

# 日本 및 인도네시아의 설사患者에서分離한 腸炎 vibrio에 관한 研究\*

釜山大學校 醫科大學 微生物學教室

朱 鎮 宇

=Abstract=

## Study on *V. parahaemolyticus* Isolated from Diarrheal Patients in Japan and Indonesia

Jin-Woo Ju

Department of Microbiology, College of Medicine, Busan National University

Identification and serotyping for 21 strains of *V. parahaemolyticus* isolated from diarrheal patients in Japan and Indonesia in 1977 were carried out. The results were as follows:

1. The 21 strains were divided into 5 serovars including O1 : K56, O4 : K4, O4 : K8, O4 : K12 and O5 : K15.
2. Author's experiences on the isolates in Korea also show that there is no particular difference in the distribution pattern of serovars of *V. parahaemolyticus* among Korea, Japan and Indonesia. In these respects, there was no geographical difference in these countries.

### 緒 論

腸炎 vibrio (*V. parahaemolyticus*)는 우리나라, 日本 및 東南 Asia 諸國에 있어서 주로 生鮮, 魚介類 및 그의 加工品을 原因食으로 6~8月の 夏季, 혹은 初秋에 있어서 散發적으로 發生하는 食中毒의 重要한 原因菌의 하나이다. 近來에는 世界各國에서 本菌에 依한 食中毒으로 주로 腹痛 및 下痢을 일으키는 간혹 報告되고 있다. 이들 患者의 大部分은 急性胃腸炎으로 經過

된다.

本菌에 對한 細菌學的 및 血清學的 그리고 疫學的인 諸研究는 日本 및 우리나라에서도 많이 研究되어 지고 있다.<sup>1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15</sup>

특히 日本은 本菌의 發見뿐만 아니라 其他 研究方面에 있어서도 世界的으로 앞서고 있는 現實이다.

著者는 今般(1977年 9月~1978年 2月) 日本 國立豫防衛生研究所 細菌第一部에서 研究當時 日本 및 인도네시아의 설사患者의 可檢物에서 分離同定한 腸炎 vibrio의 生化學的 및 血清學的 實驗을 實施하였기에 이

\* (本 研究는 日本學術振興會의 外國人 研究者 招請 基金으로 이루어졌으며 本 論文의 要旨는 第41次 大韓微生物學會席上에서 發表하였음.)

에 그 얻은 成績을 報告하는 바이다.

## 實驗材料 및 方法

### 1. 材料

1977年 日本 및 인도네시아의 患者의 大便에서 分離된 腸炎 vibrio 21株를 使用하였다.

### 2. 腸炎 vibrio의 生化學的 同定 檢査<sup>1)</sup>

① TCBS 培地上에 塗抹하여 37°C, 24時間 培養後 sucrose 非分解性 綠色的 集落을 觀察하고, gram 染色을 實施하여 鏡檢하였다.

② SIM培地에 穿刺하여 24時間 培養後 運動性을 觀察하였으며, 또 Kovac試藥을 1~2滴 떨어뜨리고 indole 試驗을 實施하였다.

③ 炭素源의 枸橼酸利用試驗은 Simmons 및 Christensen 培地에 穿刺한 後 37°C, 24時間 培養後 觀察하였다.

④ Amino酸 脫炭酸試驗은 基礎培地인 Moeller 培地에 目的으로 하는 amino酸 (L-lysine, L-arginine, L-ornithine)을 各各 1.0% 比率로 添加한 各培地에 菌을 接種하였다. 그리고 滅菌流動 paraffin을 重層한 後 30°C에서 4日間培養한 後 觀察하였다.

⑤ 糖分解試驗은 Andred peptone 水에 各種 糖類 1%씩의 濃度를 添加하여 接種後 37°C, 24~48時間培養 實施하였다.

⑥ 核酸分解酵素(DNase)試驗은 0.01% toluidine加 DNase寒天(BBL製品)平板 培地에 劃線培養하여 30°C, 48時間 觀察하였다. 菌의 發育의 周圍에 pink의 變色帶가 생긴것을 陽性으로 判定하였다.

⑦ Hugh-Leifson(OF培地) 培地로서 酸化, 醱酵試驗 및 葡萄糖으로부터 gas 生産性을 觀察하였다. 本培地 2本에 穿刺하여 1本에는 滅菌流動 paraffin을 重層하여, 37°C에서 24時間 培養하였다.

즉 葡萄糖酸化(Oxidation : O): 流動 paraffin을 重層하지 않았는 試驗管의 培地에 黃變되고 流動 paraffin을 重層한 試驗管에서는 培地色을 無變化된 것.

葡萄糖醱酵(Fermentation : F): 2本の 試驗管 모두가 黃變된 것.

葡萄糖非分解: 2本の 試驗管모두가 無變化된것 등으로 各各 判定하였다.

⑧ 好鹽性試驗은 peptone水에 各各 0, 1, 2, 4, 6, 8 및 10%의 食鹽을 加한 培地에 接種後 37°C, 24~48時間 培養後, 增殖의 如否를 肉眼의으로 觀察實施하였다.

### 3. 腸炎 vibrio의 血清學的 同定 檢査

日本 國立豫防衛生研究所 細菌第一部에서 製造된 O 11 抗血清 및 K56 抗血清을 가지고 slide 凝集反應으로 觀察 實施하였다.

血清型은 다음과 같다.

Antigenic Schema of *V. parahaemolyticus* by R. Sakazaki, 1972.

O group	K antigen	O group	K antigen	
1	1		11	
	25		12	
	26		13	
	32		34	
	38		42	
	41		49	
2	56		53	
	3		55	
	28		5	15
	3		4	
5		30		
6		47		
4	7		18	
	29		6	46
	30		7	19
	31		8	20
	33		21	
5	37		22	
	43		39	
	45		9	23
	48		44	
6	54		10	24
	57		52	
	4		11	36
7	8		40	
	9		50	
	10		51	

實施方法是 처음 11群 O抗血清으로서 그 群에 屬하는 血清凝集反應을 實施한後 凝集反應이 明白히 일어난 混合血清을 構成하는 各 抗K血清으로서 血清凝集反應을 實施하였다.

## 實驗成績

### 1. 分離株의 生化學的 同定 試驗

TCBS 寒天平板培地上에 sucrose 非分解性 綠色의 集落을 形成하였으며, 37°C, 18~24時間에 直徑 2~3mm의 smooth한 集落이었다. Gram陰性的의 桿菌으로 運動性이 있었다. 葡萄糖酸化 및 醱酵分解試驗에서 葡萄糖分解는 醱酵에 依하였으며 葡萄糖分解에 依한 gas는 生産하지 않았다.

Amino酸 脫炭酸試驗은 arginine脫炭酸酵素는 全株 陰性, lysine 및 ornithine脫炭酸酵素는 全株 陽性이었다. 糖分解試驗에서 arabinose 및 mannitol은 各 各 全株 陽性 그리고 lactose, melibiose 및 sucrose 는 各 各 全株 陰性이었다.

核酸分解酵素試驗은 全株 陽性이었다. 42°C에서 全株가 잘 增殖하였다.

Indole試驗, indole-pyruvic 酸試驗, 炭素源 利用試驗等은 表 1에 一括하여 表示하였다(表 1 參照).

### 2. 分離株의 好鹽性試驗

好鹽性試驗은 無鹽加와 10% 食鹽濃度 알카리 pept-

**Table 1.** Biochemical Characteristics of 21 Strains of *V. parahaemolyticus*

Test	Results
Gram stain	Gram-negative bacilli(100)*
Motility	+(100)
O-F medium glucose, open	+(100)
O-F medium glucose, sealed	+(100)
O-F medium glucose, gas	-(0)
H <sub>2</sub> S	-(0)
Indole	+(100)
Indole-pyruvic acid	-(0)
Grow at 42°C	+(100)
Citrate (Simmons)	+(100)
(Christensen)	+(100)
Arginine dehydrolase	-(0)
Lysine decarboxylase	+(100)
Ornithine decarboxylase	+(100)
Carbohydrates	
Arabinose	+(100)
Lactose	-(0)
Mannitol	(+100)
Melibiose	-(0)
Sucrose	-(0)
DNase test	+(100)

\*Figures with parentheses indicate +%.

**Table 2.** The Results of Halophilism Test of 21 Strains of *V. parahaemolyticus*

Concentration of NaCl	Results
0*	-(0)
1	+(100)**
2	+(100)
4	+(100)
6	+(100)
8	+(100)
10	-(0)

\*Per cent of NaCl in peptone solution.

\*\*Figures with parentheses indicate +%.

**Table 3.** Serovar Distribution of 21 strains of *V. parahaemolyticus*

O antigen*	K antigen*	No. of strains
1	56	1
4	4	1
	8	14
	12	2
5	15	3

\*The determination of serovars of each strains were carried out with 11 O antisera and 56 K antisera for *V. parahaemolyticus* which were prepared in NIH of Japan.

one水에서는 增殖되지 않았고, 1%, 2%, 4%, 6% 및 8% 食鹽加 알카리 peptone水에서는 잘 增殖되었다(表 2 參照).

### 3. 分離株의 血清凝集反應試驗

分離株는 O1: K56에 1株, O4: K4에 1株, O4: K8에 14株, O4: K12에 2株 및 O5: K15에 3株이었다(表 3 參照).

## 考 察

腸炎 vibrio는 夏節에 多發하는 食中毒의 原因菌이다. 本菌은 夏節의 河岸海城의 海水, 泥土, 프랑크톤 및 魚介類等에 廣範圍하게 分布되어 있다. 그러나 同一海岸地域에서도 冬季가되면 海水 및 魚介類로부터는 檢出되지 않고, 海泥에서만 약간 檢出될 程度이다. 또 遠洋에서는 夏節에도 檢出되지 않는다. 결국 本菌은 特히 河川과 陸地의 影響을 받는 河岸地域에 많이棲

患하고 있음이明白하다. 그러나 日本의 여러學者들<sup>7,8,9)</sup>의 疫學的 調査를 보면 中部 太平洋 및 하와이群島의 海域에서 捕獲된 魚體表面에서 本菌을 檢出한 것으로 보아 本菌의 棲息을 꼭 近海에만 限定되어 있는 것도 아니다. 印度洋, 東南 Asia 各地의 港灣, 美國의 워싱턴洲의 시아틀附近의 海水, 泥土, 貝類等, 발틱海 方面의 市場의 魚物로부터의 本菌의 檢出을 미루어와 海水溫이 높은 海域에 많이 棲息하고 있다고 思料된다<sup>9)</sup>.

本菌의 食中毒의 原因食品으로서는 海水性의 生鮮魚介類에 依한 多發等, 그리고 疫學的 및 臨床症狀等도 明白하게 되었다.

本菌에 依한 食中毒患者는 腹痛과 激甚한 嘔과 같은 泄瀉를 主症狀로 하지만 심하면 血便을 排出하는 소위 痢疾症狀와 같음을 나타내는 수도 있다. 그렇기 때문에 食中毒患者가 臨床의으로 痢疾로 誤診되는 수도 있다. 특히 本菌食中毒이 多發하는 夏節에 있어서는 痢疾入院患者의 大部分이 腸炎 vibrio에 依한 것이라고 報告하고 있다<sup>12)</sup>.

分離株는 indole 陽性(100%), 炭素源으로서 Simons citrate 利用(100%) 및 Christensen citrate 利用(100%), amino酸 脫炭酸試驗 즉 arginine(0%) lysine陽性(100%) 및 ornithine陽性(100%), DNase 試驗 陽性(100%)이었다.

本 成績은 坂崎<sup>11)</sup>의 食中毒報告에서 indole 98.4% 陽性, Simmon's citrate 利用 96.6% 陽性, Christensen citrate利用 100% 陽性, amino酸 脫炭酸試驗에서 lysine 100% 陽性, arginine 100% 陰性 및 ornithine 97.3% 陽性, 그리고 DNase 100% 陽性的 報告成績과 비슷한 成績이었다.

分離株의 糖分解試驗은 arabinose 및 mannitol 各 各 100% 陽性, lactose, melibiose 및 sucrose 各 各 100% 陰性이었다.

坂崎<sup>11)</sup>의 食中毒의 報告成績에서 arabinose 65.9% 陽性, mannitol 100% 陽性이었다.

梁<sup>13)</sup>은 arabinose 69% 陽性, mannitol 79% 陽性, sucrose 100% 陰性으로 報告하였고, 또 朱<sup>14)</sup>는 arabinose 85% 陽性, mannitol 70% 陽性, glucose는 100%陽性, sucrose 100% 陰性으로 報告하고 있어 一般的으로 共通된 成績이라고 思料된다.

好鹽性試驗에서 1%~8%의 食鹽濃度에서 잘 增殖하였다. 本菌은 元來 海洋棲息微生物이기 때문에 微生物에 對한 增殖의 環境要因 즉 營養源, pH, 溫度 및 空氣 以外에 特殊한 鹽을 供給하지 않으면 增殖이 不可

能한 것이다. 그리하여 本菌은 好鹽性을 갖고 있어 培地中에 鹽化나트륨濃度 0.5~9%의 경우에 發育되며 특히 2~5% 食鹽濃度에 對해서는 大端히 잘 發育된다.

本菌의 海洋由來說에 對하여 日高等<sup>15)</sup>은 NaCl要求性은 存在하여도 K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>의 要求性이 없는點, 또는 이 NaCl 要求性도 다른 無機鹽의 代用으로 要求된다고 하여 陸地細菌에 近緣되어 있다고 主張하였다. 또 安永<sup>20)</sup>은 長崎市內의 河川水로부터 高率로 分離된 것을 봐 本菌이 都市河川等의 陸地環境의 汚染을 일으킨다고 指摘하였다. 西尾等은 河川水로부터 本菌의 調査에서 季節의으로 追跡을 實施하였던 바, 檢出率은 水溫의 下降과 같이 減少하며 最低水溫이 되는 2月에서도 分離된다고 報告하였다. 分離possible한 範圍는 下流域에 限하며 특히 河口 水域이라 하였다.

腸炎 vibrio의 抗原은 O(菌體), K(莢膜) 및 H(鞭毛)의 3種類로 分類된다. 이 가운데 H抗原은 本菌의 鞭毛가 하나이기 때문에 凝集反應의 條件이 어려우며 同時에 大部分의 菌이 同一 H抗原을 共存하고 있어 他的 抗原에 比較하여 特異性이 없어 本菌의 H抗原型은 없다.

K抗原은 100°C, 2時間 加熱에 依해서도 抗體와의 結合能力은 消失되지 않을만큼 耐熱性이다.

O抗原은 耐熱性이며, 또 50% alcohol 및 1N 規定 HCl濃度에서도 安定하며 菌의 特異性을 나타낸다.

坂崎等<sup>9)</sup>의 研究에 依해서 腸炎 vibrio은 11種의 O 抗原 및 56種의 K抗原型이 研究되어졌다.

本分離株의 血清型은 O1:K56型이 1株, O4:K4型이 1株, O4:K8型이 14株, O4:K12型이 2株, 그리고 O5:K15型이 3株이었다. 이들中 O1:K56型은 最近에 研究된 血清型이다.

梁等<sup>13)</sup>의 食中毒患者에서 分離 29株에 對한 血清型은 K<sub>I</sub>混合血清(K抗血清型 3,4,7)型에 3例, K<sub>II</sub>混合血清(K抗血清型 9,11,12,13,15)에 15例, K<sub>III</sub>混合血清(K抗血清型 19,23)에 2例 및 K<sub>IV</sub>混合血清(K抗血清型 25,28)에 3例를 報告하였다.

또 梁 및 朱等<sup>13)</sup>의 海水 및 海產物에서 分離株에 對한 血清型은 K<sub>IV</sub>混合血清(K抗血清型 28,31,32)에 8例, K<sub>V</sub>混合血清(K抗血清型 34,41)에 8例 및 K<sub>VI</sub>混合血清(K抗血清型 42)에 2例를 報告하였다.

分離菌에 對한 血清型은 自然由來(海水 및 海產物) 菌株와 人系由來(食中毒患者) 菌株와의 사이에 血清型의 差異는 必수 없고 또 地理의 分布의 血清型의 差異도 必수 없다고 思料된다.

本菌은 海洋微生物이기 때문에 海産物에도 汚染可能할 뿐만 아니라 그 流通過程에 있어서도 海洋과의 別個의 環境條件下에서도 자랄수 있는 條件만 갖추어지면 繁殖 可能하다는 것이다.

梁等<sup>16)</sup>의 魚市場 및 魚店舖에서의 分離成績을 보면 鰻장어, 소라고등, 우렁쟁이, 건복, 해삼등 總 930例에서 165株(17.8%)의 分離報告를 보면 流通過程에서 增殖可能性을 볼수 있다. 그러나 魚介類와 關係가 없는 肉類 및 他의 食品 및 淡水魚等에서는 本菌의 檢出이 되는 않는다.

本食中毒의 發生은 海水 혹은 魚介類에 腸炎 vibrio의 分布와 密接한 關係가 있어 食中毒 多發期의 7~9月の 海水 및 魚介類로부터 高頻度로 本菌이 檢出되어 진다.

本菌의 食中毒은 生鮮膾를 좋아하는 國民들사이에 널리 發生하기 때문에 日本 및 우리나라에서 特別히 注意를 많이 發生한다. 그 豫防對策으로서는 魚介類를 生食으로 하지 않는것 以外는 絶對的 方法은 없으나 本菌은 淡水中에서 短時間內 死滅하기 때문에 魚介類를 水道水에 잘 씻어 먹을 뿐만아니라 非衛生的 調理 方法을 피하는 것이 理想的인 方法이라 思慮된다.

## 結 論

1977年度 日本 및 인도네시아의 설사 患者에서 分離한 腸炎 vibrio 21株에 對한 生物學的 同定 및 血清學的 實驗을 實施하였다. 그 結果는 成績은 다음과 같다.

1. 生物學的으로 同定된 21株의 血清型은 O1 : K56, O4 : K4, O4 : K8, O4 : K12 및 O5 : K15이었다.

2. 著者는 韓國에서 分離同定된 腸炎 vibrio의 研究 結果와 금번 日本 및 인도네시아에서 分離된 腸炎 vibrio의 菌株를 比較檢討한 結果 生物學的 性狀 및 血清型에 있어서 地理的 分布의 差異가 없음을 알았다.

(本 研究를 수행함에 있어 指導와 鞭達을 아끼지 않으신 日本國立豫防衛生研究所 細菌第一部長 金井 興美 博士와 細菌第一部 第一室長 坂崎 利一 博士에게 深甚한 謝意를 表합니다. 그리고 本人을 日本에 招請하여 주신 日本學術振興會 會長 茅 誠司 님께 深甚한 謝意를 表합니다. 끝으로 本論文 校閱을 해주신 梁 學道 教授 님께 謝意를 드립니다.)

## References

1. Sakazaki et al.: Studies on the enteropath-

ogenic, facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*.

I. Morphological, cultural and biochemical properties and its taxonomical position. Jap. J.M.Sc. & Biol., 16, 161~188, 1963.

II. Serological characteristics. Jap. J.M.Sc. & Biol., 21, 313~324, 1963.

2. Sakazaki, R: Proposal of *Vibrio alginolyticus* for the biotype 2 of *Vibrio parahaemolyticus*. Jap. J.M.Sc. & Biol., 21, 359, 356, 1968.

3. Sakazaki, R: The present status of studies on *Vibrio parahaemolyticus* in Japan. The full text of lecture on a seminar at the Food and Drug Administration, Washington, D.C., 30 July, 1~21, 1971.

4. Sakazaki, R.: Recent Trends of *Vibrio parahaemolyticus* as a Causative Agent of Food Poisoning. 19~30,

5. Fujino, T., et al.: Taxonomic studies on the bacterial strains isolated from cases of food-poisoning (*pasteurella parahaemolytica*) and related microorganisms. Eiken Journal, 8 : 63 1965.

6. 齊藤 厚: 東南アジア 海域における 腸炎ビブリオ의 分布調査. 長崎醫學會雜誌, 42(2), 146, 1970.

7. 堀川 廣興: 東南アジア海域における腸炎ビブリオ의 分布調査. 長崎醫學會雜誌, 45(4, 5), 306, 1970.

8. 安永 統男: 腸炎ビブリオ에 關する 研究. (2) 東南アジア地域의 港灣內의 海底泥土 ならびに 挿獲, 市販魚介類에 關する 腸炎ビブリオ의 分布. 長崎縣衛生研究所報, 6 : 38, 1965.

9. 安永 統男: 腸炎ビブリオ에 關する 研究. (4) ハワイ群島南方의 外洋의 魚類 ならびに ホルルの 魚類 海泥에 關する 腸炎ビブリオ의 分布에 關して. 長崎縣衛生研究所報, 7 : 54, 1968.

10. 坂崎 利一: 諸外國에 關する 腸炎ビブリオ研究의 動き. イビド および オーストラリア에 關する 腸炎ビブリオンメデイアサークル, 16(4) : 163, 1971.

11. Chun, D.K. et al: *Vibrio parahaemolyticus* in the Republic of Korea. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 23(6) : 1125, 1974.

12. 全蕪基外: 海水 및 海産物에서 *V. parahaemol-*

- yticus의分離. 大韓微生物學會誌, 7(1):71, 1972.
13. 梁學道外: 1970年度 釜山市 및 慶南地方에서 콜레라流行時 설사患者에서 分離한 *V. parahaemolyticus*에 對한 研究. 中央醫學, 22(3), 319~325, 1972.
  14. 朱鎮宇: 釜山近海의 海水 및 海産物에서 *Salmonella*菌과 腸炎 *vibrio*菌의 分離에 對한 研究. 釜山大學校 論文集, 第15輯, 自然科學篇, 377~388, 1973.
  15. 孫準鏞外: 食中毒患者에서 分離한 腸炎비브리오菌에 關한 研究. 國立保健研究院報, 8:65~70, 1971.
  16. 梁學道: 釜山地方 重要魚市場 및 魚店舖에서 販賣되는 魚貝類의 腸炎 *vibrio*菌의 汚染에 關한 研究, 釜山醫大離誌, 15:1, 1975.
  17. 邊野 喜正·善養 寺浩: 新細菌性食中毒. 東京, 南山堂, 1975.
  18. 梁學道·朱鎮宇: 釜山近海의 海水 및 海産物에서 腸炎 *vibrio*菌의 分離에 對한 研究·釜山大學校論文集, 第16輯, 自然科學篇, 1973.
  19. 日高富男外: 食品衛生學離誌, 6(3), 235~241, 1965.
  20. 安永統男: 食品衛生學離誌, 5, 112~115, 1964.