

경상남도 유통 어패류와 해양환경에서 분리된 비브리오균속 (*Vibrio* spp.) 분포 및 항생제 내성 특성

탁진영 · 박정길 · 엄지영 · 최수완 · 황나람 · 김미숙* · 김제동

경상남도보건환경연구원

Distribution and Antibiotic Resistance of *Vibrio* spp. Isolated from Fishery Products and Coastal Areas in Gyeongsangnam-do

Jin Yeong Tak, Jeong Gil Park, Ji-Young Um, Su Wan Choi, Na Lam Hwang, Mi Suk Kim* and Jae Dong Kim
Gyeongsangnam-do Institute of Health and Environment, Jinju 52732, Republic of Korea

Vibrio spp. are aquatic bacteria that are ubiquitous in warm estuarine and marine environments. Especially, *V. vulnificus* and *V. cholerae* are currently known to cause potentially fatal infections in humans. This study investigated the distribution and antibiotic resistance of *V. vulnificus* and *V. cholerae* isolated from coastal areas of Gyeongsangnam-do in 2022. A total of 252 samples of water, shellfish and coastal sediment were collected from 7 locations along the coast, and 124 samples of fishery products were collected from markets. Among the 252 samples, forty-four *V. vulnificus* (11.7%) and fourteen *V. cholerae* non-O1/non-O139 (3.7%), none of which carried the *ctx* gene, were isolated. Out of the 124 samples, 6 (4.8%) tested positive for *V. vulnificus* and *V. cholerae* was not detected. The isolation rates of *V. vulnificus* and *V. cholerae* showed a significant correlation with environmental factors such as seawater temperature and salinity. In an antibiotic resistance test, *V. vulnificus* was susceptible to amikacin, gentamicin, imipenem trimethoprim/sulfamethoxazole, and ciprofloxacin, but resistant to ceftiofur (100.0%), followed by tetracycline (9.1%). Multidrug resistance was also observed. Continuous monitoring of *Vibrio* pathogens with water temperature and salinity is expected to help reduce the outbreaks, and rational use of antibiotic agents is needed to prevent the accession of antibiotic-resistant microorganisms in aquatic ecosystems.

Keywords: *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, Antibiotic resistance, Gyeongsangnam-do

서론

비브리오균은 해양 환경에 상재하며 오염된 해산물을 섭취하거나 오염된 바닷물에 상처가 노출될 시 감염될 수 있다. 현재까지 77종의 비브리오균이 확인되었으며, 이 중 12종이 인체내 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Hwang et al., 2008). 특히 우리나라에서 주로 문제가 되는 주요 병원성 비브리오균은 *Vibrio cholerae*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* 등이 있으며, 이 중 *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O139, *V. vulnificus*는 다른 종에 비해 전염성이 강하고 위해도가 높다(Park et al., 2021). 질병관리청의 감염병 통계에 따르면, 비브리오 패혈증은 최근 10년간 매년 약 50건 내외의 환자가 보고되었으며, 2021년에

는 총 52명의 환자 중 22명이 사망하는 등 높은 치사율을 보였다. 한편 최근 5년 동안 비브리오 콜레라 환자는 발생하지 않았지만, 2016년에 4명의 환자가 발생(KDCA, 2022) 하였고, 그 중 2명이 경남에서 회를 섭취한 후 발병되었다. 지구온난화로 야기되는 수온과 염도의 변화는 병원성 비브리오균들의 증식과 분포에 직접적으로 영향을 미치며, 병원성 비브리오균 감염환자 발생률을 높이는데 관련이 있다고 알려져 있다(Roux et al., 2015). 일반적으로 비브리오 패혈증 환자는 5월경에 처음 발생하는데, 2020년에는 1월에 환자가 발생하였다(KDCA, 2022) 따라서 비브리오 감염은 지구온난화의 영향으로 계절과 무관하게 발생하며, 이와 관련된 예방 및 관리가 매우 중요한 실정이다(MFDS, 2021). 이러한 맥락에서 비브리오균 감염증 환자 발생

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 254. 2252 Fax: +82. 55. 254. 2249

E-mail address: sehaya@korea.kr



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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0626>

Korean J Fish Aquat Sci 56(5), 626-633, October 2023

Received 19 May 2023; Revised 20 June 2023; Accepted 23 August 2023

저자 직위: 탁진영(연구사), 박정길(연구사), 엄지영(연구사), 최수완(연구사), 황나람(연구사), 김미숙(연구관), 김제동(연구관)

을 억제하고 지역사회로의 확산을 방지하기 위해서는 해양환경 및 수산물 내 병원성 비브리오균의 증식 변화에 지속적인 감시가 요구되고 있으나, 수온, 염도 등 해양 환경기준으로 검사하는 현재의 시스템만으로는 실제 소비 시장에서 유통되는 수산물의 감시영역으로까지 미치지 못하고 있는 실정이다.

병원성 세균에 의한 피해를 막고 양식 해산물 생산성 향상을 위해 1990년대 초반부터 항생제가 널리 보급되었다(Vaseeharan et al., 2005). 특히 해상 양식장의 경우 질병의 치료를 위하여 항생제를 양식 해수에 직접 투여하는 것뿐만 아니라 간접적으로 사료에 첨가하는 등 수산용 항생제가 광범위하게 사용되어 왔다. 그러나 과도한 항생제 사용은 비브리오속 세균과 같은 해양 병원성 미생물들의 항생제 내성을 증가시키는 원인으로 작용하였다(Schwartz et al., 2003; Kumar et al., 2009). 또한 생활하수 혹은 축산폐수 등에 존재하는 육상 유래 항생제 내성균이 강이나 하천을 통하여 해양환경으로 유입되어 항생제 내성이 전달되기도 하였다(Mezrioui and Oufdou, 1996). 세계적으로도 해수, 갯벌, 어류 등에서 ampicillin, gentamicin, penicillin 및 tetracycline 등의 항생제에 내성을 보이는 병원성 세균들이 보고되고 있다(Oh et al., 2021).

비브리오 패혈증은 진행 속도가 매우 빨라 관련 항생제를 적용함에도 전신증상 후 평균 4.2일이면 사망률이 62~79%에 이르는 치명적 질환이다(Yang et al., 2005). *V. vulnificus* 감염증의 치료에서 신속한 항생제 투여가 환자의 생존과 예후에 매우 중요하지만(Elmahdi et al., 2016), 항생제 내성이 환자의 치료에 어려움을 유발하고 있다. 따라서 본 연구에서는 2022년 동안 경남지역에서 위해도가 높은 비브리오 패혈증 및 비브리오 콜레라균의 증식 변화를 분석하고, 실제 소비자에게 유통되는 수산물에서의 비브리오균 오염도를 파악하고자 하였다. 또한 분리된 균의 항생제 내성을 조사하여, 비브리오 패혈증 치료에 사용되는 항생제 내성 패턴을 확인하였다.

재료 및 방법

검체 채취 및 구입

해양환경 검체는 2022년 1월부터 12월까지 경남 시군 중 고성, 거제, 남해, 사천, 창원시 마산, 통영, 하동에서 민물의 유입이나 오염 가능성이 높은 연안지역 7곳에서 월 1회 채취되었다(Fig. 1). 각 지역별로 해수, 갯벌, 패류를 대상으로 총 252개의 검체를 실험하였다.

해수는 수심 1 m 이내 표층 해수 500 mL을 채취하여 수온 및 염도를 측정하였다. 갯벌과 패류는 멸균된 Specimen cup (SPL Life Science, Pocheon, Korea)에 약 10 g을 채취하였다. 도내 유통 어패류 검체는 경남 연안지역 중 어패류 유통이 활발한 남해, 사천, 창원시 마산, 통영 총 4개 지역에서 구입하였으며, 어패류로는 돔, 도다리, 우럭, 광어 등 어류 58건과 개조개, 소라, 전복, 키조개, 가리비, 석화 등 패류 66건의 검체를 구입하였다

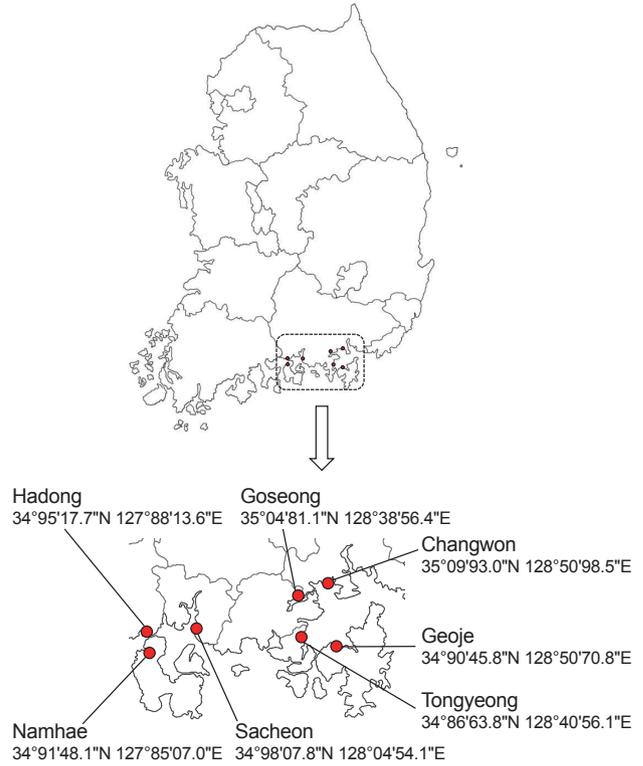


Fig. 1. Sampling locations for the monitoring of *Vibrio* spp. in Gyeongsangnam-do.

(Table 1).

비브리오균 분리 동정을 위한 증균배양

채취한 해수 검체 500 mL를 0.45 μm membranes filter (Advantec, Tokyo, Japan)로 여과 후 여지를 alkaline peptone water (APW; pH 8.4, 2% NaCl) 25 mL에 넣었다. 갯벌과 패류도

Table 1. The number of fishery products collected from the market in Gyeongsangnam-do

Month	Sampling sites	No. of samples	
		Fish	Shellfish
Mar.	Namhae	5	5
	Sacheon	8	8
	Tongyeong	8	7
Jul.	Masan	6	7
	Sacheon	5	6
	Tongyeong	8	9
Nov.	Changwon	6	10
	Sacheon	5	7
	Tongyeong	7	7
Total		58	66

APW 90 mL를 첨가하여 약 100 mL로 맞춘 후, 37°C 배양기에 질병관리청의 해양환경 내 병원성 비브리오균 실험실 감시 사업 표준검사업무 매뉴얼(KDCA, 2018)에 따라 7-8시간 배양시켰다.

유통 어패류 중 어류는 아가미 부위, 잘게 썬 살 및 내장 약 25 g과 패류의 안쪽 부분을 약 25 g씩 채취하여 TEMPO SACS 멸균 백(Biomerieux, Craponne, France)에 넣었다. 그리고 APW 225 mL를 첨가하여 BagMixer 400 (Interscience, Saint Nom la Brétèche, France)으로 균질화하고 밀봉하였다. 그 후 호기성 조건으로 37°C 배양기에 18-24시간 배양시켰다.

비브리오균 분리 동정을 위한 분리배양

증균된 배양액을 CHROMagar™ *Vibrio* (CHROMagar, Paris, France) 배지에 옮겨 희석 도말하여 37°C에서 18-24시간 배양하였다. 이후, 의심되는 집락을 일부 채취하여 멸균증류수 100 µL에 가하여 현탁 후 Heating Block (MaXtable H10-set; Daihan Scientific, Wonju, Korea)으로 100°C에서 15분 가열하고 12,000 rpm, 5분간 원심분리하였다. 상층액은 conventional PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

비브리오균 분리 동정을 위한 독소유전자시험

Pathogenic Bacteria Detection kit (*Vibrio*) (GeNet Bio, Daejeon, Korea)를 이용하여 병원성 비브리오균 2종을 분석하였으며, 균별 표적 유전자는 *V. cholerae*의 *hlyA*, *V. vulnificus*의 *vvhA*이며, 크기는 각각 329 bp, 507 bp였다. Primer/mix 15 µL에 template DNA 5 µL를 첨가하여 ProFlex 96 well (Life Technologies, Singapore) 기기를 사용하여 PCR을 수행하였다.

PCR 반응 조건은 50°C에서 3분, 95°C에서 10분간 Pre-denaturation을 하였다. 그리고 95°C에서 30초 Denaturation, 68°C에서 annealing/extension을 45초간 35회 반복하였으며, 최종 72°C에서 5분간 Elongation 한 뒤 QIAxcel (QIAGEN, Hiden, Germany)로 전기영동을 통해 증폭 산물을 확인하였다.

*V. cholerae*의 *hlyA* 유전자가 확인된 균은 콜레라 독소(cholera toxin, CTX) 생산 유무를 조사하기 위하여 PowerChek™ *Vibrio* Multi I Real-time PCR Kit (Kogene Biotech, Seoul, Korea)로 *ctx* 유전자 분석을 추가로 수행하였다. Kit 내 primix를 15 µL에 넣고 template DNA 5 µL를 첨가하여 ABI 7500 Fast Real-time PCR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 기기를 사용하여 Real-time PCR을 수행하였다.

PCR 반응 조건은 50°C에서 2분과 95°C에서 10분 초기반응 후, 95°C 15초와 60°C 1분을 35회 반복하여 유전자 증폭을 확인하였다. 결과 분석은 33 threshold cycle 이하일 때, 검출로 판단하였다. 최종적으로 독소가 확인된 균주의 순수한 단일 집락을 얻기 위해 CHROMagar™ *Vibrio* (CHROMagar) 배지에 계대 배양하였다.

비브리오균 분리 동정을 위한 확인실험

2% NaCl이 첨가된 Tryptic Soy Agar (Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에서 확인된 순수 집락을 선택하여 DensiCHEK instrument (Biomerieux)를 이용하여 McFarland No. 0.6으로 현탁하고 접종 균액을 제조하였다. 접종 균액을 VITEK GN Card (Biomerieux)에 접종한 후 VITEK 2 system (Biomerieux)를 이용하여 병원성 비브리오 균주를 동정하였다. 이때, 신뢰도 90% 이상일 경우에 최종 균주로 판정하였다.

항생제 감수성 검사

항생제 감수성 및 내성 검사는 VITEK 2 system (Biomerieux)의 AST-N169 패널을 사용하여 실험하였다. 순수 분리한 균주를 2% NaCl이 첨가된 Tryptic Soy Agar (Difco)에 접종하여 37°C에서 18-24시간 배양한 후 0.45% saline에 부유시켜 McFarland No. 0.6으로 만든 후 이 균액 145 µL를 새로운 3 mL 0.45% saline에 넣어 vortexing하였다. 그 후 VITEK 2 compact (Biomerieux)를 사용하여 항생제 감수성 검사를 하였다. 대상 항생제는 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/sulbactam, cefazolin, cefoxitin, imipenem, ciprofloxacin, amikacin, gentamicin, tetracycline, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole 12종이다. 감수성, 중간내성 및 내성의 판단은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준에 따라 판정하였다(CLSI, 2020).

자료의 통계적 분석

병원성 비브리오균 분리율과 수질환경요인들의 관계를 알아 보기 위해서 Microsoft excel 2016의 Pearson의 상관계수를 이용하여 상관분석을 하였다. 변수 간 유의성 검증은 t-test를 사용하였으며, 통계적 유의성은 P-value가 0.05 이하 값일 때 유효한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

해양환경인자의 변화

12개월 동안 7지점의 수온 및 염도 변화를 측정하였다(Fig. 2). 수온은 최저 4.2°C에서 최고 33.1°C까지 변화폭을 보였다. 7개 지점의 수온 중앙값(median)은 18.6-19.8°C의 범위이며, 사분위 범위(interquartile range, IQR)는 고성, 거제, 사천이 9.0-25.9°C 범위로 다른 지점들(11.1-25.3°C)보다 낮았다.

염도는 최저 25.0 psu (practical salinity units)에서 최고 37.0 psu까지 변화되었으며, 중앙값은 33.5-35.2 psu이며, 사분위 범위는 33.5-36.1 psu였지만 고성 지점은 31.7-34.8 psu로 다른 지점보다 낮은 수치를 보였다. 거제, 고성과 창원시 마산은 사분위 범위 값에서 멀리 떨어진 특이치(outlier, 각 27.9, 25.6, 25.0 psu)가 측정되었는데, 이는 7-9월에 채취된 것으로 여름철 다량의 강우로 인해 일시적으로 염도가 감소한 것으로 판단

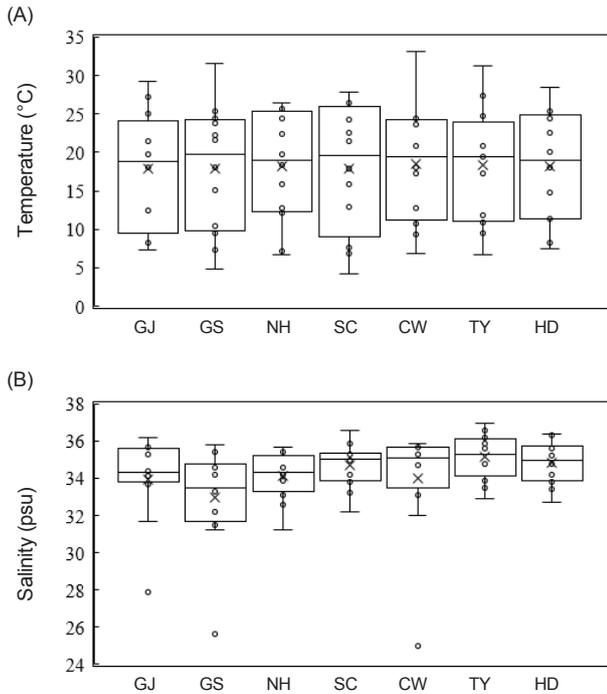


Fig. 2. Distribution of marine environmental factor measurements (A, temperature; B, salinity) at seven locations. GJ, Geoje; GS, Goseong; NH, Namhae; SC, Sacheon; CW, Changwon; TY, Tongyeong; HD, Hadong.

된다.

월별 평균 수온은 6.7 ± 0.8 – 28.9 ± 2.5 °C이며, 7월은 평균 26.5 – 33.1 °C로 가장 높았다(Fig. 3). 한편, 월별 평균 염분농도는 31.9 ± 2.9 – 35.8 ± 0.7 psu이었고, 상대적으로 낮은 염분농도는 7–9월에 측정되었다. 염도는 수온과는 반대로 강수량, 증발량, 강물의 유입에 영향을 받으며, 특히 강수량이 증발량보다 많은 7–9월에는 표층 염분이 일시적으로 감소하는 경향을 보였다.

병원성 비브리오균 분리 현황

경남 해양환경에서 수집된 252건의 검체 중 38건(14.7%)에서 비브리오 패혈증균이 분리되었고, 14건(5.6%)에서 비브리오 콜레라균이 분리되었다. *ctx* 유전자를 가진 응집성 콜레라균은 분리되지 않아 모두 비응집성 콜레라균(*V. cholerae* non-O1 및 non-O139)으로 확인되었다.

병원성 비브리오균은 수온이 상승하고, 염도가 낮아지는 4월에 첫 분리되었고, 하절기인 7월부터 분리율이 상승되어 9월에 최고로 높았다. 이후 10월부터는 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3). 7–9월에 높은 분리율을 보인 이유는 하절기 표층수의 온도 상승과 강우로 인한 염도의 감소가 비브리오균 증식에 적합한 환경을 제공한 것으로 보인다.

비브리오 패혈증균은 수온 14.8 °C, 염도는 35.2 psu의 하동 해수와 갯벌 검체에서 처음 분리되었다. 이와 같은 결과는 비브리

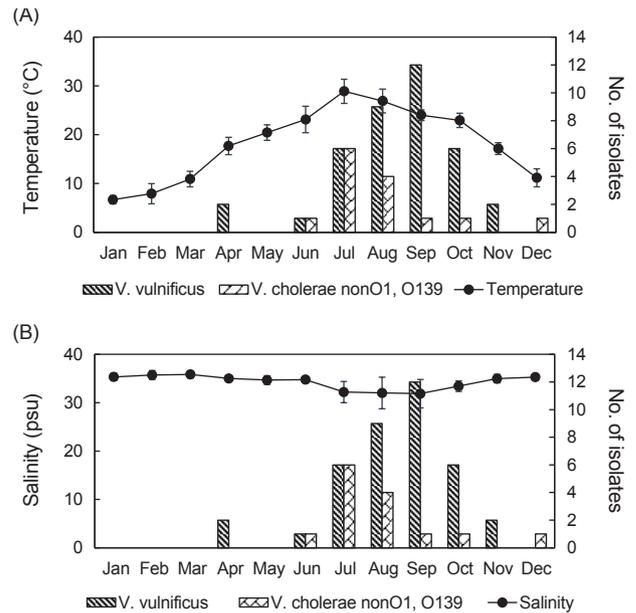


Fig. 3. The tendency and relation of pathogenic *Vibrio* spp. isolation with marine environmental factors. A, Temperature of seawater; B, Salinity.

오 패혈증균의 일반적인 성장 온도 18 °C보다 낮은 온도에서 분리된 사례로 비브리오 패혈증균의 분리 온도가 점차 낮아지고 있는 것으로 확인되었다(Nam and Lee, 2013; Hwang and Lee, 2014). 이후, 6월 1건(2.6%), 7월 6건(15.8%), 8월 9건(23.7%), 9월 12건(31.6%)까지 지속해서 증가하였다. 이는 하절기 표층수 온도 상승과 강우에 의한 유기물의 유입이 비브리오균 증식에 적합한 환경이 조성되었다고 판단된다. 10월, 11월은 각각 6건(15.8%), 2건(5.3%)으로 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 7–9월에 걸쳐 높은 분리율을 보이다가 10월부터 감소하는 기존의 연구와도 일치하였다(Na et al., 2015).

비응집성 콜레라균은 총 252건의 검체 중 6월 고성 해수에서 첫 분리된 이후 7월에는 6건(42.9%)으로 가장 높은 분리율을 기록했다. 이어서 8월에 4건(28.6%)으로 분리되었으며, 9월, 10월 및 12월에는 각각 1건(7.1%)으로 분리되었다. 비응집성 콜레라균은 수온과 기온 변화와 무관하게 산발적인 분리율을 보였으나 염도가 일시적으로 하락한 7–8월에 평균 이상의 분리율을 보여, 담수의 유입 등의 영향이 더 큰 것으로 보인다(Fig. 3).

해양환경인자와 비브리오균 속의 상관분석

병원성 비브리오균별 균주 분리율과 해양환경인자와의 상호연관성을 확인하기 위해 상관분석을 수행하였다(Table 2). 상관분석에 사용된 변수는 월별 균주 분리율과 월평균 수온, 염도의 측정치를 포함하였다.

비브리오 패혈증균과 수온 간의 상관계수는 $(+0.721)$ 이었으

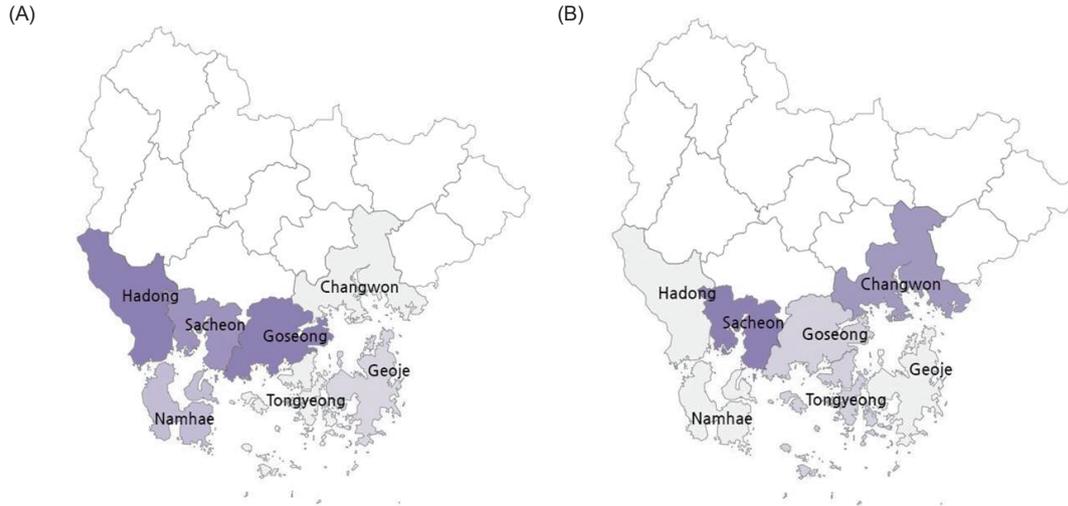


Fig. 4. A color-coded map of Gyeongsangnam-do for the cumulative *Vibrio* spp. isolates. Purple/gray colored areas indicate spatial clusters with high/low *Vibrio* spp. isolates, respectively. A, *V. vulnificus*; B, *V. cholerae* non-O1 and non-O139.

며, 비응집성 콜레라균의 경우도 (+)0.690로 (+)연관성이 유의하게 나타났다.

비브리오균은 수온과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 해양환경 내 존재하는 비브리오균은 해수 온도가 상승할수록 빠르게 증가하며, 인체 감염자의 증가 추이와도 상관관계가 있는 것으로 나타난다는 결과와 일치하였다(Roux et al., 2015).

염도는 병원성 비브리오균의 분리율과 음의 상관관계를 나타냈으며, 비브리오 패혈증균과 염도의 상관계수는 (-)0.941이며, 비응집성 콜레라균의 경우 (-)0.746으로 (-)의 연관성이 유의하게 나타났다. 기존 연구에서도 비브리오 패혈증균 증식이 해수의 염도와 음의 상관성을 보였고(Oliver et al., 1983), 빗물이 유입되어 염도가 낮은 연안지역에서 균 분리율이 염도가 높은 지역보다 높은 것으로 확인되었다(Kelly, 1982).

또한 Kelly (1982), Kaspar and Tamlin (1993)의 연구에서 염도가 낮을수록 병원성 비브리오균의 성장률이 높았고, 특정 염도 이상에서는 균수가 감소된다고 보고한 결과와 유사한 결과를 얻었다.

병원성 비브리오균 지역별 분리현황

해양환경에서의 비브리오 패혈증균과 비응집성 콜레라균은 7

Table 2. The correlation coefficient between the pathogenic *Vibrio* spp. and environmental factors

Environmental factors	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio cholerae</i> non-O1 and non-O139
Temperature	0.721**	0.690*
Salinity	-0.941**	-0.746**

*P-value<0.05. **P-value<0.01.

개 지점 모두에서 병원체를 확인하였다(Fig. 4, Table 3). 분리된 비브리오 패혈증균 총 38건 중 하동과 고성에서 10건(26.3%)으로 가장 많이 분리되었다. 그 다음으로는 사천 9건(23.7%), 남해 5건(13.2%), 거제 2건(5.3%), 통영과 창원에서 1건(2.6%) 순으로 분리되었다. 전체적으로 경남의 서부 해양환경에서 비브리오 패혈증균 분리율 (63.2%)이 높았다(Fig. 4A).

비응집성 콜레라균은 총 14건 중 사천 4건(28.6%)으로 가장 많이 분리되었다. 그 다음으로 창원 3건(21.4%), 고성과 통영에서 2건(14.3%) 분리되었으며, 거제, 남해와 하동에서 1건(7.1%)씩 분리되었다(Fig. 4B).

고성과 하동 지역에서 비브리오 패혈증균이 다수 분리되었던 반면, 비응집성 콜레라균 분리율은 낮았다. 이러한 차이는 수온과 염도 외에 다른 주변 환경 요인의 영향을 받을 것으로 보이며, 이에 대한 추가적인 분석이 필요하다.

Table 3. Regional distribution of *Vibrio* spp. isolated from the marine environment of Gyeongsangnam-do

Sampling sites	No. of isolates (%)	
	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio cholerae</i> non-O1 and non-O139
Goseong	10 (26.3)	2 (14.3)
Geoje	2 (5.3)	1 (7.1)
Namhae	5 (13.2)	1 (7.1)
Sacheon	9 (23.7)	4 (28.6)
Changwon	1 (2.6)	3 (21.4)
Tongyeong	1 (2.6)	2 (14.3)
Hadong	10 (26.3)	1 (7.1)
Total	38 (15.1)	14 (5.6)

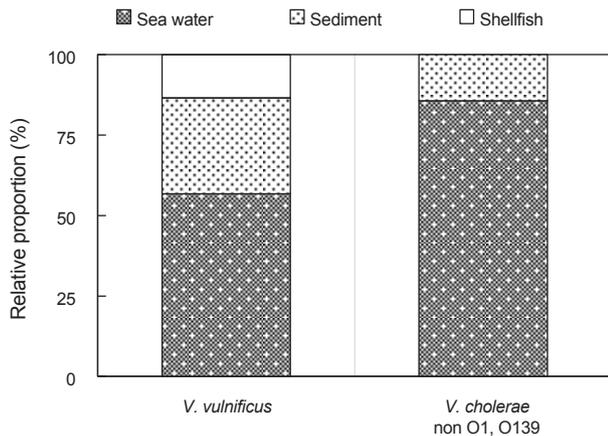


Fig. 5. Relative proportion of *Vibrio* spp. isolated from marine environment samples.

검체별 분리현황

해양환경에서 분리된 비브리오 패혈증균의 검체 종류별 분리 양상을 살펴 보면, 해수에서 22건(56.8%)으로 가장 많이 분리되었다. 그 다음으로 갯벌에서 11건(29.7%), 패류에서 5건(13.5%)으로 분리되었다(Fig. 5). 비응집성 콜레라균은 해수에서 12건(85.7%), 갯벌 2건(14.3%)으로 분리되었다. 전체적으로 병원성 비브리오균이 특히 해수에서 높은 분리율을 보인다는 이전 연구와 일치하는 결과를 볼 수 있었다(Lee et al., 2021).

유통 어패류의 비브리오균 분리 현황

유통 어패류 총 124건 중에서 비브리오 패혈증균은 총 6건(4.8%)이 모두 어류에서 분리되었으며, 종류는 강도다리, 돌돔, 쥐치, 광어, 줄돔, 우럭으로 다양한 어종에서 나타났다. 그러나 비브리오 콜레라균은 분리되지 않았다. 지역별 분리 현황에서는 사천에서 구매한 검체에서 5건(4.0%)으로 가장 많이 분리되었으며, 창원에서는 1건(0.8%)이 분리되었다. 해양환경에서 비브리오 패혈증균의 분리와 마찬가지로 3월에는 분리되지 않았으며, 7월에는 4건(3.2%), 11월에 2건(1.6%)이 분리되었다.

V. vulnificus 항생제 감수성

해양환경에서 분리된 비브리오 패혈증균 38균주와 유통 어패류에서 분리된 비브리오 패혈증균 6균주를 대상으로 12종의 항생제에 대하여 감수성 및 내성 실험결과를 Table 4에 나타내었다.

분리된 44균주 모두 amikacin, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, trimethoprim/sulfamethoxazole의 5개 항생제에 100%를 감수성을 보여 치료제로 적합함을 알 수 있었다. 그러나 항생제 cefoxitin는 44균주(100.0%)에 모두 내성을 나타내었으며, 이어 tetracycline은 4균주(9.1%), ampicillin과 ampicillin/sulbactam는 2균주(4.5%)에 내성을 나타내었다. Cefazo-

lin은 9균주(20.5%), chloramphenicol은 2균주(4.5%), amoxicillin/clavulanic acid는 1균주(2.2%)에서 중간 내성을 보인 항생제로 확인되었다.

본 결과는 2019년에서 2020년 충청남도 해수, 갯벌에서 분리한 비브리오 패혈증균 균주에 대한 항생제 내성 실험결과 cefoxitin, cefazolin, ampicillin에 각각 85.5%, 6.0%, 3.5% 내성을 나타내었다는 보고(Lee et al., 2021)와 2014년에서 2015년 전남지역 해수 및 갯벌에서 분리된 비브리오 패혈증균 균주에 대한 항생제 내성 실험 결과 cefoxitin에 85.7%, ampicillin에 14.3% 내성을 나타내었다는 보고(Ha et al., 2017)와 유사한 결과를 나타내었다. 하지만 Yoon et al. (2020)은 환사에서 분리한 *V. vulnificus* 18균주 중 cefoxitin에 17균주(94.4%)가 내성을 나타내었지만, ampicillin, chloramphenicol 및 tetracycline 등 14종의 항균제에 대해서는 본 연구 결과와 상반되게 모든 균주가 거의 내성이 나타나지 않았다고 보고하였다. 또한 거제 연안의 환경에서 분리된 16균주는 trimethoprim (6.3%)에는 내성을 나타내었지만, ampicillin에는 모든 균주가 내성을 나타내지 않았다고 보고(Yang et al., 2017) 하였고, Kang et al. (2013)은 서해안 패류시료에서 분리된 비브리오균주 총 28개 균주 중 23개 균주(82.1%)의 ampicillin에 높은 내성을 보고하였다. 이처럼 같은 항생제이더라도 분리된 균주에 따라 내성 차이를 나타내는 것은 비브리오균 중 일부가 내성인자들을 각각의 수계

Table 4. Antimicrobial susceptibility and resistance of *Vibrio vulnificus* strains isolated from coastal area and fishery products in Gyeongsangnam-do

Antimicrobial agents class	Antibiotics	No. of isolates					
		Coastal area (38 ¹)			Seafood (6 ¹)		
		S	I	R	S	I	R
Penicillin	Ampicillin	37	-	1	5	-	1
	Amoxicillin/ Clavulanic acid	38	-	-	5	1	-
β-lactam combination	Ampicillin/ Sulbactam	37	-	1	5	-	1
	Cefazolin	32	6	-	3	3	-
Cephems	Cefoxitin	38	-	38	-	-	6
	Imipenem	38	-	-	6	-	-
Carbapenem	Amikacin	38	-	-	6	-	-
	Gentamicin	38	-	-	6	-	-
Aminoglycoside	Ciprofloxacin	38	-	-	6	-	-
Quinolone	Tetracycline	35	-	3	5	-	1
Tetracycline	Chloramphenicol	37	1	-	5	1	-
Phenicol	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	38	-	-	6	-	-
Folate pathway antagonist							

¹Were total number of isolates. S, Susceptibility; I, Intermediate resistance; R, Resistance.

Table 5. Multidrug resistance patterns of *Vibrio vulnificus* by number of resistant or intermediate-resistant antibiotics

Site / Date	Antibiotic resistance patterns	No. of antibiotics
Hadong / 2022. Oct.	AMP-SAM-CHL-FOX-TET	5
Sacheon / 2022. Nov.	AMP-AMC-SAM-CHL-FOX-TET	6

AMP, Ampicillin; AMC, Amoxicillin/Clavulanic Acid; SAM, Ampicillin/Sulbactam; CHL, Chloramphenicol; FOX, Cefoxitin; TET, Tetracycline.

침전 물이나 주변 환경으로부터 획득할 수 있고(Neela et al., 2007), 해역환경 변화에 의한 시료 특성과 환경 조건에 의한 결과(Kang et al., 2013)때문인 것으로 사료된다.

비브리오 패혈증균 44균주 모두에 내성을 나타낸 cefoxitin 외에 내성 및 중간내성을 가진 균주를 지역 별로 분류해 보면, 해양환경에서 분리한 균은 하동 4건(44.4%), 사천 2건(22.2%), 남해와 고성, 하동이 1건(11.1%)씩 확인되었다. 유통 어패류에서 분리된 비브리오 패혈증균 4 균주 모두 사천에서 분리되었다.

이를 검체별 현황으로 분류해 보면, 해수 5건(38.5%), 갯벌 4건(30.8%), 어류 4건(30.8%)으로 확인되었다. 내성 및 중간내성을 가진 균주는 하동지역의 해수, 갯벌과 사천지역의 어류에서 다수 분리되었다. 질병관리청에 보고된 경남 비브리오 패혈증 환자 지역별 통계에서도 사천지역이 인구 10만명당 발생률(환자 주소지 기준)이 4.56으로 전국에서 가장 높은 편이다(KDCA, 2022).

대부분이 1개 항생제에 내성을 나타내고 있으나, 2가지 이상의 항생제에 동시 내성을 나타내는 다제내성균은 44균주 중에서 2균주(4.5%)로 나타났다. 내성 또는 중간내성을 보이는 항생제 개수에 따라 균주를 분류한 결과 총 2개의 패턴이 확인되었다(Table 5). 10월 하동 갯벌과 11월 사천 유통 어류에서 분리된 균이며, 공통적으로 ampicillin, ampicillin/sulbactam, cefoxitin, tetracycline에 내성이 있었고 amoxicillin/clavulanic acid와 chloramphenicol에 중간내성이 있었다.

비브리오 패혈증의 치료는 주로 3세대 cephalosporin, chloramphenicol, fluoroquinolone계 및 tetracycline계 항생제로 치료한다고 알려져 있다(Kim and Hong, 2012). 중간내성을 나타내는 항생제로 치료시 약제 효과가 충분히 나타나지 않을 수 있어, 고용량의 투여가 필요하게 되고 항생제 내성 균주를 출현시킬 수 있다(Rodloff et al., 2008; Hamdani et al., 2020). 본 연구에서는 chloramphenicol에 대한 중간내성이 2균주에서 보였고, tetracycline에 대한 내성이 4균주에서 확인되었다. 이는 현 치료제로 사용되는 일부 항생제에 대해서 내성 및 중간내성을 나타낼 수 있음을 확인했으므로 비브리오 패혈증의 감염관리 및 예방을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

References

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2020. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test-

ing. 30th ed. CLSI supplement M100, CLSI, Wayne, PA, U.S.A.

Elmahdi S, DaSilva LV and Parveen S. 2016. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: A review. Food Microbiol 57, 128-1349. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.02.008>.

Hamdani SS, Bhat BA, Tariq L, Yaseen SI, Ara I, Rafi B, Hamdani SN, Hassan T and Rashid O. 2020. Antibiotic resistance: the future disaster. Int J Res Appl Sci Biotechnol 7, 133-145.

Ha TM, Jeon DY, Im HC, Yoon YH, Shin MY, Yoon KB and Kim JB. 2017. Antimicrobial activity of Maesil (*Prunus mume*) extract against *Vibrio vulnificus*. J Food Hyg Saf 32, 163-169. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.2.163>.

Hwang BM and Lee DK. 2014. Prevalence and characteristics of pathogenic *Vibrio* spp. in Korea, 2013. Public Health Weekly Report 7, 617-622.

Hwang KW, Gong YW, Lee JM, Go JM and Kim YH. 2008. Distribution and characteristic of growth of *Vibrio* spp. in Incheon coastal area. J Environ Sanit Eng 23, 31-38

Kang C, Oh SJ and So J. 2013. Antibiotic susceptibility of *Vibrio* spp. isolated from West Sea. Korean J Microbiol 49, 146-149. <https://doi.org/10.7845/kjm.2013.3028>.

Kaspar CW and Tamplin ML. 1993. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. Appl Environ Microbiol 59, 2425-2429. <https://doi.org/10.1128/aem.59.8.2425-2429.1993>.

KDCA (Korea Disease Control and Prevention Agency). 2018. Standard Inspection Practice Manual for Laboratory Surveillance of Pathogenic *Vibrio* Specises from the Costal Environment in the South Korea. Yeosu National Quarantine Station, Yeosu, Korea.

KDCA (Korea Disease Control and Prevention Agency). 2022. Infectious Disease Portal. Retrieved from <http://www.kdca.go.kr> on Dec 19, 2022.

Kelly MT. 1982. Effect of temperature and salinity on *Vibrio* (Beneckea) *vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. Appl Environ Microbiol 44, 820-824. <https://doi.org/10.1128/aem.44.4.820-824.1982>.

Kim DM and Hong SJ. 2012. *Vibrio vulnificus* sepsis. Korean J Med 82, 671-679. <https://doi.org/10.3904/kjm.2012.82.6.671>.

Kumar PA, Patterson J and Karpagam P. 2009. Multiple antibiotic resistance profiles of *Vibrio cholerae* non-O1 and non-

- O139. Jpn J Infect Dis 62, 230-232.
- Lee H, Ko YE, Choi J, Lee D, Yeo S, Park J, Lee M, Choi J and Park J. 2021. Distribution and characterization of *Vibrio vulnificus* isolated in coastal areas of Chungcheongnam-do province. J Environ Health Sci 47, 479-485. <https://doi.org/10.5668/JEHS.2021.47.5.479>.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2021. Prediction System of *Vibrio vulnificus*. MFDS, Osong, Korea.
- Mezrioui N and Oufdou K. 1996. Abundance and antibiotics resistance of non-01 *Vibrio cholerae* strains in domestic wastewater before and after treatment in stabilization ponds in an arid region (Marrakesh, Morocco). FEMS Microbiol Ecol 21, 277-284. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00124.x>.
- Na HY, Lee DK and Yoo CK. 2015. Surveillance of pathogenic *Vibrio* spp. from marine environment in Korea, 2014. Public Health Weekly Report 8, 542-547.
- Nam JH and Lee DY. 2013. Prevalence and characteristics of pathogenic *Vibrio* spp. in Korea, 2012. Public Health Weekly Report 6, 405-410.
- Oh HK, Jeong HJ, Jeong GJ, Shin HY, Shin JH, Jung WK, Oh JH and Kim YM. 2021. Isolation characteristics and antibiotic resistance of *Vibrio vulnificus* isolated from coastal seawater of Gadeok Island coast. Korean J Fish Aquat Sci 54, 912-917. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0912>.
- Park KS, Cho ED and Kim HD. 2021. Profiles of virulence genes and antimicrobial resistance of *Vibrio vulnificus* strains isolated from seawater and fisheries. Korea J Fish Aquat Sci 54, 918-926. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0918>.
- Oliver JD, Warner RA and Cleland DR. 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting vibrios in the marine environment. Appl Environ Microbiol 45, 985-998. <https://doi.org/10.1128/aem.45.3.985-998.1983>.
- Rodloff A, Bauer T, Ewig S, Kujath P and Müller E. 2008. Susceptible, intermediate, and resistant—the intensity of antibiotic action. Dtsch Arztebl Int 105, 657-662. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2008.0657>.
- Roux F, Wegner KM, Baker-Austin C, Vezzulli L, Osorio CR, Amaro C, Ritchie JM, Defoirdt T, Destoumieux-Garzón D, Blokesch M, Mazel D, Jacq A, Cava F, Gram L, Wendling CC, Strauch E, Kirschner A and Huehn S. 2015. The emergence of *Vibrio* pathogens in Europe: Ecology, evolution, and pathogenesis (Paris, 11–12th March 2015). Front Microbiol 6, 830. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00830>.
- Schwartz T, Kohonen W, Jansen B and Obst U. 2003. Detection of antibiotic resistant bacteria and their resistant genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiol Ecol 43, 325-335. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01073.x>.
- Vaseeharan B, Ramasamy P, Murugan T and Chen JC. 2005. *In vitro* susceptibility of antibiotics against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. Int J Antimicrob Agents 26, 285-291. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.07.005>.
- Yang JH, Mok JS, Jung YJ, Lee KJ, Kwon JY, Park K, Moon SY, Kwon SJ, Ryu AR and Lee TS. 2017. Distribution and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species associated with zooplankton in coastal area of Korea. Mar Pollut Bull 125, 39-44. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.054>.
- Yang SJ, Shin JH, Cho D, Kee SJ, Shin MG, Suh SP and Ryang DW. 2005. Identification of *Vibrio vulnificus* by the microscan and the vitek II systems. Korean J Lab Med 25, 33-38.
- Yoon YH, Park S, Kim JY, Lee YJ, Jeon DY, Choi GC, Park JS and Kim JB. 2020. Prevalence of toxin genes and profiles of antibiotic resistance in *Vibrio vulnificus* isolates from fish, fish tanks, and patients. J Food Hyg Saf 35, 6-12. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.1.6>.