

Vibrio vulnificus 백신제조원의 혈청형균주 분리*

부산대학교 자연과학대학 미생물학과

주진우

=Abstract=

Isolation of *Vibrio vulnificus* Serotype Strains for Vaccine Preparation

Jin-Wo Ju

Department of Microbiology, College of Natural Science, Pusan National University, Pusan, Korea

The halophilic bacterium *Vibrio vulnificus*, previously called lactose-positive(L+) *Vibrio* and *Beneckeia vulnifica*, causes acute, fulminating wound infections and septicemia in humans.

Septicemia is very serious infection with a fatality rate of about 50%. Most patients with primary septicemia due to *V. vulnificus* have preexisting liver disease. *V. vulnificus* also cause severe wound infections usually after trauma and exposure to marine animals or the marine environment. The mortality rate is not nearly as high as in primary septicemia caused by this organism. In most cases human disease results from ingestion of contaminated seafood or from infection of a wound, frequently of seawater or crab origin.

The author made an attempt to isolation of the *V. vulnificus* from seawater, seamud, fish, shellfish, and algae on the southern sea of Korea from January to September in 1987, using for the purpose of vaccine preparation.

The author investigated for bacteriological identification, hemolysis and determination of serotypes of isolated *V. vulnificus* strains. Eighty-five strains(5.9%) out of 1450 specimens collected of *V. vulnificus* were isolated. The distribution of the 85 isolates were as follows: 21 strains from seawater, 11 strains from seamud, 28 strains from fish, 19 strains from shellfish, and 6 strains from algae, respectively. All 85 isolates were positive reaction on human blood agar. The distribution of serotypes of *V. vulnificus* isolates were O1 to O8: 13 strains of O1, 6 strains of O2, 11 strains of O3, 9 strains of O4, 10 strains of O5, 7 strains of O6, 15 strains of O7, and 10 strains of O8, respectively. Eighty-one strains showed agglutination with O antiserum, but 4 strains failed to show agglutination. In this study, the author suspected that serotypes of *V. vulnificus* isolates distributed also in the seaside of Korea as well as in most seaside of the world, and new serotypes were in existence in the seaside of Korea except reported up to now.

Key Words: *Vibrio vulnificus*, Serotype, Isolation.

서론

*Vibrio vulnificus*는 해양서식미생물로서 해

* 본 논문은 한국학술진흥재단의 1986년도 연구비에 의하여 연구되었으며, 그리고 본 논문의 요지는 대한미생물학회 제60차 추계학술대회에서 발표하였음.

수, 해니, 어류, 패류, 해조류 및 각종 해양생물에 부착, 서식하고 있는 호염성 세균이다. 분류학적 위치는 *Vibrio*과의 *Vibrio*속에 속하는 그람음성 간균으로 전 세계의 해안에 분포하고 있는 인체병원균이다^{1, 2, 3, 10, 11, 16, 20}. 본 균은 생선회, 피조개, 굴, 게 및 우렁챙이등을 날 것으로 먹었을 때, 감염환자, 만성알콜중독자, 당뇨병환자 및 40대 이후의 간 질환자와 신체의약

자에게 치사율 50%이상인 패혈증을 일으키고 해수욕 후 창상감염, 수막염, 폐렴, 근염, 각막염 및 자궁내막염등의 질환을 일으키는 것으로 보고되고 있다^{4, 6, 8, 10-13, 15-20, 24, 26, 27, 30-32, 36-38}.

본 균은 여름철 식중독원인균인 *V. parahaemolyticus* (이하 장염비브리오)와 생화학적 성상이 유사하여 종종 장염비브리오로 잘못 동정되었을 때도 있었으나 Sakazaki 등^{29, 30}이 해양성 비브리오의 분류연구중에 *Vibrio* biotype 6330으로 최초로 연구하였고, 그 후 미국의 CDC (Centers for Disease Control)에서 독자적으로 연구하여 lactose-positive *Vibrio*, L⁺ *Vibrio* 및 Lac⁺ *Vibrio*로 인식되었고, *Beneckeia vulnifica*로 한동안 불리워 지다가 현재는 *V. vulnificus*라고 명명되어서 사용되고 있다^{11, 15-17, 29, 30, 38}.

높은 치사율을 가진 본 균은 세포벽의 구성 성분이 다당류인 몸체항원성, 즉 O항원성을 가지고 있어서 사람 및 동물에서 O항원에 대한 강한 항체생산을 하게 한다. 그리고 본 균은 O항원성에 따라 O1~O7형의 혈청형으로 분류가 되어 있으므로 해수와 각종 해산물에서 각 혈청형별의 본 균을 분리, 동정할 수 있다^{4, 6, 8, 32}.

저자는 본 균의 백신연구에 사용할 혈청형 균주를 분리하기 위하여 한국 남해안 일대의 해수와 각종 해산물에서 본 균을 분리하고 혈청형 시험을 실시하였다.

1987년 1월~9월 동안 부산의 송도, 해운대, 광안리 및 송정과 거제도 해금강일대, 그리고 전남의 거문도 및 백도일대에서 해수, 해니, 어류, 패류 및 해조류를 채취하여 본 균을 분리하고 그 분리주의 생화학적 동정 및 혈청형 시험을 하였다.

재료 및 방법

1. 대상지역 및 사용재료

한국 남해안 지역인 부산의 송도, 해운대, 광안리 및 송정과 거제도의 해금강일대, 그리고 전남의 거문도 및 백도해안의 해수, 해니, 어류, 패류 및 해조류를 채취하여 사용하였다.

2. 대조 균주

분리균주와 비교, 검토하기 위해서 일본 국립 예방위생연구소 T. Shimada 박사로 부터 분양 받은 7주의 O균혈청형을 대조균주로 사용하였다. O1~O7형인 혈청형으로서는 O1: ATCC

27562, O2: D3894, O3: E240, O4: 1115-80, O5: E571, O6: 91-81 및 O7: 1338-80등이다.

3. 사용배지

(1) 3% 식염첨가 펩톤수 (증균배지) : 채취한 각 가검물에서 본 균을 증균시킬 때 사용하였다.

(2) TCBS 한천배지 (분리배지) : 본 균을 분리할 때 사용하였다.

(3) 3% 식염첨가 보통한천배지 : 분리주의 생화학적 동정 및 혈청형시험을 실시하기 위해서 집락을 재차 분리할 때와 혈액한천배지를 만들 때 사용하였다.

(4) SIM, TSI, Simmon's citrate, Christensen citrate, urea 한천배지, 핵산한천배지, decarboxylase 기초배지, phenol red 액체배지 및 Hugh-Leifson (OF) 액체배지등의 각종 배지와 각종 아미노산 및 당을 사용하였다.

4. 분리방법

각종 해산물은 멸균된 페트리접시에 놓고 가위로 잘게 잘라서 각각 2g씩, 해수는 2ml씩, 해니는 2g씩을 증균배지에 넣고 37°C, 18~24시간 배양하였다. 그 후 TBCS 한천배지에서 37°C, 18~24시간 배양하고 sucrose 비분해성인 직경 0.5~1mm의 녹색집락을 분리하였다.

5. 생화학적 동정^{4, 6, 8, 16, 23, 27, 30, 31, 38}

(1) TCBS 한천배지에서 sucrose 비분해성인 직경 0.5~1mm의 녹색집락을 관찰하고 그램염색을 실시하여 검경하였다.

(2) TSI 한천반사면배지의 성상을 관찰하였다.

(3) SIM 배지에 천자하고 37°C, 24시간 배양하여 운동성과 유화수소생산 유무를 관찰하고 chloroform 과 Kovac 시약을 넣어서 indole 시험을 관찰하였다.

(4) 탄소원의 구연산 이용시험은 Simmon's와 Christensen 배지에서 37°C, 24시간 배양하고 관찰하였다.

(5) 아미노산탈탄산시험은 각 아미노산(L-arginine, L-lysin, L-ornithine)을 1%비율로 첨가한 decarboxylase 기초배지에 균을 접종하여 멸균유동과라핀을 중층하고 37°C, 48시간 배양한 후 관찰하였다.

(6) 당분해시험은 각종 당을 1%비율로 첨가한 phenol red 액체배지에서 37°C, 24시간 배양한 후 관찰하였다.

(7) 핵산분해 효소시험은 핵산한천배지에서 37°C, 18~24시간 배양한 후 1.5N 염산을 충분히 떨어뜨려 15분 뒤에 집락주위에 생긴 투명대의 유무를 관찰하고 투명대가 생긴 것을 양성으로

판정하였다.

(8) Hugh-Leifson(OF)배지로서 산화 및 발효 시험과 포도당으로부터 가스생산을 시험하였다. 본 배지 두개의 시험관에 각각 접종하고 한 시험관에는 멸균유동파라핀을 중층하여 37°C, 24시간 배양하였다.

포도당 산화(oxidation: O): 유동파라핀을 중층하지 않은 시험관은 황색으로 변화되고 유동파라핀을 중층한 시험관은 변화되지 않은 것이다.

포도당 발효(fermentation: F): 두개의 시험관 모두 황색으로 변화된 것이다.

포도당 비분해: 두개의 시험관 모두 변화되지 않은 것이다.

(9) 발육온도 시험은 두개의 보통액체배지(3%식염첨가)에 접종하여 각각 5°C 및 42°C에서 24~48시간 배양한 후 발육여부를 관찰하였다.

Table 1. Isolation of *Vibrio vulnificus* from sea water, sea mud, fish, shellfish and algae in the southern sea of Korea in 1987

Specimens tested	No. of isolated strain
Sea water	21 ^{a)} / 400 ^{b)} (5.3) ^{c)}
Sea mud	11 / 150 (7.3)
Fish	28 / 420 (6.7)
Shellfish	19 / 250 (7.6)
Algae	6 / 230 (2.6)
Total (%)	85 / 1,450 (5.9)

^{a)} Cases isolated, ^{b)} Total cases tested.

^{c)} Figures with parentheses indicate per cent.

Table 2. Biochemical characteristics of *Vibrio vulnificus* isolated from sea water and sea products in the southern sea of Korea in 1987

Test	Strains tested	
	Isolated strain of <i>V. vulnificus</i> (85) ^{a)}	References strain of <i>V. vulnificus</i> (7) ^{b)}
Gram stain	Negative bacilli	Negative bacilli
Motility(SIM)	+ (100) ^{c)}	+ (100)
TSI	K/A (100)	K/A (71.4) A/A (28.6)
H ₂ S	+ (21.2) - (78.8)	- (100)
Indole	+ (100)	+ (100)
MR	+ (100)	+ (100)
VP	- (100)	- (100)
Citrate(Simmon's)	+ (94.1) - (5.9)	+ (42.6) - (57.4)
(Christensen)	+ (94.1) - (5.9)	+ (42.6) - (57.4)
Gelatinase	+ (100)	+ (100)
Urease	- (100)	- (100)
Nirate reduction	+ (100)	+ (100)
DNase	+ (39.0) - (61.0)	- (100)
Oxidase	+ (100)	+ (100)
ONPG	+ (100)	+ (100)
O-F medium glucose open	+ (100)	+ (100)
O-F medium glucose sealed	+ (100)	+ (100)
O-F medium glucose gas	- (100)	- (100)
Growth at 5°C	- (100)	- (100)
at 42°C	+ (76.5) - 23.5)	+ (100)
Arginine dehydrolase	- (100)	- (100)
Lysine decarboxylase	+ (100)	+ (100)
Ornithine decarboxylase	+ (83.5) - (16.5)	+ (28.6) - (71.4)

^{a)} Total cases tested, ^{b)} References strains, ^{c)} Figures with parentheses indicate per cent.

(10) 호염성시험은 식염을 각각 비율별로 첨가한 보통액배지에서 37°C, 24~48시간 배양한 후 발육유무를 관찰하였다.

6. 용혈반응^{4, 6, 8, 18)}

보통한천배지에 사람의 적혈구를 넣어 만든 혈액한천배지상에서 용혈반응을 관찰하였다.

(1) 적혈구 부유액의 조제법: 탈삼유소의 혈액을 멸균생리식염수로 잘 세척한 후 멸균생리식염수와 세척혈구의 양이 4:1로 되도록

적혈구부유액을 만들었다.

(2) 혈액한천배지의 조제법: 보통한천 배지에 적혈구부유액을 3% 비율로 첨가하여 혈액한천배지를 만들었다.

(3) 용혈현상의 판정: 혈액한천배지에 균을 접종하여 37°C, 24시간 배양한 후 집락주위에 명확한 투명대가 생긴 것을 양성으로 판정하였다.

7. 혈청형시험^{4, 6, 8, 32)}

일본 국립예방위생연구소 T. Shimada 박사

Table 2-1. Carbohydrate tests of *Vibrio vulnificus* isolated sea water and sea products in the southern sea of Korea in 1987

Test	Strains tested	
	Isolated strain of <i>V. vulnificus</i> (85) ^{a)}	References strain of <i>V. vulnificus</i> (7) ^{b)}
Adonitol	-(100) ^{c)}	-(100)
Arabinose	-(100)	-(100)
Arabitol	-(100)	-(100)
Cellobiose	+(100)	+(100)
Dulcitol	-(100)	-(100)
Galactose	+(100)	+(100)
Glucose	+(100)	+(100)
Lactose	+(56.5) -(43.5)	+(57.4) -(42.6)
Maltose	+(100)	+(100)
Mannitol	+(50.6) -(49.4)	+(71.4) -(29.6)
Mannose	+(100)	+(100)
Raffinose	-(100)	-(100)
Rhamnose	-(100)	-(100)
Salicin	+(100)	+(100)
Sorbitol	-(100)	-(100)
Sucrose	-(100)	-(100)
Trehalose	+(100)	+(100)
Xylose	-(100)	-(100)

^{a)} Total cases tested, ^{b)} References strains, ^{c)} Figures with parentheses indicate per cent.

Table 2-2. Halophilism tests of *Vibrio vulnificus* isolated sea water and sea products in the southern sea of Korea in 1987

Concentration of NaCl(%)	Strains tested	
	Isolated strain of <i>V. vulnificus</i> (85) ^{a)}	References strain of <i>V. vulnificus</i> (7) ^{b)}
0	-(100) ^{c)}	-(100)
1	+(100)	+(100)
3	+(100)	+(100)
6	+(100)	+(100)
7	+(35.3) -(64.7)	-(100)
8	-(100)	-(100)

^{a)} Total cases tested, ^{b)} References strains, ^{c)} Figures with parentheses indicate per cent.

Table 3. Hemolytic activity of *Vibrio vulnificus* isolated sea water and sea products in the southern sea of Korea in 1987

Strains tested	Hemolytic activity		Total (%)
	Positive	Negative	
Isolated strain of <i>V. vulnificus</i> (85) ^{a)}	85 (100) ^{c)}	0	85(100)
References strain of <i>V. vulnificus</i> (7) ^{b)}	7(100)	0	7(100)

^{a)} Total cases tested, ^{b)} References strains, ^{c)} Figures with parentheses indicate per cent.

등²⁾에 의하여 연구된 O군항혈청 O1~O7 형과 이 O군 항혈청에 동정되지 않는 비형별균주를 가지고 저자가 연구해서 명명한 O8형 항혈청을 사용하였다. O8형 항혈청은 전형적인 생화학적 성상을 가진 본 균으로서 Shimada 박사등의 O군 항혈청에 응집되지 않는 9주의 비형별균주들의 O항원을 각각 토끼에 면역하여 얻은 항혈청이며, 교차응집시험과 흡수시험을 거쳐서 결정된 항혈청이다.

(1) O항원 조제법: 1% 식염첨가 보통한천배지에서 18~24시간 배양하고 멸균생리식염수로 부유액을 만들어 100°C, 2시간 가열한 후 3,000rpm, 15~20분 원심분리하고 침전균체를 2회 세척하여 농부유액으로 만들었다.

(2) 실시방법: O1형부터 O8형까지 차례로 O항원과 O군 항혈청의 초자판법 응집반응을 관찰하고 대조균주의 응집반응과 비교하여 응집반응이 명확하게 일어난 O항원을 그 O혈청형으로 판정하였다.

Table 4. Identification of serotypes of *Vibrio vulnificus* isolated sea water and sea products in the southern sea of Korea in 1987

O group antiserum ^{a)}	Cases identified
O1	13
O2	6
O3	11
O4	9
O5	10
O6	7
O7	15
O8 ^{b)}	10
UT ^{c)}	4
Total	

^{a)} Manufacture is Dept. of Bacteriology, National Institute of Health at Tokyo in Japan.

^{b)} Manufacture is Dept. of Microbiology, College of Natural Scienc, PNU.

^{c)} Unidentified strains.

성 적

1. *V. vulnificus* 분리성적

1987년 한국 남해안에서 *V. vulnificus*를 분리한 성적은 Table 1과 같다.

총가검물 1,450례에서 85주(5.9%)를 분리하였는데 가검물별로는 해수 400례중 21주(5.3%), 해니 150례중 11주(7.3%), 어류 420례중 28주(6.7%), 패류 250례중 19주(7.6%) 및 해조류 230례중 6주(2.6%)가 분리되었다.

2. 분리주의 생화학적 동정성적

분리된 85주에 대한 생화학적 동정성적은 Table 2, 2-1, 2-2와 같다.

TCBS 한천배지에서 37°C, 18~24시간 배양하여 직경 0.5~1mm의 전형적인 sucrose 비분해성인 녹색집락을 관찰할 수 있었으며 그램 음성 간균이었다. TSI 한천반사면배지에서 모두 K/A 이었고, 21.2%가 미량의 유화수소를 생성하였다. SIM 반유동한천배지에서는 운동성과 indole 생성을 관찰할 수 있었다. 구연산은 94.1%가 이용하였고 핵산분해효소시험은 39%가 양성, 61%가 음성이었다. MR, gelatinase, 질산염환원, ONPG 및 oxidase 시험은 양성이었고 VP 및 urease 시험은 음성이었다. 포도당산화 및 발효시험에서 포도당분해는 발효에 의하였고 가스발생은 없었다. 발육온도 시험은 5°C에서는 전부 발육하지 않았고, 42°C에서는 76.5%가 발육, 23.5%가 비발육이었다.

아미노산탈탄산시험은 arginine 이 음성, lysine 이 양성, ornithine 이 83.5% 양성, 16.5% 음성이었다.

당분해시험은 cellobiose, galactose, glucose, maltose, mannose, salicin 및 trehalose 가 양성, lactose 는 56.5% 양성, 43.5% 음성이었고, mannitol 은 50.6%, 49.4% 음성이었다. Adonitol, arabinose, arabitol, dulcitol, raffinose, rhamnose, sorbitol, sucrose 및 xylose 는 음성이었다.

호염성시험은 식염을 1%, 3%, 6%, 첨가한 배지에서는 모두 발육하였으나, 7% 첨가한 배지에서는 35.3% 발육, 64.7% 비발육이었고, 0%, 8% 첨가한 배지에서는 모두 발육하지 않았다.

3. 용혈반응 성적

분리된 85주에 대한 사람적혈구를 사용한 용혈반응 성적은 Table 3과 같다.

분리주 모두 혈액한천배지상에서 1~4mm의 용혈대를 생성하였다.

4. 혈청형시험 성적

분리된 85주에 대한 혈청형시험 성적은 Table 4와 같다.

O1형이 13주, O2형이 6주, O3형이 11주, O4형이 9주, O5형이 10주, O6형이 7주, O7형이 15주 및 O8형이 10주로 동정되었고, 4주는 어떤 항혈청에도 응집이 관찰되지 않아서 비형별군주로 분류하였다.

고 찰

최근까지 *Vibrio* 속에 속하는 세균은 30여종으로 알려져 있으나 인체병원성으로 크게 문제가 되고 있는 세균은 10종으로 보고되고 있다. 전 세계적으로 인체병원성 비브리오종은 해양도시 및 어촌을 중심으로 생선회와 해산물을 즐겨 먹는 국민들에게 항상 위협적인 인체병원균으로 등장하고 있다. 현재 비브리오속에서 인체병원균으로 문제가 되고 있는 종은 *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. metshnikovii*, *V. hol-lisae*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 및 *V. damsela* 등이다^{1, 4-9, 11, 15, 16, 19, 21, 28, 30, 28)}. 이 중에서 *V. vulnificus*는 패혈증, 창상감염, 수막염, 폐렴, 근염, 각막염 및 자궁내막염등의 원인균으로서 인체병원성 비브리오종의 어떤 종보다 치사율이 높은 세균으로 인식되고 있다^{11, 12-17, 18, 20, 24, 33, 37)}. 특히 패혈증의 경우는 간염환자, 만성알콜중독자, 당뇨병환자, 백혈병환자 및 40대 이후의 간 질환이 있는 사람과 신체허약자에게 감염되며, 감염될 경우 대부분 패혈증이 일어나게 되는데, 그 사망율은 50%이상으로 보고되고 있다. 감염원인은 생선회, 굴, 게, 피조개, 우렁छ이를 날 것으로 비위생적인 처리방법에 의하여 먹었을 때 18~24시간 이후에 식중독증

상과 같은 미열, 구토, 전신권태 및 설사를 동반하는 초기증상을 나타내고 그 후에 본 균이 혈류에 침입하여 증식함으로써 패혈증을 일으켜 혈구과파와 독소중독증으로 사망하게 된다^{14, 15, 16, 24, 30)}. 창상감염²³⁾은 피부상처가 생겼을 때 해수나 해산물속의 본 균이 피부에 침입하여 부종, 발적 및 수포등의 초기증상이 나타난 후 국소피부가 썩어가는 피부괴사성으로 진행되는 것이며, 자궁내막염²⁷⁾은 해수욕시에 본 균이 자궁내막에 침입하여 여성에게 자궁내막염을 일으키는 것이다. 그러나 감염자가 간이나 기타 장기에 이상이 없는 건강인일 경우는 사망율이 거의 없는 것으로 보고되고 있다.

본 균의 감염증이 국내 처음으로 알려진 것은 1979년 전남 해안지방에서 피부괴저병이라는 이름으로 알려졌는데, 10명이 발생하여 6명이 사망하였다. 그 이후 전남해안을 중심으로 매년 여름철에 발생하여 사망자가 속출하고 있다. 국내 신문지상에 보도된 것으로는 1984년 8명 사망, 1985년 17명 발생에 7명 사망례가 있으며, 1985년까지 보고된 감염증만도 48례 정도가 되는 것으로 알려지고 있다^{9, 6, 22)}. 대부분의 인체병원성 비브리오종은 해수온이 높은 6~9월의 여름철에 높은 비율로 분리되고 감염환자도 많이 발생한다. 그러나 해수온이 낮은 겨울철에는 거의 분리되지 않고 환자의 발생도 거의 없다. 그러므로 여름철에 해산물을 생식할 때는 위생적인 측면과 적절한 예방대책을 고려해야 한다.

저자는 예방대책의 일환으로써, 본 균에 의한 감염예방에 효과가 있을 것으로 기대되는 사균백신의 제조 필요성을 느끼고, 국내 해안에 분포하고 있는 본 균을 분리하여 혈청형을 동정하게 되었다. 따라서, 남해안 지역의 해수, 해니, 어류, 패류, 해조류를 채취하여 총 가검물 1,450례에서 85주(5.9%)를 분리하고 O군혈청형 O1~O8형에 속하는 81주와 비형별군주 4주를 동정하였다. 해안환경과 해산물에서 본 균의 분리 연구는 국외의 Kelly^{19, 21)}, Oliver 등²⁵⁻²⁷⁾, Tamplin 등²⁴⁾, Tison 등³⁰⁾과 국내의 송철등¹⁾, 정윤섭 등^{2, 3)} 및 주진우등^{4, 6-8)}의 연구가 있다. 국내의 경우, 송철등¹⁾은 국내 연안의 비브리오군속 분포연구에서 1,182례 중 8주(0.7%)를 분리하였고, 정윤섭등^{2, 3)}은 어패류 217례 중 5주(2.3%)를 분리하였으며, 군산해안의 해산물을 SGP, SPS 및 TCBS 배지에 증균배양하여 본 균의 분리를 비교하면서 45례 중 18주(40%)를 분리

보고 하였다. 그리고 주진우등^{4,6-8}은 동, 남해안 일대의 해수 및 해산물 1,807례 중 6주(0.3%), 울릉도 근해의 해수 및 해산물 134례 중 2주(1.5%), 남해안 일대의 해수 및 해산물 399례 중 15주(3.8%), 450례 중 6주(1.3%)를 보고하였다.

본 균이 발생하는 환경요인은 수온과 염도에 밀접한 연관성이 있는 것으로 Kelly²¹, Oliver²⁴ 및 Tamplin 등³⁰에 의하여 알려지고 있는데, 여름과 가을철에 채취한 해수 및 어패류에서 분리율이 높다고 보고하였고, 국내 연구자들도 여름과 가을철에 본 균의 분리율이 높음을 보고하였다. 여러 연구자들의 분리성적을 검토하면 지역과 시기에 따라서 차이가 있고 배양방법에 의해서도 분리율이 차이가 날 수 있다고 사료된다.

본 균의 생화학적 성상은 장염비브리오와 대체로 유사하지만 arabinose, cellobiose, lactose 및 salicin의 당분해 시험과 ONPG 및 호염성 시험에서 구분할 수 있었다. 일반적으로 비브리오종은 유화수소를 생성하지 않은 것으로 간주되고 있으나 본 분리주의 21.2%는 아주 소량의 유화수소를 생산하였다. 본 균의 유화수소 생성은 Oliver 등^{24,27}의 분리주와 주진우등⁶의 혈청형이 동정된 분리주에서도 보고하였고, 저자의 혈청형이 동정된 분리주의 경우도 유화수소를 소량 생성하였다. 그리고 본 균은 lactose 분해성균으로 알려졌으나, Farmer 등¹⁹과 Sakazaki 등³⁰에 의하면 분리주의 85%~90%정도만 lactose를 분해하는 것으로 간주된다. 본 분리주는 56.5%만 lactose를 분해하였는데, 양성인 경우는 24~48시간 내에 분해하였고, 음성인 경우는 1주일간 배양하여도 분해하지 않았다. 본 균의 lactose 음성균에 대하여 Baumann 등^{16,11}은 야생주는 lactose를 분해하지 못하고 자발적인 변이에 의하여 lactose 분해능을 가진 균주만이 lactose를 분해한다고 밝히고 있다. 본 연구에 사용된 대조균주 7주 중 3주도 lactose 음성이었으며, 송철등¹⁴과 주진우등^{4,6,8}도 lactose 음성균에 대하여 보고하고 있다. 본 분리주의 35.3%는 식염농도 7%까지 발육하였는데, Sakazaki 등³⁰과 주진우등^{4,6,8}은 7%농도에서 발육하는 분리주를 보고하였고, Hollis 등¹⁷과 Oliver 등²⁷은 8% 및 10%농도에서도 발육하는 분리주들을 보고하였다. 사람적혈구를 사용한 혈액배양배지의 용혈반응은 본 분리주와 대조균주 모두 1~4mm의 용혈대를 나타내었다. 본

균의 용혈반응은 Johnson 등¹⁵의 연구에 의하면 환자유래주와 해양유래주의 용혈성은 거의 비슷하다고 하였고, 주진우등^{4,6,8}도 모두 사람적혈구에 용혈성을 가지고 있음을 보고하였다.

Shimada 등³²이 연구한 O군항혈청 O1~O7형과 저자가 비형별 균주들을 사용하여 연구한 O8형으로 시험한 혈청형시험에서 분리균 85주 중 81주가 O1~O8형까지 혈청형이 동정되었고 4주가 비형별균주로 나타났다. Shimada 등³²의 O군항혈청은 70주를 가지고 연구하여 O1~O7형의 7형으로 분류한 것으로 사용균주의 분리원은 환자 27주, 어류 37주 및 해수 6주이며, 일본에서 분리한 59주와 미국 CDC에서 분리한 11주를 사용한 것이다. 저자의 O8형 항혈청은 전형적인 생화학적 성상을 나타내고 Shimada 등³²의 O군항혈청에 응집되지 않는 비형별 균주 9주를 사용하여 O항원을 만들어 토끼에 면역한 후 전채혈하여 얻은 혈청을 교차응집 시험과 흡수시험을 통하여 결정항혈청이다. 국내에서 본 균의 혈청형시험은 정운섭등³과 주진우등^{4,6-8}이 보고하고 있다. 정운섭등³은 환자와 패류에서 분리한 균주들을 일본 국립예방위생연구소 Shimada 박사에게 의뢰한 결과 O1형, O2형, O4형, O5형, O6형, O7형, O9형(발표되지 않은 혈청형으로 Shimada의 개인적인 분류)이 동정되었다고 보고하였다. 그리고 주진우등^{4,6-8}은 남해안에서 분리한 15주를 분양받은 O군항혈청으로 시험한 결과 O1형과 O7형을 동정하였고, Shimada 등³²의 O군항혈청에 응집되지 않는 분리주들을 해양환경에 존재하는 다른 O군형균주로 추정하여 비형별균주로 분류하고 있다.

저자는 이 연구결과를 통해서 각 혈청형의 분포는 대체로 비슷하며, 한국 해안에 분포하고 있는 본 균과 전 세계의 해안에 분포하고 있는 본 균이 거의 유사한 균주들임을 알 수 있었다. 그리고 본 균의 O항원의 백신가능성 여부는 계속적인 연구과제로 남아 있으나, 다른 세균들의 경우를 볼 때 충분한 가능성이 있으리라고 생각되었다. 그러므로 분리한 혈청형균주들을 사용하여 백신을 연구, 제조하면 본 균의 감염예방에 크게 공헌할 것으로 기대된다.

비브리오종에 의한 질환은 대개 여름철에 많이 발생하고 겨울철에는 거의 발생하지 않는 것이 특징이므로 여름철에 해수욕을 할 때와 어패류를 생식할 때는 철저한 예방대책이 요구된다. 가장 좋은 예방대책은 가열처리하여 먹는

것이지만 날 것으로 먹을 경우, 비브리오종은 대단히 담수에 약하므로 수도물로 여러번 깨끗이 씻고 사용하는 조리대를 청결하게 하면 비브리오종에 의한 질환은 거의 나타나지 않을 것으로 여겨진다. 그리고 어시장, 어촌 및 해안 도시의 해수와 해산물에 관련된 직종을 가진 사람들은 찰과상 방지를 위해 장갑과 장화등을 착용하고 누구든지 상처가 생겼을 때는 신속한 외과적인 치료가 반드시 필요하다고 사려된다. 한편 인체병원성 비브리오종에 대한 국내해안의 생태학적 환경요인의 분석과 분리주의 특성에 따른 병원성이 명확히 규명되어 환자의 치료와 예방대책이 다각도로 검토되어야 하겠다.

결 론

Vibrio vulnificus 백신을 연구할 혈청형균주를 분리하기 위하여 한국 남해안일대의 해수 및 각종 해산물에서 *V. vulnificus*의 분리 및 혈청형 시험을 실시하였다. 1987년 1월~9월 동안 부산의 송도, 해운대, 광안리 및 송정과 거제도 해금강일대, 전남의 거문도 및 백도 일대에서 해수, 해니, 어류, 패류 및 해조류를 채취하여 본 균을 분리하고 그 분리주의 생화학적 동정 및 혈청형 시험을 하여 얻은 결론은 다음과 같다.

한국 남해안일대의 해수 400례, 해니 150례, 어류 420례, 패류 250례 및 해조류 230례의 총 가검물 1,450례에서 85주(5.9%)가 분리되었다. 분리된 85주의 가검물별 분포는 해수 21주(5.3%), 해니 11주(7.3%), 어류 28주(6.7%), 패류 19주(7.6%) 및 해조류 6주(2.6%)이었다. 분리주는 모두 사람적혈구를 사용한 혈액한천 배지 상에서 용혈성을 나타내었으며, O균항혈청으로 실시한 혈청형시험에서 81주가 혈청형이 동정되었고 4주가 비형별균주로 나타났다. 혈청형이 동정된 분리주는 O1형 13주, O2형 6주, O3형 11주, O4형 9주, O5형 10주, O6형 7주, O7형 15주 및 O8형 10주이었다.

한국 남해안에서 O균혈청형의 분포는 대체로 비슷하며, 세계적으로 분포되어 있는 본 균과 거의 유사한 균주들임을 추정할 수 있었고, 다른 세균들의 경우를 볼 때 사균백신은 충분한 가능성이 있으므로 분리한 혈청형균주를 사용하여 백신을 연구, 제조하면 본 균의 감염예방에 크게 공헌할 것으로 기대되었다.

참 고 문 헌

- 1) 송 철, 손준용, 이길웅, 유재창, 박만석, 박경수, 이인택, 김병훈, 김영자: 비브리오 균속 질환의 세균학적 조사연구(1984). (1) 우리나라 연안의 비브리오균속 분포에 관한 연구. 국립보건원보, **21**:117, 1984.
- 2) 정운섭, 전명숙, 정해경, 권오현, 이삼열: 어패류에서의 *Vibrio vulnificus* 분리. 대한미생물학회지, **19**:73, 1984.
- 3) 정운섭, 이삼열, 김신무: *Vibrio vulnificus* 분리율에 대한 SPS Agar와 SGP Broth의 사용 및 검체저장의 영향. 대한미생물학회지, **22**:103, 1987.
- 4) 주진우, 김 일: *Vibrio vulnificus*에 관한 연구-한국 동, 남해안 일대의 해수 및 해산물에서 *V. vulnificus*의 분리-. 부산대학교 자연과학논문집, **40**:215, 1985.
- 5) 주진우, 이미현: 한국 남해안 일대의 장염 비브리오 분포에 관한 연구-부산, 마산, 충무 및 울산근해의 해수, 해니 및 각종 해산물에서 장염비브리오분리-. 부산대학교 자연과학논문집, **41**:191, 1986.
- 6) 주진우, 김 일: 한국 남해안 일대의 해수 및 해산물에서 *Vibrio vulnificus*의 분리연구. 대한미생물학회지, **21**:97, 1986.
- 7) 주진우, 이미현, 김 일: 한국 울릉도 근해의 비브리오속의 분리연구. 대한미생물학회지, **21**:345, 1986.
- 8) 주진우: 한국 남해안 일대의 해수 및 해산물에서 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Vibrio vulnificus*의 분리연구. 부산대학교 자연과학논문집, **42**:203, 1986.
- 9) 주진우, 김 일: *Vibrio damsela*의 분리연구. 대한미생물학회지, **22**:225, 1987.
- 10) Baumann P, Bauman L and Hall BG: Lactose utilization by *Vibrio vulnificus*. *Curr. Microbiol.*, **6**:131, 1981.
- 11) Baumann P and Schubert RHW: Family II *Vibrionaceae*, P. 516. In Kreig NR and Holt JG(ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* volum 1. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1984.
- 12) Blake PA: Clinical features and an epidemiological study of *Vibrio vulnificus* infections. *J. Infect. Dis.*, **149**:558, 1984.

- 13) Bowdre JH, Poole MD and Oliver JD: Edema and hemoconcentration in mice experimentally infected with *Vibrio vulnificus*. *Infect. Immun.*, **32**:1193, 1981.
- 14) Desmond FP, Janda JM, Adams FI and Botton EJ: Comparative studies and laboratory diagnosis of *Vibrio vulnificus*, an invasive *Vibrio* sp., *J. Clin. Microbiol.*, **19**: 122, 1984.
- 15) Farmer JJ III: *Vibrio*("*Benecke*") *vulnificus*, the bacterium associated with sepsis, septicemia, and the sea. *Lancet* **11**: 903, 1979.
- 16) Farmer JJ III, Kickman-brenner FW and Kelly MT: *Vibrio*, p. 282, In Lennette EH, Balows A, Hausler Jr WJ and Shadomy JH, (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1985.
- 17) Hollis DG, Weaver RE, Baker CN and Thornsberry C: Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* **3**:425, 1976.
- 18) Johnson DE and Calia FM: Hemolytic reaction of clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus*. *J. Clin. Microbiol.* **14**:457, 1981.
- 19) Kelly MT and Avery DM: Lactose-positive *Vibrio* in seawater: A cause of pneumonia and septicemia in a drowning victim. *J. Clin. Microbiol.* **11**:278, 1980.
- 20) Kelly MT and McCormick: Acute bacterial myositis caused by *Vibrio vulnificus*. *J. Am. Med. Assoc.* **246**:72, 1981.
- 21) Kelly MT: Effect of temperature and salinity on *Vibrio*(*Benecke*) *vulnificus* occurrence in Gulf Coast environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**:820, 1982.
- 22) Kim JJ, Yoon KJ, Yoon HS, Chong, Y, Lee SY, Chon CY and Park IS: *Vibrio vulnificus* septicemia: Report of four cases. *Yonsei Med. J.* **27**:307, 1986.
- 23) Macfaddin JF: Biochemical Test of Identification of Medical Bacteria. 2nd. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1980.
- 24) Oliver JD: The pathogenicity and ecology of *Vibrio vulnificus*. *Mar. Technol. Soc. J.* **15**:45, 1981.
- 25) Oliver JD: Lethal cold stress of *Vibrio vulnificus* in oysters. *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**:710, 1981.
- 26) Oliver JD, Warner RA and Cleland DR: Distribution and ecology of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting marine vibrios in coastal waters of the southeastern United States. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**:1404, 1982.
- 27) Oliver JD, Warner RA and Cleland DR: Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting vibrios in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**:985, 1983.
- 28) Reichelt JL and Baumann P: Taxonomy of the marine, luminous bacteria. *Arch. Mikrobiol.* **94**:283, 1973.
- 29) Sakazaki R, Tamura K, Ikuta K and Seibald M: Taxonomical studies on marine vibrios. p. 583. In Iizuka H and Hasegawa T(ed.), *Proceedings of the First International Conference on Culture Collections*, University of Tokyo Press, Tokyo, 1970.
- 30) Sakazaki R and Shimada T: *Vibrio* species as causative agents of food-borne infection, p. 123, In Robinson RK(ed.), *Developments in Food Microbiology 2*. Elsevier Applied Science Publishers, London and New York, 1986.
- 31) Shewan JM and Verron MM: Genus I. *Vibrio*. p. 340. In Buchanan RE and Gibbons NE(ed.), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974.
- 32) Shimada T and Sakazaki R: On the serology of *Vibrio vulnificus*. *J. Med. Sci. Biol.* **37**:241, 1984.
- 33) Tacket CO, Barrett TJ, Mann JM, Roberts MA and Blake PA: Wound infections caused by *Vibrio vulnificus*, a marine *Vibrio*, in inland areas of the USA. *J. Clin. Microbiol.* **19**:197, 1984.
- 34) Tamplin M, Rodrick GE, Blake NJ and Cuba T: Isolation and characterization of

- Vibrio vulnificus* from two Florida estuaries. *Appl. Environ. Microbiol.* **44** : 1466, 1982.
- 35) Tison DL., Nishibuchi M, Greenwood JD and Seidler RJ: *Vibrio vulnificus* biogroup 2: New biogroup pathogenic for eels. *Appl. Environ. Microbiol.* **44** :640, 1982.
- 36) Tison DL and Kelly MT: Factors affecting hemolysin production by *Vibrio vulnificus*. *Curr. Microbiol.*, **10** :181, 1984.
- 37) Tison DL and Kelly MT: *Vibrio vulnificus* ehadometritis. *J. Clin. Microbiol.*, **30** : 185, 1984.
- 38) Wachsmuth IK, Morris GK and Freely JC: *Vibrio*, p. 226, In Lennets EH, Ballowa A, Hausler Jr WJ and Truant JP (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1980.