

# 피틴산이 비브리오균의 생존과 마우스의 패혈증에 미치는 영향

정영호<sup>1</sup> · 박우용 · 이상용 · 이선우<sup>2</sup> · 임치환<sup>3</sup> · 윤민호\*

<sup>1</sup>국립과학수사연구소 중부분소, <sup>2</sup>동아대학교 생명자원과학대학 생물공학전공  
<sup>3</sup>충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학전공

## Effects of Phytic Acid on Viability of *Vibrio vulnificus* and on Septicemia-Induced Mice

Young-Ho Chung<sup>1</sup>, Woo-Woung Park, Sang-Yong Lee, Sun-Woo Lee<sup>2</sup>,  
Chi-Hwan Lim<sup>3</sup> and Min-Ho Yoon\*

<sup>1</sup>Central Research Center, National Institute of Scientific Investigation, Daejeon 305-348, Korea

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, College of Natural Resources and Life Sciences, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

<sup>3</sup>Department of BioEnvironmental Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Received February 13, 2006; Accepted March 17, 2006

EDTA is known to have bacteriocidal effect on *Vibrio vulnificus*, pathogen of septicemia by osmotic shock in seafoods. Attempts were made to elucidate the bacteriocidal effect of phytic acid (PA) as a substitute for EDTA against *V. vulnificus* and its inhibition effect on the septicemia, which induces liver damage of the mice by the pathogen. Viable cells of *V. vulnificus* with the initial titre of  $1.7 \times 10^6$  c.f.u. ml<sup>-1</sup> decreased by 90.6% after 1 min and 99.6% after 5 min in distilled water. The titre decreased by 65.9% and 94.5% in 2 mM solution of Mg<sup>2+</sup>. In 0.1 mM solution of PA, the rate of decrease in titre was 97.4% after 1 min of incubation and 99.8% after 5 min, compared to 95.7% and 99.8% in 0.1 mM solution of EDTA. The bacteriocidal effect of PA solution at a concentration of 1 mM was marked: the rate of decrease in titre was 99.9% after 1 min. In relation to the bacteriocidal effect, PA was evaluated as a potential therapeutic agent for *V. vulnificus* septicemia in mouse. When the survival periods of mice were investigated by PA and EDTA treatment after the pathogen injection, the group of mice which infected by a low concentration of the strain survived longer than that inoculated at high concentration; also, the ratio of survival was 1.3 times higher in PA than in EDTA, showing that the fatal rate depended on the inoculation concentration. Although survival periods of mice induced with liver damage by carbon tetrachloride and then inoculated with the strain showed a similar trend, the fatal rate of mice was 2 times faster than those inoculated with only pathogen into normal liver. These results indicate that the infection by *V. vulnificus* was more fatal to those with liver disease. Also, symptoms of hemorrhage and inflammation on the mice with induced liver damage were reduced in case there was phytic acid treatment at each concentration.

**Key words:** *Vibrio vulnificus*, septicemia, phytic acid

### 서 론

비브리오 패혈증을 일으키는 병원균 *Vibrio vulnificus*는 호염성 세균으로서 다른 *Vibrio*속 균주보다 혈청내에서 쉽게 사멸되지 않는 특성을 나타낸다.<sup>1)</sup> 패혈증이 간질환이나 면역기능저

하 등의 기존질환자에게 주로 발생하고 신속히 진행되기 때문에 병원에 도착하여 일단 저혈압 등의 쇼크 증상을 나타낸 환자들에게는 항생제로 집중 치료하여도 사망률이 80%를 상회하기 때문에 치료보다는 사전 예방이 더욱 중요하다.<sup>2-4)</sup> Neu 등<sup>5)</sup> 및 Nasal 등<sup>6)</sup>은 ethylenediaminetetraaceticacid(EDTA) 등으로 외막(envelope)의 2가 이온을 chelation시켜 삼투압 쇼크를 주었을 때 periplasmic space에 존재하는 효소의 누출로 인하여 *Escherichia coli*가 더 이상 증식하지 못한다고 보고하였고, *V. vulnificus*가 빙점근처의 온도에 노출되었을 때 급격하게 사멸된

\*Corresponding author  
Phone: 82-42-821-6733; Fax: 82-42-823-9241  
E-mail: mhyoon@cnu.ac.kr

다고 보고하였으나,<sup>7)</sup> 그 이후 냉동 및 냉장만으로는 사멸되지 않는다고 반론을 제기하였으며<sup>8)</sup>, 또한 증류수에 의해 억제된 *V. vulnificus*라 하더라도 적당한 배지와 온도 조건에 의해 다시 활성화된다고 보고하였다.<sup>9)</sup> 한편 오염된 해산물을 섭취하여 *V. vulnificus* 패혈증에 감염된 환자들의 임상병리학적소견은 혈소판 감소증, 백혈구 감소증, 간경변, 만성간염 및 알코올성 간염 등의 다양한 소견을 보이고 있으나, 간장 질환이 사망자의 75% 이상을 차지하는 것으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> Chung 등<sup>10)</sup>은 증류수에  $Mg^{2+}$  등의 2가 이온을 첨가하면 *V. vulnificus* 균주가 삼투압 쇼크로부터 잘 보호되어 그 영향을 덜 받는데 반하여, 일정 농도의 EDTA 용액에 균체를 접촉한 결과 1분 이내에 완전히 살균되었으며, 그 원인은 2가 이온을 chelation시켜 외막 주위에 낮은 삼투압을 형성함으로써 치명적인 삼투압 쇼크가 가해지는데 기인하는 것으로 설명하였다. 이어서 Rhee<sup>11,12)</sup>는 *V. vulnificus* 균주에 대하여 이와 유사한 연구 결과를 보고한 바 있다.

EDTA는 식품공업에서 중금속을 제거하는데 사용될 뿐만 아니라, 현대의학에서는 Ca-EDTA를 중금속 중독의 해독제로서 또는 혈액의 항응고제, calcium bilirubinate 담석의 용해제로서 널리 사용하고 있다. 이러한 EDTA는 일반독성 및 유전자 독성이 없는 것으로 알려져 있으나 소위 "화확물질"이라는 선입견 때문에 실제로 사용하는데 있어 일반인들의 거부감이 있는 문제점이 있어 천연성분의 대체제의 필요성이 요구된다.<sup>13-15)</sup>

Phytic acid(inositol hexaphosphoric acid, PA)는 곡물류로부터 얻어지는 천연물이므로 이러한 일반인들의 거부감이 적고, 한편 EDTA보다 금속 chelate 화합물의 안정도 log K 값이 크기 때문에 *V. vulnificus*에 대하여 살균효과도 클 것으로 기대된다. 따라서 본 연구에서는 EDTA를 대체할 신규활성물질로 PA의 이용가능성을 검토하기 위하여 PA가 *V. vulnificus*에 대해 나타내는 살균효과와 간 손상을 유발시킨 마우스의 *V. vulnificus* 패혈증에 미치는 영향을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

***Vibrio vulnificus*.** 전남대학교 의과대학 미생물학교실로부터 표준균주 *V. vulnificus* CMPC6를 분양 받았으며, salt water yeast extract agar<sup>16)</sup> 사면 배지에 보관하면서 실험에 사용하였고 2주 마다 계대 배양하였다.

***V. vulnificus*에 대한 살균효과의 측정.** CMPC6 균주를 12시간 동안 전 배양하고 그 배양액 0.5 ml를 500 ml 삼각플라스크에 분주되어 있는 약 200 ml의 2.5% NaCl brain heart infusion (BHI)에 접종하여 37°C에서 4-6시간 동안 대수증식기까지 진탕 배양하였다. 그리고 배양액을 4°C에서 12,000 × g로 원심분리하여 균체침전물을 얻고 이를 인산완충식염수(phosphate buffered saline; PBS)로 현탁시켜  $10^8$  c.f.u. ml<sup>-1</sup> 수준의 농도가 되도록 조정하였다. EDTA(disodium salt, Sigma)는 0.5 M,  $MgCl_2$ 은 10.5 mM의 stock solution을 조제하였고, PA(50% in water, TCI)는 10배 희석하여 104 mM의 용액을 조제하고 이를 다시 필요에 따라 희석하여 사용하였다. PA의 살균효과를 조사하기 위하여 0.1 및 1 mM 용액 9.9 ml에 앞에서 준비한 균체 현탁액 0.1 ml를 각각 혼합하고 실온에서 보존하면서 시간 경

과에 따른 생균수의 변화를 측정하였다. 즉 0, 1, 3 및 5분 후에 그 100 μl를 취한 다음 이를 각각 동일 농도의 PA용액으로 희석(serial dilution)하여 Luria-Bertani(LB) agar 배지에 도말하였으며 37°C에서 배양하면서 생육하는 콜로니를 계수하였다. EDTA 0.1 및 1 mM 용액,  $MgCl_2$  2 mM 용액, 증류수를 각각 사용하여 PA에서와 동일한 방법으로 균체의 생존에 미치는 영향을 조사하였다. 각 처리당 5개의 평판에서 생균수를 측정하고 그 평균값을 구하여 나타내었다.

**마우스.** 체중 25 g 내외의 잡종 ICR 마우스를 암수 구분 없이 사용하였다. 마우스는 polycarbonate cage에 5마리씩 넣어 수돗물과 실험동물용 펠릿사료를 공급하여 가능한 스트레스를 받지 않도록 1주일 동안 예비사육한 후 실험에 사용하였다.

***V. vulnificus*의 접종에 의한 패혈증의 유발.** 균주 CMPC6를 LB 액체배지에 접종하여 37°C에서 12시간 동안 배양한 다음, 원심 분리하여 얻은 균체를 생리식염수로 4°C에서 1회 원심 세척하였고, 이를 다시 생리식염수에 현탁시켜 각각  $1.6 \times 10^6$  및  $4.6 \times 10^7$  c.f.u. ml<sup>-1</sup>가 되도록 하였으며, 냉장 상태를 유지하면서 실험하였다. 일회용 1 ml 주사기에 26 gauge 바늘을 사용하여 균주 0.5 ml씩을 마우스의 좌측 복강에 서서히 투여하였다. 따라서 마리당 투여량은 각각  $0.8 \times 10^6$  및  $2.3 \times 10^7$  c.f.u.로 계산되었다.

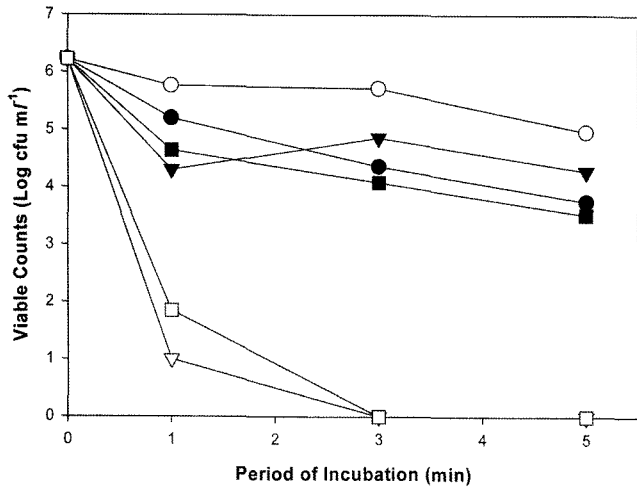
**사염화탄소의 처치에 의한 간 손상의 유발.** 마우스에 대한 사염화탄소( $CCl_4$ , Avondale Lab., England)의 처치는 Gomez 등<sup>17)</sup>이 기술한 방법에 따랐다. 올리브유로 10%가 되도록 희석한 사염화탄소를 *V. vulnificus* 접종 하루 전에 마우스당 0.5 ml씩 복강에 주사하였다.

**마우스에 대한 PA 및 EDTA의 처치.** PA는 생리 식염수로 1, 10 및 20 mM 용액을 각각 조제한 다음 그 0.2 ml를 주사하였다. Ca-EDTA는 생리 식염수로 22 mM 용액을 조제한 다음 80 mg kg<sup>-1</sup>, 즉 마리당 약 2mg이 되도록 그 0.2 ml를 주사하였다.<sup>18)</sup> 이러한 PA 및 EDTA의 처치는 앞 2)항의 *V. vulnificus* 접종 후 1시간이 지난 다음, 각 처리군 별로 우측복부에 복강 투여하였으며 경과 시간에 따라 생존율을 관찰하는 동시에 조직 검사를 시행하였다.

**병리조직의 검사.** 마우스에 균주를 접종한 다음 5시간 후에 시험군과 정상대조군(*V. vulnificus* 균주를 접종하지 않은 대조군)을 희생하여 그 심장, 폐장, 간장 및 신장의 장기를 적출하였다. 이를 절편하여 10% 중성 포르말린 용액에 고정하고 파라핀 포매 방법으로 block을 제작한 다음, 4-6 μm 두께의 조직표본을 Hematoxylin-Eosin 염색하여 광학현미경(Olympus, CX31)으로 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

**PA가 *V. vulnificus*의 사멸에 미치는 영향.** *V. vulnificus* CMPC6 균주의 전배양물을 PBS로 현탁시켜  $10^8$  c.f.u. ml<sup>-1</sup> 수준의 농도가 되도록 조정한 다음, PA의 살균효과를 조사하기 위하여 0.1 mM 및 1 mM PA용액 9.9 ml에 균체 현탁액 0.1 ml를 각각 혼합 접종하고 실온에서 보존하면서 경시적인 생균수의 변화를 비교하였다. 즉 1, 3 및 5분 후에 그 100 μl를 취



**Fig. 1.** Changes in viable counts of *V. vulnificus* CMPC6 during incubation in phytic acid solutions. Bacteriocidal effects of phytic acid (■, 0.1 mM; □, 1.0 mM) were compared with distilled water (●), EDTA (▼, 0.1 mM; ▽, 1.0 mM) and magnesium chloride (○) solutions.

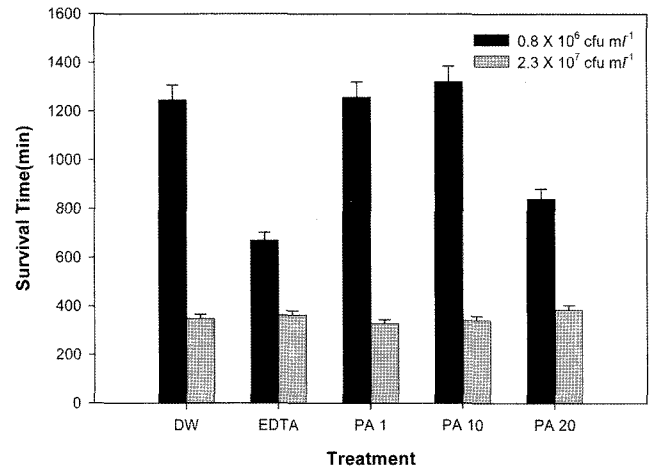
하고 같은 농도의 PA 용액으로 희석한 다음 LB agar 배지에 도말하여 37°C에서 배양한 후 생균수를 측정하였다. EDTA 0.1 및 1 mM 용액, MgCl<sub>2</sub> 2 mM 용액 및 증류수를 각각 사용하여 이와 동일한 방법으로 생균수를 측정하여 사멸율을 계산하였다. 이때 초기 생균수는 1.7 × 10<sup>6</sup> c.f.u. ml<sup>-1</sup>이었으며, 실험결과를 Fig. 1에 종합하여 도시하였다.

대조 실험으로 CMPC6 균주를 증류수에 접종한 경우의 사멸율은 1분후에는 90.6%, 3분후 98.4%, 5분후 99.6%이었으며, MgCl<sub>2</sub> 2 mM 용액의 경우에는 1분후 65.9%, 3분후 69.8%, 5분후에는 94.5%이었다. 이와 같은 결과는 Rhee<sup>7)</sup> 및 Go 등<sup>14)</sup>의 결과와 거의 일치하는 것으로서, 증류수 내에서 균체세포가 받는 osmotic shock를 Mg<sup>2+</sup> 이온이 다소 완화시켜주는 것으로 풀이된다.

한편 EDTA의 0.1 mM 용액 중에서는 1분후 98.8%, 3분후 95.7%, 5분후 98.8%의 사멸율을 나타내었으며, PA의 경우에는 1분후 97.4%, 3분후 99.3%, 5분후 99.8%로서 사멸율이 다소 높았다. 그러나 EDTA와 PA의 1 mM 용액 중에서는 접종 후 1분에서 99.9%의 높은 사멸효과를 나타냄으로서 EDTA와 PA 간에는 큰 차이 없이 유사한 경향의 사멸 효과가 있음을 관찰할 수 있었다. 이 현상은 이들 두 성분이 병원균 세포의 outer membrane과 lipopolysaccharides를 안정화시키고 있는 Mg<sup>2+</sup><sup>19)</sup> 등 2가 이온을 chelation시켜 본래의 막구조(integrity)가 약화된 환경을 조성함으로써 삼투압의 충격이 더욱 크게 나타나는 것으로 추정된다.

**PA가 *V. vulnificus* 패혈증 및 간손상 유발 마우스의 생존에 미치는 영향.**

**접종 농도에 의한 생존율 변화.** *V. vulnificus* CMPC6 균주의 LB 액체배양물을 생리 식염수에 현탁시키고 그 0.5 ml씩을 마우스의 좌측 복강에 투여하였다. 접종균주의 농도는 각각 마리당 0.8 × 10<sup>6</sup>(이하 저농도) 및 2.3 × 10<sup>7</sup> c.f.u. (이하 고농도) 수준이 되도록 조정하였고, 이렇게 균주를 접종한 후 1시간이 지난 다음, 각 처리군(증류수처리 대조군, EDTA 처리군, PA 처



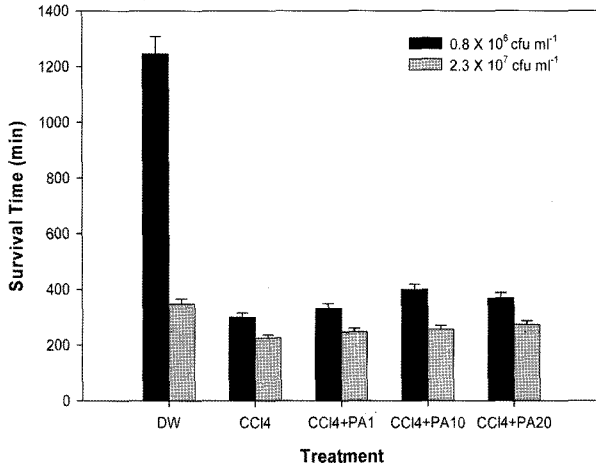
**Fig. 2.** Survival time of the mice which inoculated and infected with *V. vulnificus* CMPC6, and then treated with EDTA or phytic acid. The strain was inoculated at the concentration of 2.3 × 10<sup>7</sup> and 0.8 × 10<sup>6</sup> c.f.u. per head, respectively. One hour after the inoculation the mouse was administered by distilled water <DW treatment>, 22 mM EDTA <EDTA treatment>, 1 mM PA <PA-1 treatment>, 10 mM PA <PA-10 treatment> or 20 mM PA <PA-20 treatment> solution. The results indicate the mean ± SD (n = 5).

리군)별로 우측복부에 복강 투여하고 경과 시간에 따른 마우스의 생존율을 관찰하여 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

CMPC6 균주를 고농도로 접종한 경우, 대조군에서는 240분 이후 급격한 경련 현상이 발생하면서 치사하기 시작하여 300분 이내에 40%의 치사율을 보였고, 480분 이내에 100% 치사하여 평균 생존시간은 348분으로 계산되었다. 한편 EDTA 처리군에서는 300분이 경과한 다음 치사하기 시작하여, 360분 이내에 60%가, 480분 이내에 100%가 치사되었으며, PA 20 mM 처리군에서는 300분대에서 치사하기 시작하여 515분에 100% 치사하였으며, 두 처리군의 평균 생존시간은 대조군보다 다소 높은 EDTA군에서 362분, PA군에서 379분이었으나 두 군간에 뚜렷한 차이는 없었다. 저농도의 경우, 대조군에서는 390분 경과 후 치사하기 시작하여 735분에 치사된 반면에, EDTA군에서는 435분 경과 후 치사하기 시작하여 750분 이내에 100%가 치사되어 평균 생존시간은 669분으로서 PA 처리군에 비해서는 생존시간이 짧았지만, 고농도 접종구에 비교하면 1.8배 정도 길어지는 경향을 관찰할 수 있었다. 한편, 저농도의 PA처리군에서는 708분에 치사하기 시작하여 1,189분에 모두 치사되었으며, 평균 생존시간은 839분으로 EDTA보다는 1.3배 생존시간이 늘어났다. 이는 *V. vulnificus* 균체를 접종하여 감염시킬 때 그 접종농도가 마우스의 치사속도에 영향을 보여주고 있다. 고농도의 경우 치사가 급속하게 진행된 반면에, 저농도의 경우에는 서서히 진행됨으로서 치사속도는 접종농도에 더 의존적이었다.

**사염화탄소의 처치에 의한 간 손상의 유발 후 생존율 변화.**

*V. vulnificus* 원발성 패혈증의 기저질환인 간장질환 상태를 재현하는 동물모형 실험으로서 균주 접종하기 하루 전에 10% 사염화탄소 0.5 ml를 복강에 투여하여 간 손상을 유발 시킨 상태에서 균주를 접종한 후 1시간이 지난 다음 PA를 농도별로 투여하고, 대조군과 PA 처리군의 치사시간 변화를 비교 관찰하여



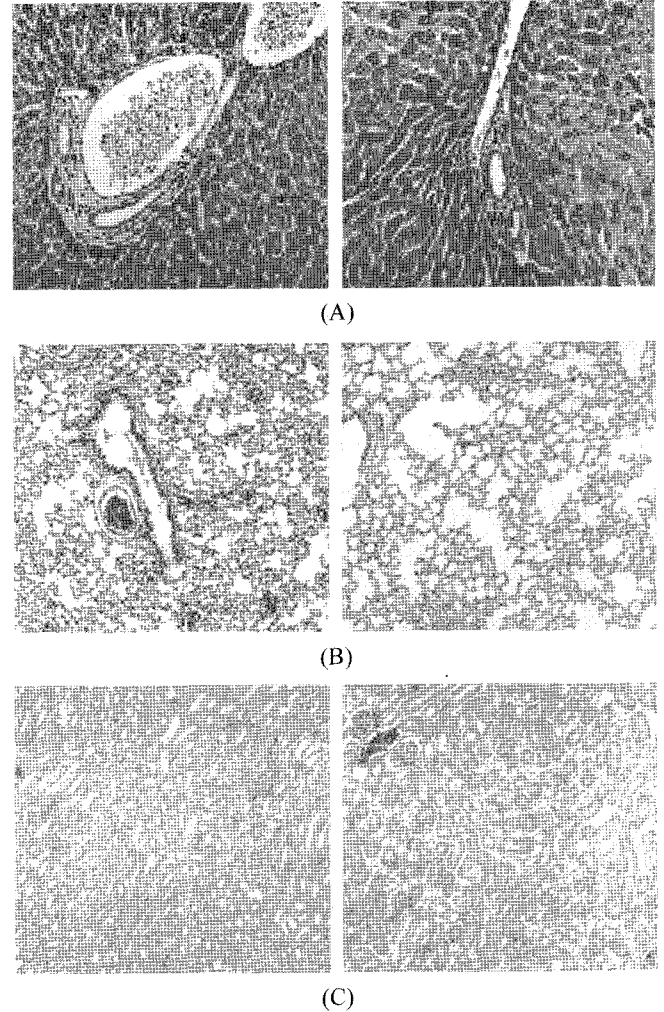
**Fig. 3.** Survival time of the mice with CCl<sub>4</sub>-induced liver damage which inoculated and infected with *V. vulnificus* CMCP6, and then treated with phytic acid. The mouse was injected by 0.2 ml of 10% CCl<sub>4</sub> per head for induction of an artificial liver damage and then, after 24 hour, the strain CMCP6 was inoculated at the concentration of  $2.3 \times 10^7$  and  $0.8 \times 10^6$  c.f.u. per head, respectively. One hour after the inoculation the mouse was administered by 1 mM PA <PA-1 treatment>, 10 mM PA <PA-10 treatment> or 20 mM PA <PA-20 treatment> solution. The results indicate the mean  $\pm$  SD (n = 5).

그 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

CMCP6 균주를 고농도로 접종한 경우 사염화탄소만 단독 처리한 마우스의 평균생존시간은 226분이었고, 간 손상을 유발시키지 않은 대조군에서는 348분이었다. 이에 비해 저농도의 경우에는 사염화탄소 처리군과 대조군의 평균 생존시간은 각각 300분과 1,245분으로 큰 차이를 보였다. 또한 사염화탄소에 의해 간 손상을 유발시킨 후 1 mM, 10 mM과 20 mM PA를 농도별로 투여한 효과를 검토한 결과, 고농도 처리군의 생존시간은 247분, 257분 및 270분으로 사염화탄소 단독처리군의 226분 보다 PA 농도 증가에 따라 평균 생존시간이 약간 늘어났다. 그러나 저농도의 경우 PA 1 mM을 병행 처리한 군에서는 332분으로 단독처리군의 300분과 큰 차이를 보이지 않았으나, PA 10 mM에서의 평균생존시간은 399분, 그리고 PA 20 mM에서는 369분으로 유의수준의 연장효과를 나타냈다. 이처럼 PA 병행 처리군이 사염화탄소 단독 처리군에 비해 생존시간이 길어지는 기전은 간 손상으로 인하여 증가된 혈중의 철농도가 투여된 PA와 킬레이트를 형성하여 배설이 촉진됨으로서 혈중의 철 수준이 저하되고 균체가 이용할 수 있는 철의 부족현상을 초래하기 때문으로 추론할 수 있다. 이의 결과는 Ha 등<sup>20)</sup>의 EDTA에 관한 보고와 유사한 것으로 나타났다.

**병리조직학적 소견.** 균주를 접종하기 하루 전에 사염화탄소로 간 손상을 유발시킨 상태에서 저농도(마리당  $0.8 \times 10^6$  c.f.u. ml<sup>-1</sup>)의 *V. vulnificus* 균체를 마우스에 접종한 다음 5시간 후에 각 처리군(증류수 대조군, EDTA 처리군, PA 처리군)과 정상대조군(*V. vulnificus* 균주를 접종하지 않은 대조군)을 도살하여 그 심장, 폐장, 간장 및 신장의 장기를 적출한 다음 조직표본을 제작하여 관찰하였으며 그 사진을 Fig. 4에 나타내었다.

**간 조직소견.** 사염화탄소 단독처리군에서 심한 울혈을 볼 수 있었고, 중심 정맥 주변으로 염증이 관찰되었다. 간 손상을 유



**Fig. 4.** Impressions of the pathological organism on liver (A), lung (B) and kidney tissue (C) of the group without CCl<sub>4</sub> injection (Left, EDTA; Right, PA 20 mM). Symptoms on the congestion and hemorrhage in liver, lung and kidney were reduced by phytic acid treatment.

발시킨 후 PA를 농도별 병행처리한 군의 경우 전체적으로 울혈정도가 심했으나 PA농도의 영향에 따라 중심정맥 주변부 염증이 점차 감소하는 경향이 뚜렷했다. 한편 간 손상을 유발하지 않은 대조군(증류수)에서도 울혈이 나타났고, EDTA군의 경우 특이한 소견을 보이지 않았다. PA처리군의 경우 전체적으로 울혈정도가 심하지는 않았으나 PA농도의 영향에 따라 간 문맥 내 혈관의 울혈이 감소하는 경향이 뚜렷했으며 PA 20 mM 농도의 경우 깨끗한 소견을 보였다.

**폐장 조직소견.** 사염화탄소처리군의 경우 폐의 모든 조직에서 울혈소견을 보였으나, PA병행 처리군에서는 정도의 차이가 있으나 울혈이 줄어드는 것을 관찰할 수 있었고, 혈관주변에서 비슷한 정도의 폐포내 출혈소견을 보였고, PA 20 mM 농도에서는 울혈 및 출혈이 줄어드는 경향을 관찰할 수 있었다. 사염화탄소처리하지 않은 군의 경우 폐에서 정도의 차이는 있었으나 모든 조직에서 울혈소견을 확인 할 수 있었고, PA 처리군의 경우 농도에 의해 폐포내 출혈이 줄어드는 경향이 있었다. 10 mM 농도 경우 주요 혈관 내에서 약간의 울혈 및 폐포내 출혈

을 보였으며, 20 mM 농도에서의 폐포내 출혈정도가 많이 줄어들어 드는 소견을 보였다.

**신장 조직소견.** 사염화탄소처리군의 경우 투여하지 않은 군에 비해 신장손상 정도가 심하게 나타났다. 사염화탄소군의 경우 간질출혈 및 울혈소견을 보이고 실질내 출혈이 관찰되었다. PA를 병행 투여한 군 역시 출혈이 관찰되었고 소수에서 약한 염증세포의 침윤이 동반되었으나, PA농도에 따라 간질내 출혈 및 울혈이 줄어드는 경향을 나타내었다. 사염화탄소처리하지 않은 군의 경우 EDTA군에서는 약간의 간질내 출혈소견이 관찰되었고, PA 처리군에서 모든 신장에서 출혈소견을 보였으나, PA 농도에 따라 그 정도가 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다.

**심장 조직소견.** 심장소견은 사염화탄소 투여한 군과 투여하지 않은 군 모두에서 특이한 소견을 관찰할 수 없었다(결과 미제시).

이상과 같이 비브리오 패혈증을 일으키는 호염성 세균 *Vibrio vulnificus*에 대한 살균효과와 간 손상을 유발시킨 마우스의 패혈증에 미치는 phytic acid의 효과를 현재 중금속 중독 해독제, 혈액의 항응고제, 병원성 세균의 살균제 등으로 이용되고 화학 성분인 Ca-EDTA 비교한 결과, 0.1 mM의 저농도에서도 PA의 살균효과가 높았고, *V. vulnificus* 감염에 의한 패혈증 유발시험에서도 PA처리군이 저농도로 접종 시 마우스의 생존시간이 더 연장되었다. 또한 간, 폐 및 신장 등 모든 조직소견에서도 PA 투여 시 출혈 및 염증이 감소하는 경향을 나타내 천연성분인 PA를 EDTA의 대체제로서 이용 할 수 있다고 판단되었다.

## 초 록

EDTA의 대체제로서 천연 Phytic acid(PA)가 비브리오 패혈증을 일으키는 호염성 세균 *Vibrio vulnificus*에 대한 살균효과와 간 손상을 유발시킨 마우스의 *V. vulnificus* 패혈증에 미치는 영향을 조사하였다. *V. vulnificus*는 증류수 내에서는 1분 후 90.6%, 3분 후 98.4% 및 5분 후 99.6%의 높은 사멸율을 나타낸 반면에, MgCl<sub>2</sub> 용액 중에서는 접종 후 1분에서 65.9%, 3분에서 69.8%, 5분에서 94.5%로서 Mg<sup>2+</sup> 이온에 의하여 삼투압 쇼크가 다소 완화되는 결과를 나타내었다. 또한 EDTA 및 PA 용액 중에서는 0.1 mM 농도의 경우 PA에서 사멸율이 약간 높았으나 1 mM 농도에서는 두 처리군 모두 1분 후 99.9%의 높은 사멸율을 보임으로서 EDTA와 PA 처리간에는 유의차를 인정할 수 없었다. *V. vulnificus* 감염에 의한 패혈증 유발시험에서 고농도 보다 저농도로 접종시 마우스의 생존시간이 더 연장되었으며, 접종 후 생존을 연장효과는 PA 처리군이 EDTA 처리군 보다 1.3배까지 높게 나타났다. 이 결과는 사염화탄소로 간 손상을 유발시킨 마우스에 있어서도 비슷한 경향이었으나, 치사속도가 단순 접종처리군에 비해 2배 이상 빠른 결과를 보임으로서 간장 질환 등의 기저질환자가 *V. vulnificus*에 감염될 때 더욱 치명적임을 알 수 있었다. 모든 조직소견은 정도의 차이는 있으나 사염화탄소로 간 손상을 유발시킨 마우스의 경우, 간, 폐 및 신장 등에서 심한 출혈, 울혈, 문맥 간 염증 및 괴사 등의 소견을 보였으며, PA를 농도 별로 처리 했을 경우 이러한 출혈 및 염증이 감소하는 경향을 나타내었다.

## 참고문헌

1. Carruthers, M. M. and Kabat, W. J. (1981) *V. vulnificus* (lactose positive *Vibrio* and *V. parahaemolyticus* differ in their susceptibilities to human serum. *Infect. Immun.* **32**, 964-966.
2. Kim, Y. P., Chun, I. G. and Rhee, J. J. (1985) Study on the epidemiology and infectious in clinically of *V. vulnificus*. *J. K. Med. Ass.* **28**, 773-780.
3. Kim, Y. P., Chun, I. G. and Rhee, J. J. (1985) *V. vulnificus* infectious: clinical characteristics and epidemiology. *J. K. Med. Ass.* **28**, 773-780.
4. Jo, N. J. (1986) The interior 28 case a statue clinic and epidemiology by infectious of *V. vulnificus*. *J. K. Med. Ass.* **29**, 69-77.
5. Neu, H. C. and Heppel, L. A. (1965) The release of enzymes from *Escherichia coli* by osmotic shock and during the formation of spheroplasts. *J. Biol. Chem.* **240**, 3685-3692.
6. Nassal, N. G. and Heppel, L. A. (1966) The release of enzymes by osmotic shock from *Escherichia coli* in exponential phase. *J. Biol. Chem.* **241**, 3055-3062.
7. Oliver, J. D. Lethal cold stress of *V. vulnificus* in oysters. *Appl. Environ Microbiol.* **41**, 710-717.
8. Johnston, J. M., Andes, W. A. and Glasser, G. (1983) *V. vulnificus*-A gastronomic hazard. *JAMA.* **249**, 1756-1757.
9. Go, G. L. (1987) Study on the reactivation of *V. vulnificus* in inhibitive by distilled water. *Chonnam J. Med. Sci.* a Master's thesis.
10. Chung, S. S., Rhee, J. H. and Choi, S. H. (1987) Bactericidal effect of osmotic shock against *V. vulnificus*. *J. Korean Soc. Microbiol.* **22**, 109-116.
11. Rhee, J. H., Lee, S. E., Shin, S. H., Shin, B. A. and Chung, S. S. (1997) A basic for the development of effective preventive measure against *V. vulnificus* septicemia - Bactericidal mechanism of osmotic shock. *J. Korean Soc. Microbiol.* **32**, 183-199.
12. Rhee, J. H. (1988) Study on the origin of *V. vulnificus* septicemia - Effect of RES blockade and hepatocyte destruction. *Chonnam J. Med. Sci.* a Master's thesis.
13. Heindorff, K., Aurich, O. and Michaelis, A. (1983) Genetic toxicology of ethylenediaminetetraacetic acid. *Mut. Res.* **115**, 149-173.
14. Cantilena, I. R. and Kaassen, C. D. (1980) The effect of EDTA and EDTA plus salicylate on acute cadmium toxicity and distribution. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **53**, 510-514.
15. Leusher, U., Baumgartel, H., David, R., Kirchmaier, C. M., Hagenmuller, F., Sieratzki, J. and Hubner, K. (1984) Biochemical and morphological of the toxicity of a Capmul preparation and a bile salt-EDTA solution in patients with bile duct stones. *Amer. J. Gastroenterol.* **79**, 291-298.
16. Oliver, J. D. and Colwell, R. R. (1973) Extractable lipid of gram negative marine bacteria phospholipid composition. *J. Bacteriol.* **114**, 897-908.
17. Gomez, M. D., De Castro, C. R., Acosta, N. D., De Fenos, O. M. De Ferreyra, E. C. and Castro, J. A. (1975) Species differences in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity: The role of CCl<sub>4</sub> activation and of lipid peroxidation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **34**, 102-114.

18. Brennaman, B., Soucy, D. and Howard, R. J. (1997) Effect of iron and live injury on the pathogenesis of *V. vulnificus*. *J. Surgical Res.* **43**, 527-535.
19. DePamphilis, M. L. (1971) Dissociation and reassembly of *Escherichia coli* outer membrane and of lipopolysaccharide, and their reassembly onto flagella basal bodies. *J. Bacteriol.* **105**, 1184-1199.
20. Ha, B. S., Chung, S. S., Lee, J. H. and Kim, Y. P. (1989) Effect of iron and its chelators on *V. vulnificus* septicemia experimentally induced in mice. *K. J. Dermatol.* **27**, 379-387.