효과를 비교하여 관찰하였다.

4) 생존균수 검사

생존균수검사는 LB 배지를 이용하였고, 다만 계 10배 희석법을 이용하였으며, 생존균 집락은 18~24시간 배양 후 관찰했다. 각 처리당 각 5 plate의 LB 평판배지에 plating하고 생존균 집락을 계

수하고 그 평균값을 구하여 살균곡선을 그렸다.

다. *Vibrio vulnificus* 패혈증이 Mice의 생존율에 미치는 영향

1) 실험동물

체중 25g 내외의 잡교재 ICR 마우스를 암수 구분없이 사용하였다. 마우스는 polycarbonate cage에 5마리씩 넣어 수돗물과 실험동물 사료 pellet를 공급하여 가능한 스트레스를 받지 않도록 일주일 동안 사육한 후 실험에 사용하였다.

2) 실험균주 배양 및 균 접종

균주 CMCP6를 LB 액체배지에 37°C에서 12시간 동안 배양하고 원심 분리하여 멸균된 생리식염수를 이용하여 4°C에서 1회 원심 세척한 후, 멸균 생리식염수로 현탁시켜 세균의 농도가 약 4.6×10^7 cfu/ml (실제 투여량 2.3×10^7 cfu/ml)정도가 되도록 하였다. 사용한 주사기는 일회용 1ml 용량 주사기에 26 gauge 주사바늘을 사용하여 균주 0.5 ml씩을 좌측 복강에 투여하였다. 주사는 되도록 서서히 시행하였으며, 접종하는 동안 균주의 자체 성장을 억제시키기 위해 냉장 상태(ice box)를 유지하였으며, 1시간 이내에 신속히 투여하였다. 균주접종 1시간 후, 각 균 농도별 처리제를 0.2ml씩 우측부분에 복강 투여하여 경과 시간에 따른 생존율을 관찰하였다.

사용시약 및 균 농도 자체가 실험에 사용된 마우스의 생존에 위해를 미칠 수 있는지 알아보기 위하여 사용용량의 1/2배, 1배 및 2배씩의 용량을 각 군당 5마리의 마우스에 동일한 경로로 투여하여 영향이 없음을 확인하고 실험에 사용하였다.

3) 마우스에 사염화탄소 처치

사염화탄소(CCl₄, Avondale Lab., England) 처

치는 Gomez 등(1975)이 기술한 방법으로 실시하였다. 올리브유로 10%되게 희석한 사염화탄소를 *V. vulnificus* 접종 하루 전에 마우스당 0.5ml씩 복강에 주사하였다.

4) 마우스에 CaEDTA, PA 조제 및 처치

(1) CaEDTA(molecular weight 446.34)의 처치는 혈중 철농도가 *V. vulnificus* 패혈증의 원인에 중요한 역할을 한다는 보고가 있어 혈중 철농도를 감소시키기 위해, 양이온 착화물로 널리 알려진 CaEDTA 100mg을 생리 식염수에 10ml (22 mM)에 녹여 조제하여(Heindorff 등, 1983), 사람이 중금속 중독증상시 투여하는 양인 80mg/kg (2mg/마리)이 되도록 0.2ml을 주사하였다.

(2) PA처치는 PA 1g을 멸균된 생리식염수 10ml에 녹여 151mM이 되도록 stock solution을 조제하여, 실험 당일 각 농도로 희석하여 사용하였으며, 암모니아수를 가하여 pH 5.09~5.83이 되도록 보정하여 균주 접종 후 마우스 당 0.2 ml를 복강내 주사하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 살균적 Osmotic Shock 및 Chelating Agent의 강화효과

살균효과를 측정하기 위한 초기 생존 균수를 측정한 결과 1.7×10^6 cfu/ml이었으며 대조 실험으로 *V. vulnificus*를 증류수(대조군)에 접종하여 Osmotic shock를 가해주었던바 살균 결과는 Rhee & Chung(1986) 및 Go (1987)의 결과와 거의 일치하였다. Osmotic shock로부터 *V. vulnificus*를 보호해 준다는 Mg^{2+} 등의 2가 이온은 접종된 후 *V. vulnificus*는 초기 1.7×10^6 cfu/ml에서 1분후

5.8×10^5 cfu/ml이고, 접종 3분후에는 5.3×10^5 cfu/ml로 생존균수에 큰 차이를 볼 수 없으나, 5분후에는 9.3×10^4 cfu/ml로 약간의 살균 효과를 관찰할 수 있었다. 또한 *V. vulnificus*를 증류수에 접종시킨 후 1분에서 1.6×10^5 cfu/ml이고, 3분후에는 2.3×10^4 cfu/ml, 5분후에는 5.6×10^3 cfu/ml 정도로 생존균수가 시간에 따라 비교적 완만하게 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다. 그러나 0.1mM EDTA 용액의 경우 *V. vulnificus*를 접종하고 1분의 경우에는 초기 생존균 1.7×10^6 cfu/ml에서 2.0×10^4 cfu/ml이고, 3분에서 7.3×10^4 cfu/ml이며, 5분에서는 1.9×10^4 cfu/ml로 LOG scale 4.28~4.86 정도의 감소된 생존균수를 확인 할 수 있었다. 접종 후 증류수와 0.1mM EDTA 용액의 경우에는 생존균수가 비슷한 경향으로 사멸되는 현상을 관찰할 수 있었으나, 1mM EDTA 용액은 1분에서 급격하게 사멸되어 증류수의 osmotic shock 보다는 균의 사멸효과가 5.2배정도 빨라지는 경향을 나타냈다. 접종 후 3분, 5분 처리군에서는 여러 차례의 반복실험에서도 생존 균의 집락을 전혀 관찰할 수 없었다(Fig. 1).

PA가 EDTA를 대체할 수 있는지 보기 위해 1mM 및 0.1mM PA용액을 같은 방법으로 균주를 접종한 결과, PA 1mM의 경우는 접종 후 1분에서 7×10^1 cfu/ml이었고, 3분 및 5분에서는 EDTA와 같이 여러 차례의 반복실험에도 역시 생존 균의 집락이 전혀 관찰되지 않다. 한편 증류수에만 접종하였을 때보다는 훨씬 더 급격하고 완전한 사멸효과를 관찰할 수 있었고, 0.1mM 농도 용액에서는 접종 후 1분에서 EDTA는 2.0×10^4 cfu/ml이고 PA용액의 경우 4.4×10^4 cfu/ml로 나타났으며, 3분에서 EDTA는 7.3×10^4 cfu/ml이고 PA 경우 1.2×10^4 cfu/ml이며, 5분의 경우 EDTA는 1.9×10^4 cfu/ml이고 PA 경우 3.3×10^3 cfu/ml로 접종

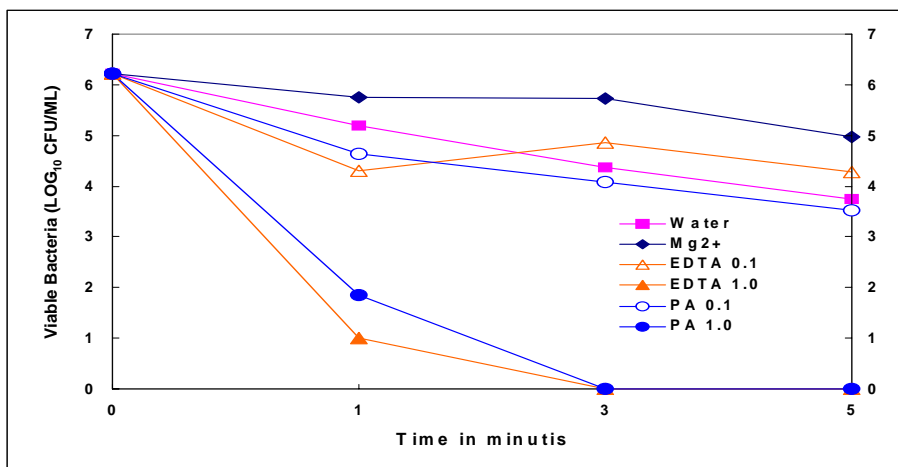


Fig. 1. Comparison of bactericidal effect of EDTA and PA on *V. vulnificus* CMPC6 inoculated in distilled water (water), 2mM Mg²⁺, (Mg²⁺) 0.1mM EDTA (EDTA 0.1), 1mM EDTA (EDTA 1.0), 0.1mM PA (PA 0.1), and 1mM PA (PA 1.0) solution.

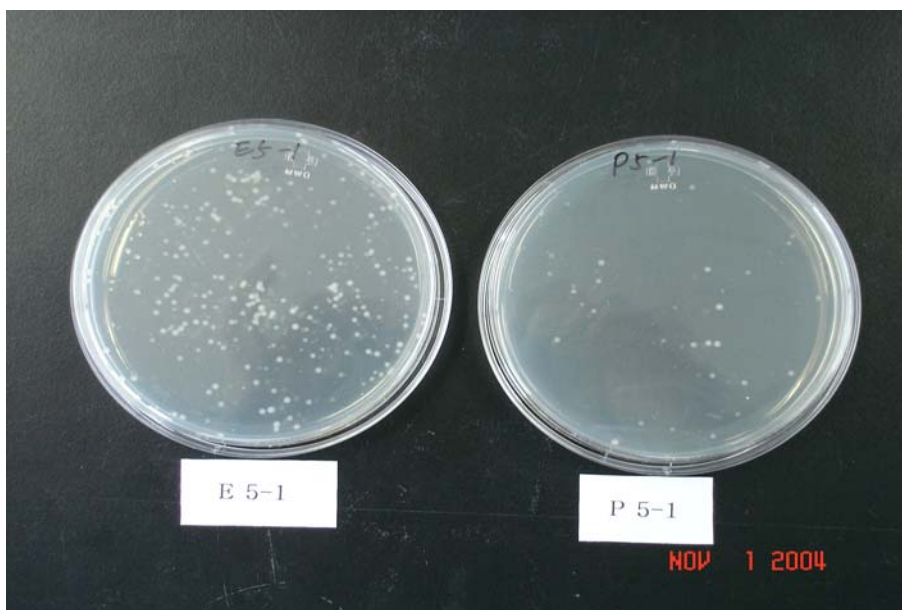


Fig. 2. *Vibrio* colonies grown on LB agar plate and bactericidal effect of 0.1mM EDTA (E 5-1) and 0.1mM PA (P 5-1) by osmotic shock five minutes after *V. vulnificus* CMPC6 inoculation.

후 시간 경과에 따라 EDTA 용액보다는 PA 용액의 경우에서 사멸 효과가 증가되는 경향을 알 수 있었다(Fig. 2). 따라서 EDTA는 화학물질이라는 선입견으로 볼 때 PA를 사용하여 *V. vulnificus*에 대한 활용이 증대되리라 생각한다.

2. Phytic acid의 *Vibrio vulnificus* 패혈증 마우스 생존율에 미치는 영향

phytic acid의 마우스의 비브리오 패혈증에 대한 영향을 조사하였다.

마우스에 균주만 투여한 대조군(DW)은 고농도(2.3×10^7 cfu/ml) 처리구에서 평균 생존시간은 348분이었고, 저농도(0.8×10^6 cfu/ml) 처리구의 평균 생존시간은 1246분이었다. 접종균 양에 따른 치사속도는 양상은 비슷했으나 고농도의 경우 사망속도가 훨씬 짧은 시간 안에 급격히 사망한 반면 저농도의 경우는 오랜 시간동안 생존한 것으로 나타났다. 이와 같은 결과 *V. vulnificus*균에

감염시 균의 접종량이 치사속도에 영향이 있음을 관찰할 수 있었다. 한편 균주 접종 후 CaEDTA의 처리군중 고농도의 경우 평균 생존시간은 387분이고 저농도의 경우 평균 생존시간은 669분으로 이는 고농도에서는 대조군과 유사한 생존 시간을 보였지만 저농도의 경우 생존시간이 약 1.9배로 약간 연장시키는 효과를 보였다. 이에 비하여 PA를 처리한 경우에는 특히 저농도 처리구에서 대조군과는 큰 차이를 보이지 않았지만 1mM에서 1256분 및 10mM에서 1319분으로 CaEDTA의 처리구 보다는 현격히 마우스의 생존시간을 늘렸으며, phytic acid를 1mM, 10mM 및 20mM 각 농도별 처리구중에서는 10mM 농도에서 효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 20mM 농도가 10mM 농도의 처리구보다 효과가 우수하지 못한 것은 phytic acid의 농도가 마우스 생존에 영향을 미친 것으로 이에 대한 연구는 앞으로 더 진행되어야 할 것으로 판단된다(Fig. 3).

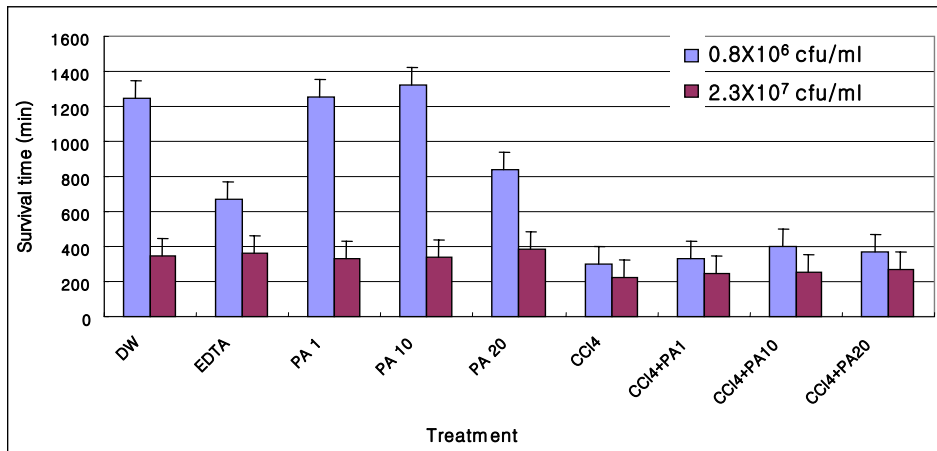


Fig. 3. The comparison of survival ratio about mouse inoculating *Vibrio vulnificus* of the concentration 2.3×10^7 and 0.8×10^6 cfu/ml, distilled water (water), 22mM EDTA (EDTA), 1mM PA (PA 1), 10mM PA (PA 10) and 20mM PA (PA 20) solution.

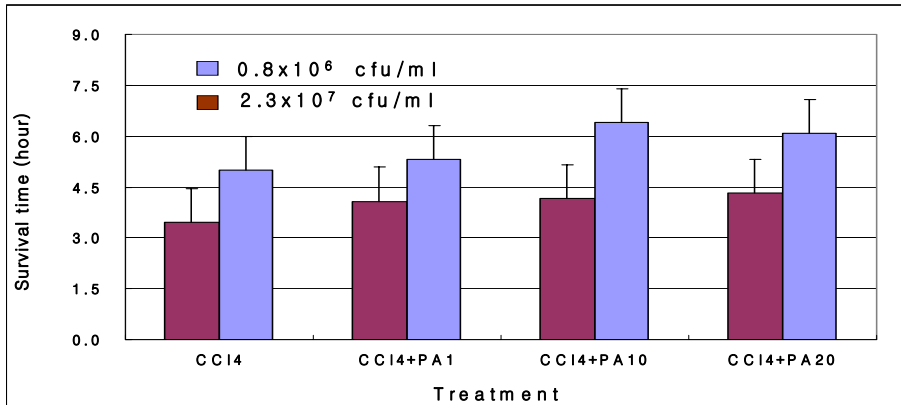


Fig. 4. The comparison of survival ratio between CCl₄ and PA about mouse inoculating *Vibrio vulnificus* of the concentration 2.3X10⁷ and 0.8X10⁶cfu/ml with inducing artificial liver damage, 1 mM PA (PA 1), 10 mM PA (PA 10) and 20 mM PA (PA 20) solution.

3. Phytic acid가 간이 손상된 마우스의 *Vibrio vulnificus* 패혈증에 미치는 영향

V. vulnificus 원발성 패혈증의 기저질환인 간장질환 상태를 재현하는 동물모형 실험으로 사염화탄소로 간을 파괴시킨 마우스를 사용하여 정상 마우스(대조군)와 비교해 *V. vulnificus*의 치사력에 변동이 생기는지 관찰하였다. 고농도의 경우 간 손상이 된 사염화탄소 단독처리한 마우스에서 평균 사망 시간이 226분이고, 대조군 마우스는 348분으로, 간 손상이 없는 대조군에 비해 1.5배 빠른 사망 속도로 나타났다. 한편 저 농도인 경우 간 손상을 유발시킨 후 사염화탄소만 단독 처리한 마우스의 평균 사망 시간은 300분이고, 간 손상을 유발시키지 않은 대조군에서는 무려 4배가 넘는 평균 사망 시간은 1246분으로, 마우스의 간 손상을 유발시킨 경우와 간 손상을 유발시키지 않은 경우 사망속도는 기저질환인 간장질환등을 앓고 있는 사람이 *V. vulnificus*에 감염될 경우 치사속도가 치명적임을 간접적으로 관찰할

수 있었다. 또한 고농도에서 사염화탄소 단독처리군의 평균사망시간은 225분이고, 사염화탄소 투여후 PA를 농도별 병행 처리군의 평균 사망시간은 248분에서 273분으로 사염화탄소 단독처리군 보다 PA를 병행 처리군이 1.2배 정도로 약간 늘어났다. 그러나 저농도의 경우 사염화탄소 단독 처리군에서 평균 사망시간은 300분이고 사염화탄소 및 PA 1mM을 병행 처리한 군에서는 평균사망시간은 332분으로 단독 처리군과 큰 차이를 보이지 않았으나, PA 10mM은 400분으로 고농도보다 1.5배 및 단독 처리군보다는 약 100분 정도의 늘어나는 생존율을 나타내고 있다. 이는 마우스가 간 손상으로 혈중 철농도가 증가 되어 *V. vulnificus*에 대한 감수성이 높지만 PA 처리구에서 chelation effect에 의한 *V. vulnificus*의 숙주 방어 능력에 사멸효과 양상을 보여주고 있다. 그러나 PA가 고농도인 20mM 농도의 경우 평균 사망속도는 369분으로 10mM에 비해 30분정도 빠른 속도로 사망하였는데 이는 *V. vulnificus*

균에 노출시 감염정도에 따른 처리제인 PA성분의 적정 농도에 대한 더 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다(Fig. 4).

V. 적 요

본 연구에서는 phytic acid가 금속이온이나 양이온을 chelate시키는 작용이 탁월하며, 특히 Fe^{2+} 나 Ca^{2+} 에 대해서 친화성이 높다는 점을 착안하여, 사람이 평소에 쉽게 섭취하고 식용이 가능하며 인체에 무해한 장점이 있는 PA가 EDTA를 대체할 수 있는지 여부를 알아보았고, 실제 동물 실험을 통해 생존율 효과에 얼마나 영향이 미치는지를 관찰한 결과이다.

1. 살균적 Osmotic Shock 및 Chelating Agent의 강화효과

- 1) 초기 실험에 투입된 균수를 측정된 결과 1.7×10^6 cfu/ml 이었으며 증류수에 의한 osmotic shock을 받은 균의 생존균수는 Mg^{2+} 경우 접종 후 1분에서 92.5%, 3분에서 91.8%, 5분에서 79.8%로 평균 88%로 큰 차이 없는 살균효과를 나타냈다.
- 2) 증류수에 의한 osmotic shock을 받은 균은 접종 후 1분에서 83.5%, 3분에서 70.0%, 5분에서 60.2%로 평균 71.2%로 비교적 완만한 살균효과를 나타냈다.
- 3) EDTA 및 PA 용액은 0.1mM 농도의 경우보다 1mM 농도에서 osmotic shock가 극적으로 강화되는 경향을 알 수 있었다.

2. Phytic acid의 *Vibrio vulnificus* 패혈증 마우스 생존율에 미치는 영향

V. vulnificus 패혈증에 미치는 영향을 관찰한 결과 고농도의 경우 마우스의 평균 사망시간은 348분이었으나 저농도인 경우 마우스의 평균 사망시간이 1246분으로 고농도 보다 3.6배나 오랜 시간 생존한 것으로 나타났다.

CaEDTA의 처치군 고농도의 경우 평균 생존시간은 387분으로 대조군 348분으로 약간의 생존시간 증가의 경향을 관찰 할 수 있었고 저 농도의 경우 평균 생존시간은 669분으로 고농도에 비해 생존시간이 1.8배 정도 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다. 그러나 phytic acid농도의 영향은 있지만 저농도에서는 생존시간이 훨씬 늘어났다. 따라서, 마우스의 접종실험결과 병원균인 *V. vulnificus*의 접종농도와 마우스의 치사속도가 정 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

3. phytic acid가 간이 손상된 마우스의 *Vibrio vulnificus* 패혈증에 미치는 영향

사염화탄소로 간을 파괴시킨 마우스를 사용하여 정상 마우스(대조군)와 비교한 결과, 간 손상이 없는 대조군에 비해 1.5배 빠른 사망 속도로 나타나, 기저질환인 간장질환 등을 앓고 있는 사람이 *V. vulnificus*에 감염될 경우 치사 속도가 치명적임을 간접적으로 관찰할 수 있었다. 마우스에 *V. vulnificus*의 접종량을 달리한 결과 2.3×10^7 cfu/ml에서는 접종 후 평균 생존시간은 226분이었고, 0.8×10^6 cfu/ml에서는 접종 후 평균 생존시간은 300분으로 두 농도간 사망속도는 1.3배로 죽어가는 양상은 비슷하였으나, 기저 질환이 없을지라도 치사속도는 접종량에 크게 의존하고 있음을 알 수 있었다.

인용문헌

1. Rhee J.H. and Chung S.S. 1986. Study on the bacteriological properties of *Vibrio vulnificus*. *Infection* 18:55-62.
2. Sun Sik Chung, M. D., Han Mo Rang, M. D. and Joon Haeng Rhee, M. D. 1989. Study on effective measure against *Vibrio vulnificus*. *J. K. Medical. Ass.* 32:272-282.
3. Gug Y.G., Kim Y.P., Chun I.G. 1987. 3 Case for diagnosis. *The 32th Annual spring meeting Korea skin a learned society an abstract* p16.
4. Go G.L. 1987. Study on the reactivation of *Vibrio vulnificus* in inhibitive by distilled water. *Chonnam J Med Sci.* a master's thesis.
5. Gomez MID, De Castro CR, D. Acosta N, De Fenos OM, De Ferreyra EC and Castro JA. 1975. Species differences in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity : The role of CCl₄ activation and of lipid peroxidation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 34:102-114.
6. Hollis DG, Weaver RE, Baker CN, Thornsberry C. 1976. Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 3:425-431.
7. Heindorff K, Aurich O, Michaelis A et al. 1983. Genetic toxicology of ethylenediaminetetraacetic acid : *Mutation Research* 115:149.
8. Jo N.J. 1986. The interior 28 case a statue clinic and epidemiology by infectious of *Vibrio vulnificus*. *J. K. Medical. Ass.* 29:69-77.
9. Johnston JM, Andes WA, Glasser G. 1983. *Vibrio vulnificus*-A gastronomic hazard. *JAMA* 249:1756-1757.
10. Kim Y.P., Chun I.G., Rhee J.J. 1985. Study on the epidemiology and infectious in clinically of *Vibrio vulnificus*. *J. K. Medical. Ass.* 28:773-780.
11. Kelly MT, Avery DM 1980. Lactose-positive *Vibrio* in sea water: a case of pneumonia in a drowning victim. *J. Clin. Microbiol.* 11:278-280.
12. Mertens A, Nagler J, Hansen W, Gepts Friedenreich E 1979. Halophilic, lactose-positive *Vibrio* in a case of fatal septicemia. *J. Clin. Microbiol.* 9:233-235.
13. Oliver JD 1981. Lethal cold stress of *Vibrio vulnificus* in oysters *Appl. Environ. Microbiol.* 41:710-717.
14. Oliver JD, Colwell RR 1973. Extractable lipid of gram negative marine bacteria phospholipid composition. *J. Bacteriol.*, 114:897-908.
15. Oliver JD, Warner RA, Cleland DR 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting *Vibrio* in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45:985-998.
16. Poole MD, Oliver JD 1978. Experimental pathogenicity and mortality in ligated ileal loop studies of the newly reported halophilic lactose-positive *Vibrio* sp. *Infect Immun.*, 20:126-129.
17. Rhee J.H. and Choi S.H. 1987. Bactericidal activity of tetracycline against. *Journal of Microbiology* 22:109-116.
18. Rhee JH, Chung SS, Baek HS, and Ryu PY 1991. Potentiation of osmotic shock against *Vibrio vulnificus* by ethylenediaminetetraacetic acid. *Chonnam J. Med. Sci.* 4:47-51.