

## Vibrio parahaemolyticus 의 衛生學的研究

金 亨 錫\*

(Received May 22, 1972)

Hyung Suk Kim: Hygienic Studies on *Vibrio parahaemolyticus*.

The author tried to isolate the *Vibrio parahaemolyticus* from Han River water and river fishes, to investigate the route of contamination by way of marine product and to make clear the survival ability in various kinds of food.

The results are as follows: 1. Twenty eight strains of *V. parahaemolyticus* were identified among 312 samples in Han river from March to August. 2. *V. parahaemolyticus* was detected in the marginic content of *Cyprinus* and *Anguilla*. 3. 9 strains of K-3 type, 5 strains of K-11 type, 8 strains of K-8 type, 6 strains of K-32 type and 1 strain of K-52 type were clarified through K-antiserum reaction.

Kato 等<sup>(1)</sup>은 *Vibrio parahaemolyticus*(V.p.)에 의한 食中毒은 6~9 月に 많이 發生되고 冬季에는 發生患者數가 전혀 없는 것이 特徵이라고 報告하였고 藤原<sup>(2)</sup> 및 鈴木<sup>(3)</sup>는 食品中에 있어서의 生存可能性 및 條件을 報告한 바 있고 Sakasaki 等<sup>(4)</sup>은 細菌性食中毒의 約 70%가 本菌에 基因된다고 報告하였다. Baross<sup>(5)</sup>와 Krantzy<sup>(6)</sup>는 美國太平洋沿岸의 海水와 魚貝類에서도 本菌을 發見하였고 Yasunaga 等<sup>(7)</sup> 및 Nishio<sup>(8)</sup>는 河川水에서도 本菌을 發見하였다. 우리나라에서는 Chun 等<sup>(9)</sup>이 浦項近海의 海水 및 魚貝類에서 처음으로 本菌을 發見하였고 柳<sup>(10)</sup>는 仁川地方의 海水 및 魚貝類에서 本菌을 分離하였으며 奇等<sup>(11)</sup>은 서울시內에서 發生된 數件의 泄瀉患者로부터 分離한 泄瀉原因菌이 주로 本菌임을 報告하였다. 그러나 本菌의 汚染經路 및 淡水河川의 汚染現象等の 研究와 各種食品에 對한 汚化相等에 關한 研究는 아직 報告된 바 없다. 따라서 今般 著者는 서울시內에 隣接한 漢江水域을 對象으로 本菌의 汚化相, 分布 및 淡水魚에 對한 汚化狀態를 究明하고 數種食品에 對한 二次的 汚染樣相 및 汚染經路를 밝히고자 本研究에 着手한 結果 新知見을 얻었기에 이에 報告하고자 한다.

### 實 驗

#### 實 驗 材 料

(1) 檢水: 感潮의 影響이 미치지 않는 漢江水域에서 3 個定點 [Site 1 (蘆島), Site 2 (琴湖

\* School of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

洞), Site 3 (第一漢江橋)]을 選定하여 1970年 3月부터 10月까지 月 3回 採水하였다.  
(2) 淡水魚: 上記水域에서 採集한 淡水魚의 胃內容物을 對象으로 하였다.

- ㉑ Cyprinus Carpio Linnaeus Sp.
- ㉒ Anguilla japonica Temminck et Schlegel Sp.
- ㉓ Parasilurus asotus Linnaeus Sp.

(3) 食品 및 Alcohol 性 飲料

- ㉑ 食品: Cyprinus, Yoghurt, Picked Plum, Garlic, Welsh Onion, Milk, Kimchi
- ㉒ Alcohol 性 飲料: Mackulree, Whisky

#### 實驗方法

- (1) 水質檢査: 美國의 Standard Methods<sup>(12)</sup>에 準하여 實驗하였다.
- (2) 河川水中 및 淡水魚類中의 V.p.의 分離同定: 河川水는 每月 10回씩 採水하여 4% NaCl pepton 水에서 24時間 增殖시켰고 淡水魚는 胃內容物 5g을 取하여 滅菌된 Blender에서 3,000rpm으로 5分間 homogenize하여 Sakasaki法<sup>(4)</sup>에 準하여 分離同定하였다.
- (3) K-antigen Test: K血清은 日本東芝化學株式會社製品을 使用하였다.
- (4) Hemolysis Test: Sakasaki<sup>(4)</sup>法에 準하여 實驗하였다.
- (5) Toxicity Test: Sakasaki<sup>(4)</sup>法에 準하여 體重 18~20g의 mouse (ICR-JCI) 各各 5마리씩을 使用하여 分離菌株 10<sup>7</sup>/ml되는 菌液 0.5ml를 腹腔內에 注射하여 48時間後에 致死率을 觀察하였다.
- (6) 生存實驗: 各種食品에 本菌 (10<sup>7</sup>/ml) 1ml式을 接種하여 22°C에서 生存效果를 觀察하였다. 淡水魚의 아가미 및 河川水에 本菌 (10<sup>7</sup>/ml) 1ml式을 接種하여 2~5°C, 24~27°C 및 35~37°C에서 每日 生存效果를 觀察하였다.

#### 實驗結果

(1) 河川水의 水質

漢江水域의 3個定點에 對한 水質試驗의 結果는 Table I에서 보는 바와 같이 各 Site 間에 顯저한 差異가 있다. 一般細菌數는 最高 3.7×10<sup>6</sup>이고 大腸菌群은 最高 7.4×10<sup>6</sup>으로 크게 汚化되었음을 나타냈다. Cl'濃度는 最高 18.3 ppm 最低 11.2ppm이었다. B.O.D의 最低는 7.2ppm이고 最高는 86.8 ppm이다.

Table I Analytical Result of Han River Water

Site	Item	Water Temp (°C)	pH	Cl' (ppm)	Nor. Bac.* (×10 <sup>5</sup> /ml)	Coliform Group (×10 <sup>5</sup> /100ml)	B.O.D (ppm)
1		24 (15~28)	7.1±0.1	11.2±3.4	0.54±0.15	2.5±0.6	7.2±0.8
2		25 (15~29)	7.0±0.1	15.5±4.3	8.5±2.4	74±17.0	61.8±1.5
3		25 (15~29)	11.1±0.1	18.3±4.4	87±7.0	48±9.0	86.3±1.4

\* Nor. Bac.: Normal Bacteria

(2) Vibrio parahaemolyticus의 分離

河川水中의 V.p.의 月別分布 (Table II)를 보면 6~9月 동안에만 總 24株가 分離되었고 淡水魚中 (Table III)에서는 Site 2, 3에서 8月에 Cyprinus로부터 各各 1株式 8, 9月에 Anguilla로부터 各各 1株式 檢出되었다.

Table II Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from Han River Water

Month	Site				Total
	Strams	1	2	3	Isolated Strains
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	6	0	1	2	3
	7	1	3	2	6
	8	2	4	4	10
	9	1	2	2	5
	10	0	0	0	0
					Total 24

Table III Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from River Fish

Month	Site	1			2			3		
	Species	* C	** A	*** P	C	A	P	C	A	P
3		—	—	—	—	—	—	—	—	—
4		—	—	—	—	—	—	—	—	—
5		—	—	—	—	—	—	—	—	—
6		—	—	—	—	—	—	—	—	—
7		—	—	—	—	—	—	—	—	—
8		—	—	—	+	+	—	+	—	—
9		—	—	—	—	—	—	—	+	—
10		—	—	—	—	—	—	—	—	—

\* C : Cyprinus    \*\* A : Anguilla    \*\*\* P : Parasilurus

## (3) K-antigen Test

Table IV 에서 보는 바와 같이 檢出된 總 28 株中 K-3 Type 9 株, K-11 이 5 株, K-28 이 7 株, K-32 가 6 株, K-52 가 1 株였다.

Table IV Serological Type Determined by K-antigen Test

Source	Site 1	Site 2	Site 3	Cyprinus	Anguilla	Parasilurus	Total
K-3	1	4	2	2	—	—	9
K-11	—	2	2	—	1	—	5
K-28	1	2	3	—	1	—	7
K-32	1	2	3	—	—	—	6
K-52	—	1	—	—	—	—	1
							Total 28

## (4) Hemolysis Test

溶血反應은 Table V에서 보는 바와 같이 Site 3에서 檢出된 K-3 Type 1 株만 나타났다.

Table V Hemolysis of *Vibrio parahaemolyticus* for Blood Agar Base.

Strain	Blood		
	Human blood in nutrient broth with 3% NaCl	Sheep blood in nutrient broth with 3% NaCl	Rabbit blood in Wagatsumas media
Control Strains			
V.p. K-8	+	+	+
V.p. K-22	+	+	+
V.p. K-41	-	-	-
Isolated Strains			
1	-	-	-
2	-	-	-
3	+	+	+
C	-	-	-
A	-	-	-

1 : River water at site 1

C : Cyprinus

2 : River water at site 2

A : Anguilla

3 : River water at site 3

## (5) Toxicity Test

Table VI에서 보는 바와 같이 分離된 28 株 全部가 毒性을 보였으며 K-3 株는 特別히 毒性이 強하였다. 28 株中 100% 致死率을 나타내는 菌株는 60.7%로 가장 높고 80%의 致死率을 나타내는 菌株는 32.1%였으며 60%의 致死率을 나타내는 菌株는 7.2%이다.

Table VI Toxicity of *Vibrio parahaemolyticus* on Mice

K-Type	No. of strain	Number Death/Number tested (No. of Strain)		
K-3	9	5/5 (6)	4/5 (3)	
K-11	5	5/5 (3)	4/5 (1)	3/5 (1)
K-8	7	5/5 (4)	4/5 (2)	3/5 (1)
K-32	6	5/5 (3)	4/5 (3)	
K-52	1	5/5 (1)		
Total	28	17	9	2
Rate		60.7%	32.1%	7.2%

(6) 河川水中에서의 *Vibrio parahaemolyticus* 의 生存試驗

Table VII에서 보는 바와 같이 2~5°C에서 14日間 生存하였으며 22~24°C에서는 12日間, 35~37°C에서는 10日間 生存하였다.

Table VII Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Han River Water in Site 3.

Temp (°C)	2~5	22~24	35~37
Days			
2	+	+	+
4	+	+	+
6	+	+	+
8	+	+	+
10	+	+	+
12	+	+	-
14	+	-	-
16	-	-	-
18	-	-	-
20	-	-	-

(7) 食品中에서 *Vibrio parahaemolyticus* 의 生存試驗

Table VIII 에서 보는 바와 같이 milk 에서는 48 時間以上 生存하였고 yoghurt 에서는 5分, picked plum 에는 3分, garlic 에서는 20分, Welsh onion 에서는 30分, Kimchi 에서는 20分間 生存하였고, Mackulree 에서는 3分間 生存하였다.

Table VIII Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Foods

Duration	30 Sec.	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	24 Hrs.	48 Hrs.
Foods									
Yoghurt (pH 3.8)	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Picked Plum	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Garlic	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Welsh Onion	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Milk (pH 6.8)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kimchi (pH4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Table IX Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Alcoholic Drinks

Alcohol (%)	Duration (Min.)	0.5	1	2	3	5	10
Kinds							
Mackulree	7%	+	+	+	+	-	-
Whisky*	45%	+	+	-	-	-	-

\* Kentucky Whisky made by M.B. Co. in U.S.A.

## 考 察

海水와 海産物에 汚染되어 夏季의 食中毒原因菌으로 報告되고 있는 *Vibrio parahaemolyticus* 가 淡水河川에서의 汚化 및 生存如否를 追究하기 爲하여 서울市에 隣接한 漢江水域에서 서

울市下水의 汚化의 영향이 미치지 않는 蘆島와 서울市의 主汚染源인 淸溪川 및 中浪川의 下水가 直接 流入하고 있는 琴湖洞 그리고 下水流入場所로부터 約 4km 떨어진 第一漢江橋 附近을 擇하여 3月부터 10月까지 月 3回 實驗하여 그 平均値를 比較한 結果  $Cl^-$  濃度는 St. 2가 St. 1 보다 4.3ppm 增加되었고 St. 3는 St. 2에 比하여 3.2ppm 이 增加되었으며 B.O.D도 亦是 St. 2가 St. 1 보다 約 9倍 增加되었으며 St. 3에서는 若干의 增加가 있을 뿐이다. 그러나 Coli. group는 St. 2에서 가장 높았으며 normal bacteria는 St. 1, St. 2, St. 3의 順으로 增加되고 있어 淸溪川의 汚化에 크게 영향을 받는 것으로 思料된다.

*Vibrio parahaemolyticus*는 St. 1에서 7月부터 9월까지 檢索되었고 St. 2 및 St. 3에서는 6月부터 9월까지 4個月間에 檢索되었으며 大體로 St. 1에 比하여 約 2倍가 確認되었으며 8월에 가장 많이 發見되었다. *Vibrio parahaemolyticus*가 水質汚化와 比例하여 St. 2에서 갑자기 上昇되고 있음은 서울市 下水의 流入에 基因된다고 생각된다.

특히 分離된 總 28株의 K-antigen Test의 結果를 보면 K-3 Type이 9株로 가장 많고 K-28 Type가 다음으로 7株였으며 이들이 主로 St. 2 및 St. 3에서 發見되고 있는 事實도 意義가 있다고 생각된다. 특히 St. 3에서만이 Hemolysis를 일으키는 溶血株가 1株 發見된 事實은 食中毒患者의 排泄物에 緣由한다고 생각된다. 한편 이 水域에서 棲息하고 있는 淡水魚中에서는 St. 2 및 St. 3에서 採集한 *Cyprinus*와 *Anguilla*의 胃內容物中에서 8월에 發見되었다. 一般的으로 遡河時 海水에 依하여 汚化된 *Anguilla*에서 發見되는 菌은 *Vibrio anguillarum*<sup>(13)</sup> 임에도 不拘하고 이 水域에서 採集한 *Anguilla* 胃內容物에서는 *Vibrio parahaemolyticus*가 發見된 事實은 이 水域이 下水의 影響을 받아 二次的으로 *Vibrio parahaemolyticus*에 汚化되어 있다는 것을 立證하여 준다고 생각된다.

河川水와 *Cyprinus* 및 *Anguilla*에서 分離한 28株의 *Vibrio parahaemolyticus*의 Mouse에 對한 毒性試驗에 있어서 100% 致死率이 60.7%이고 80% 致死率이 32%로서 強한 毒性을 갖고 있었다.

河川水 및 食品의 二次的汚化經路 및 豫防에 關한 研究에 앞서 基礎的인 實驗으로 食品中에서의 V.p.의 生存試驗을 遂行한 結果 2~5°C에서는 約 14日間 生存하였고 22~24°C에서는 12日間, 35~37°C에서는 10日間 生存하고 있다. Yasunaga<sup>(14)</sup> 및 Nishio<sup>(8)</sup>는 本菌이 河川水中에서 短時間內에 死滅된다고 報告한 바 있으나 Yasunaga가 報告한 水質은  $Cl^-$  濃度가 30ppm 이고 著者が 實驗한 漢江水의  $Cl^-$  濃度는 20ppm 인데도 不拘하고 生存期間이 길다는 事實은 河川汚化가 甚하여 富營養에 基因된다고 보며 營養조건이 좋으면 低濃度の 鹽分에서도 增殖은 하지 않으나 生存할 수 있다는 報告와<sup>(15)</sup> 相通된다.

食品에 있어서 yoghurt에서는 5分이내에 死滅되었으나 milk에서는 48時間 生存되어 있음은 pH에 크게 영향을 받고 있는 것으로 思料되며 김치에서는 pH 4임에도 不拘하고 20分까지 生存한다는 事實은 亦是 鹽分의 影響으로 사료된다.

其他 食品에서는 大體로 30分 以內에 死滅하는 것으로 보아 二次汚化에 큰 問題點을 發見할 수 없었고 亦是 河川에의 二次汚化는 主로 海産魚貝類等의 處理廢水에 基因된다고 思料된다.

濁酒와 Whisky 中에서는 1~3分 사이에 死滅하였음은 alcohol의 影響이 큰 것으로 思料된다.

## 結 論

1. 漢江水域에서 3月부터 8個月間에 漢江水中 및 淡水魚中の *Vibrio parahaemolyticus* 의 汚化狀態를 究明하고 數種 常用食品에 本菌을 接種하여 生存效果를 比較檢討하였다.
2. 漢江水에서 24株, Cyprinus에서 2株 및 Anguilla에서 2株 總 28株의 *Vibrio parahaemolyticus* 를 檢出하였다.
3. *Vibrio parahaemolyticus* 가 Anguilla 의 胃內容物에서 檢出된 것으로 보아 二次的汚化에 基因됨을 알았다.
4. 28株의 *Vibrio parahaemolyticus* 를 分離同定한 結果 K-3 Type 9株, K-11 Type 5株, K-8 Type 7株, K-32 Type 6株, K-52 Type 1株였으며 溶血反應을 나타내는 것은 K-3 Type 中에서 1株만 發見되었다.
5. Mouse 에 對한 毒性試驗에 있어서 28株 모두 毒性을 나타냈으며 總菌株中 60.7%가 100% 致死率을 나타냈고 K-3와 K-11 Type이 特히 毒性이 強하였다.
6. 本菌은 pH가 낮고 營養價가 적은 食品에서는 生存效果가 낮고 그와 反對로 milk와 같은 高營養價의 食品에서는 比較的 生存效果가 크다.

## 文 獻

1. Kato, T. *et al.*, *Mod. Media*, 12, 17 (1966)
2. 藤原, 日食衛誌, 14, 79 (1964)
3. 鈴木, 宮城, 木材, 日食衛誌, 69, 2 (1969)
4. Sakasaki, R., *et al.*, *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 16, 161 (1963)
5. Baross, J., *et al.*, *Nature*, 217, 1263 (1968)
6. Krantz, G., *et al.*, *Science*, 164, 1286 (1969)
7. Yasunaga, N., 日食衛誌, 5, 112 (1964)
8. Takamasa, Nishio, *et al.*, 日公衛誌, 15, 567 (1968)
9. Chun, D.K., *et al.*, *J. Kor. Mod. Med.*, 6, 105 (1967)
10. Ryu, J.K., *Kor. J. Publ. Heal.*, 7, 527 (1970)
11. 寄, 柳, 金, *J. Kor. Med. Assoc.*, 10, 603 (1967)
12. APHA, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (12th Edition)
13. Yasunaga, N., *Endem. Dis. Bull. Nagasaki Univ.*, 7, 272 (1965)
14. Yasunaga, N., 日食衛誌, 11, 28 (1970)
15. 森下, 日本植物學會第22回大會研究記錄, 55 (1967)