

제주 연안에 서식하는 *Vibrio alginolyticus* 분포

Distribution of *Vibrio alginolyticus* inhabiting the Jeju coast

최원선^{1†}, 문채윤², 허문수^{3*}

Won-Sun Choi^{1†}, Chan-Yun Moon², Moon-Soo Heo^{3*}

^{1,2}대학원생, 제주대학교 해양의생명과학부, 제주특별자치도 제주시 제주대학로 102, 63243, 대한민국

³교수, 제주대학교 해양의생명과학부, 제주특별자치도 제주시 제주대학로 102, 63243, 대한민국

^{1,2,3}Department of Life Sciences, School of Marine Biomedical Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

(Received 20 May 2021, Revised 9 June 2021, Accepted 14 June 2021)

Abstract *Vibrio* species are Gram-negative basophils that are ubiquitous in seawater, increasing in number as the water temperature increases. Humans are usually infected by the consumption of contaminated seawater or seafood. *V. alginolyticus* infection in humans is mainly associated with infections of the skin and ears, such as acute otitis media and cellulitis. In this study, the distribution of *V. alginolyticus* along the coast of Jeju Island, and its relationship with water temperature, salinity, DO, and pH was investigated. The antibiotic susceptibility of the bacteria isolated was also tested. In seawater, the Daejeong area had the highest detection rate, with 13 cases (21.7%), and the Hallim area showed the lowest detection rate, with eight cases (13.3%) in. In shellfish, the Daejeong area had the highest rate, with seven cases (23.3%), and the Seongsan and Hallim areas had the lowest detection rate, with four cases (13.3%). The overall detection rate was the highest in Daejeong area, with 20 cases (22.2%), and the lowest in the Hallim area, with 12 cases (13.3%). The detection rate was highest when the water temperature was highest.

Keywords : *V. alginolyticus*, *Vibrio*, Jeju coast, Distribution, Antibiotics

서론

해양 생태계에서 가장 흔한 박테리아 중 하나인 비브리오 종은 그람음성 호염균으로 해수 중에 항상 분포되어 있으며 대표적인 종으로는 *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus* 등 이있다[18]. *V. alginolyticus* 는 수중에서 기회 감염성 병원체로 과거 *V. parahaemolyticus* 와 유사균으로 발견되었으나 자당 분

해 여부의 차이를 가지며[14] 현재 *V. alginolyticus* 로 명명되었다.

기후변화에 관한 정부간 협의체 (IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change) 4차 기후변화보고서(2007)에 따르면 전 지구적으로 지구 온난화에 의한 기후 변화가 일어나고 있으며 이에 따라 기온과 지구 평균 해수면 온도(SST, Sea surface temperature)가 상승하고 있고 더욱 심각한

* Corresponding author

Phone: +82-64-754-3473

Fax: +82-64-756-3493

E-mail: msheoh@jejunu.ac.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

상승이 이어질 것이라고 예상했으며 한반도의 SS T 역시 지난 수십 년간 증가했으며[16] 이로 인해 해양생물을 비롯하여 병원성 비브리오의 생리, 생태, 분포에도 영향을 미칠 수 있다[15]. 유럽의 경우 비정상적인 온도가 증가에 따라 인간에게 감염되는 비브리오 출현이 증가됐다[12]. 비브리오 감염은 일반적으로 수온이 상승할 경우[9] 발생하며 오염된 물이나 해산물에 노출되거나 덜 익힌 해산물 섭취를 통해 감염되며 인간이나 어류 및 무척추동물[7]에 걸쳐 다양한 증상을 유발한다. 인간의 경우 보통 해수에 피부가 노출되는 경우 감염이 이루어지며 보통은 귀에 염증을 일으키나 *V. vulnificus*와 같이 패혈증을 일으키기도 하며 창상 감염, 만성궤양, 만성 골수염 환자에게서 분리되기도 하였다[17, 19]. 어류에 미치는 영향은 아직 불분명하나 감염된 어류에서 높은 비중을 차지하며 분리되며[20], 특히 소라의 경우 여과섭식 과정에서 병원균이나 바이러스 및 독소를 농축시킴으로 해양생물 독소의 매개체이자 주요한 감염원으로 작용할 수 있다[8].

제주 지역의 육상수조식 양식장의 규모는 2020년 기준 266개로 전국 육상수조식 양식장의 49.4%에 달하며(KOSIS, 2020) 제주 본도의 자연 해안선 길이는 약 250 km로 평균적으로 적어도 1km마다 1개소 이상의 양식장이 분포하고 있다고 볼 수 있다. 육상양식장 배출수의 오염물질은 양식 어패류들이 섭취하지 못한 사료, 배설물, 소화시키지 못한 영양분 등이 섞여 고형 물질과 암모니아와 같은 용존유기물질을 모두 포함하므로 연안해역의 수질과 수중 생물에 많은 영향을 미칠 수 있다[10, 11]. 따라서 본 연구에서는 해양 레저활동이 빈번하며 양식장 밀집도가 높은 제주도 연안의 *V. alginolyticus*의 지역별 분포 및 해양환경 변화와의 상관성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채취 및 대상 지역

*V. alginolyticus*는 제주도의 4개 지역 (성산, 대정, 한림, 표선)에서 지역별로 2020년 9월부터 2021년 2월까지 매월 해수는 10개 지점에서 1L씩, 소라는 5마리씩 시료를 채집하였다. 해수는 1L 멸균 채수팩과 채수봉을 이용하여 해수면에서 20~30cm 깊이에서 채수하였으며 소라는 지역 해녀를 통해 채집하여 아이스박스에 담아 -4℃를 유지시키며 운송시킨 후 실험과정에 들어갔다.

환경인자, 이화학적 특성

샘플 채취 시 *V. alginolyticus*의 월별, 지역별 출현 빈도와 해양환경의 변화와의 연관성을 조사하기 위해 YSI (YSI Proplus, USA)을 사용하여 인근 해수의 수온, 염분, DO (dissolved oxygen), pH를 측정하였다.

V. alginolyticus 분리 및 배양

운반해온 해수 1L를 Vacuum/pressure pump (GA ST Manufacturing, USA)를 이용하여 Millipore filter (pore size 0.45mm, Hyundai micro co, KOREA)로 여과한 뒤 여과지를 1% NaCl을 첨가한 Alkaline Peptone Water 100ml (pH 8.4, Difco, USA)에 35℃에서 15~18시간 1차 증균 배양하였고 1차 증균배양액 10ml를 3% NaCl을 첨가한 Alkaline Peptone Water 90ml에 접종해 35℃에서 15~18시간 2차 증균 배양한다. 소라의 경우 청동솔로 표면을 흐르는 물에 깨끗이 세척 후 패각을 제거한 뒤 패육을 믹서에 1분 30초간 분쇄하여 100g을 1% NaCl A.P.W (pH 9.2) 500ml에서 1차 증균 배양을 한 후 15~18시간 후 10ml을 3% A.P.W 90mL에 접종해 35℃에서 15~18시간 2차 증균 배양하였다. 2차 증균 후 멸균된 백금이를 사용하여 TCBS (Thiosulfate Citrate Bile salts Sucrose) agar에 2차 증균액 상층부를 도말하고 35℃에서 15~18시간 배양한다. *V. alginolyticus*는 TCBS agar에서 sucrose를 분해하여 직경 2mm 내외의 yellow color colo

ny를 형성하므로 배양 후 yellow color colony를 분리하여 3% NaCl을 첨가한 BHIA (Brain Heart Infusion Agar, Difco, USA)에서 배양하여 실험에 사용하였다[5].

V. *alginolyticus* 동정

*V. alginolyticus*의 동정은 형태 및 생화학적 성상 및 배양성상에 의해 확정하였다. 먼저 TCBS에서 분리한 yellow colony를 3% NaCl BHIA에 그람염색을 한 후 일부 그람양성균의 경우 신속히 탈색되어 그람음성균으로 잘못 판정되는 경우가 있으므로 검사의 정확성을 위해 KOH String 검사를 추가로 실시하여 그람음성 간균을 분리해 내었다[3, 13]. Oxidase test는 3% NaCl BHIA에서 배양한 colony에 1~2방울의 Oxidase reagent (Bio merieux, France)를 적하한 후 30초 이내에 보라색으로 변하면 양성으로 판정하였다[4]. Catalase test는 18시간 배양한 colony를 슬라이드 글라스에 올리고 3% H₂O₂를 1~2방울을 떨어뜨려 즉시 기포가 생성되면 양성으로 판정하였다. Sulfide-indole-motility (SIM, Hardy, USA) 배지에 균을 접종하고 35°C에서 24~48시간 배양 후 H₂S 생성 여부와 운동성을 확인한 후 Kovacs 시약을 5방울 정도 떨어뜨려 배지 상단에 붉은색 고리가 형성되면 인돌 양성으로 판정하였다. Kligler Iron agar (KIA, Hardy, USA) 배지를 사용하여 glucose/lactose 분해능 및 H₂S 생성 여부를 확인하였으며 배지가 노란색으로 변하면 glucose와 lactose를 분해한 것이고 검은색으로 변하면 H₂S 생성을 한 것이며 아무런 변화 없이 붉은색이면 분해를 하지 못한 것으로 *V. alginolyticus*의 경우 배지균열 없이 검은색으로 변한 부분이 없으며 배지의 상단부는 붉은색, 하단부는 노란색으로 변한 것을 양성으로 판정하였다. Metyl - red (MR) test는 MR-VP 배지 (Difco, USA)에 접종 후 37°C에서 18~24시간 배양한 뒤 배지에 metyl red 시약을 떨어뜨려 붉은색으로 변하면 양성으로

판정하였으며 Voges - Proskauer (VP) test는 MR-VP 배지에 접종 후 37°C에서 18~24시간 배양한 뒤 6% α -naptol 용액 0.2ml와 40% KOH 0.1ml를 떨어뜨려 1시간 이내에 붉은색으로 변하면 양성으로 판정하였다. API 20E kit (Biomerieux, France) 실험은 상기 실험에서 표준균주와 동일한 반응을 보이는 균만을 선별한 후 프로토콜에 따라 API NaCl 0.85% Medium 5ml에 현탁하여 스트립의 테스트 튜브에 각각 접종하고 37°C에서 18~24시간 배양하여 *V. alginolyticus*를 동정하였다.

최적배양조건 (온도, pH, 염도)

*V. alginolyticus*의 최적 배양조건을 알아보기 위해 온도, pH, 염도의 배양조건을 조정하여 실험하였으며 배양온도실험은 3% NaCl을 첨가한 BHI broth (Brain Heart infusion, pH 8.4)에 접종하여 온도별 (5, 15, 25, 35, 40, 45°C)로 배양한 후 배양액이 혼탁 되면 양성으로 판정하였다. pH는 37°C에서 3% NaCl을 첨가한 BHI broth에 pH를 2부터 12까지 조정 후 배양하고 배양액이 혼탁 되면 양성으로 판정하였으며 염도 실험은 BHI broth (pH 8.4) 접종 후 염 농도를 1%~12%까지 조정하여 접종한 후 배양액을 660nm에서 흡광도를 측정하여 판정하였다.

항생제 감수성 시험

분리된 *V. alginolyticus*의 항생제 감수성 시험은 Bauer-kirby 방법(1966)에 준하여 시험하였다. 분리된 균주는 Muller Hinton broth (MHB, Difco, USA)에 접종한 후 35°C 배양기에서 3~4시간 증균 배양하고 배양액의 농도를 McFarland 0.5가 되게 희석조정 하였다. 각 희석된 균액은 멸균된 면봉으로 Muller Hinton agar (MHA, Difco, USA)에 4분 구획 도말하고 5분간 방치시켜 균액을 흡수시킨 뒤 항생제 disc (BD, USA and Oxoid, UK)를 올리고 35°C 배양기에서 16~18시간 배양한 후

균의 증식 저해 대를 측정하였다. 사용된 항생제는 Florfenicol, Amoxycillin, Oxytetracycline, Oxolinic acid, Flumequine, Doxycycline, Ciprofloxacin, Nalidixic acid이다[6].

결과 및 고찰

분리 균주의 생화학적 특성

각 지역에서 분리한 균주들은 모두 TCBS agar에서 자당을 분해하여 등근 형태의 진한 yellow color colony를 형성하였으며 그람 염색 결과 그람 음성 단간균임을 확인하였고 Chrom Agar에 배양하여 White colony를 형성하였다. API 20E kit 실험을 실시하여 분리된 균주와 표준 *V. alginolyticus*를 비교한 결과 ONPG, ADH, LDC를 포함한 18개 항목이 동일한 반응을 보여 전형적인 *V. alginolyticus*의 특성을 나타냈다. Indole 반응은 모두 표준균주와 같이 양성반응을 보였으며 MR 반응의 경우 표준균주와 대부분의 분리 균주는 양성반응을 보였으며 성산지역과 표선지역의 경우 음성반응을 보이는 지점도 있었다(Table 1). 호염성 시험에서 NaCl을 첨가하지 않은 NB와 10%의 NaCl을 첨가한 NB에서는 모두 발육하지 않았으며 1~8%의 식염을 첨가한 NB에서는 일부 발육하였다. 모두 발육한 농도는 2~5%의 NaCl을 첨가한 NB였으며 이를 통해 *V. alginolyticus*는 전형적인 호염균임을 확인하였다. 최적 배양온도시험은 5°C에서는 모두 발육하지 않았으며 15°C~45°C에서 모두 발육하였다. 35°C에서 가장 발육이 좋았으며 이를 통해 최적 발육온도는 35°C이며 *V. alginolyticus*는 중온균임을 알 수 있었다. 최적 pH test에서는 pH 2~4와 pH 12에서는 전혀 발육하지 않았으며 pH 5에서는 일부 발육하거나 약하게 혼탁되었다. 나머지 pH 농도의 경우 잘 자랐으며 특히 pH 8~9에서 가장 잘 발육하여 산성 조건보다 약 염기성 조건에서 발육이 좋음을 알 수 있었다(Table 2).

*V. alginolyticus*의 생화학적 특성은 Mr-VP 실험은 variable 하게 나타났으며 이를 제외하고는 샘플링 위치와 관계없이 전 세계적으로 대부분이 동일한 특성을 보였다[23, 24, 25]. 호염성 실험의

Table 1. Characteristics of Biochemical reaction of the isolated *V. alginolyticus*

strains Characteristics	standard strains	Isolated <i>V. alginolyticus</i> strain			
		Seongsan	Pyoseon	Hallim	Daejeong
Indole in SIM	+	+	+	+	+
Metyl red	+	±	+	+	±
Oxidase	+	+	+	+	+
KIA	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A
ONPG (ortho-nitro-phenyl -galactosidase)	-	-	-	-	-
ADH (arginine)	-	-	-	-	-
LDC (lysine)	+	+	+	+	+
ODC (ornithine)	+	+	+	+	+
CIT (sodium citrate)	+	+	+	+	±
H ₂ S	-	-	-	-	-
URE (urea)	-	-	-	-	-
TDA (tryptophane)	-	-	-	-	-
IND (indole)	+	+	+	+	+
VP (Voges-Proskauer)	-	-	-	-	±
GEL (kohn gelatin)	+	+	+	±	±
MAN (mannitol)	+	+	+	+	+
INO (inositol)	-	-	-	-	-
SOR (sorbitol)	-	-	-	-	-
RHA (rhamnose)	-	-	-	-	-
SAC (sucrose)	+	+	+	+	+
MEL (melibiose)	+	+	+	+	+
AMY (amygdalin)	-	-	-	-	±
ARA (arabinose)	-	±	-	-	-
Chrome Agar	W	W	W	W	W

W = White colony

경우 해수에 노출된 환자의 대변에서 분리한 *V. alginolyticus* 는 11%의 NaCl 에서도 발육하였고[26], 마찬가지로 인간의 대변 및 피부에서 분리한 *V. alginolyticus* 는 1~6%의 NaCl에서만 발육하였다[17]. 그리고 해수 및 소라에서 분리한 본 실험에서는 10%의 NaCl을 첨가하였을때 발육하지 않았다(Table 2). 따라서 *V. alginolyticus* 의 호염성은 지역적 혹은 검체 샘플에 따라 결과값에 차이가 있음을 알 수 있었다.

Table 2. The Morphological and Physio characteristics of *V. alginolyticus*

strains characteristics	standard strains	Isolated <i>V. alginolyticus</i> strain			
		Seongsan	Pyoseon	Hanllim	Daejeong
Gram staining	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+
Growth in					
0% NaCl	-	-	-	-	-
1% NaCl	+	+	+	+	+
2% NaCl	+	+	+	+	+
4% NaCl	+	+	+	+	+
6% NaCl	+	+	+	+	+
8% NaCl	+	+	+	+	+
10%NaCl	-	-	-	-	-
Growth at					
5°C	-	-	-	-	-
15°C	+	+	+	+	+
25°C	+	+	+	+	+
35°C	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+
45°C	+	+	+	+	+
Growth at					
pH 2	-	-	-	-	-
pH 4	-	-	-	-	-
pH 6	+	+	+	+	+
pH 8	+	+	+	+	+
pH 10	+	+	+	+	+
pH 12	-	-	-	-	-

환경인자, 이화학적 특성

샘플링 지점 인근 해수의 수온, 염분, DO, pH 를 측정 한 결과는 Table 3 과 같이 나타났으며 평균 수온의 경우 표선지역이 20.13°C 로 가장 높게 나타났고 한림지역이 18.23°C 로 평균 수온이 가장 낮게 조사되었다. 평균 수온이 가장 높은 표선지역은 월별 평균 수온에서도 다른 지역과 비교하여 항상 높은 수온을 보였으며 성산지역의 경우에는 9월에는 24.25°C 로 높은 수온을 보였지만 2월에는 14.72°C 까지 낮아져 다른 지역에 비해 많은 수온 변화를 보였다.

Table 3. Monthly environmental factor of the Jeju coast

Enviromental Factor	Areas	Month						Total
		9	10	11	12	1	2	
Temperature	Seongsan	24.25	22.30	20.88	17.85	15.93	14.72	19.32
	Pyoseon	25.05	22.67	21.87	18.84	16.71	15.64	20.13
	Hanllim	22.87	22.04	17.94	15.59	15.78	15.19	18.23
	Daejeong	22.69	22.07	18.28	17.45	15.89	15.58	18.66
pH	Seongsan	8.52	8.84	8.22	8.34	8.35	8.39	8.44
	Pyoseon	8.52	9.07	8.25	8.34	8.36	8.40	8.49
	Hanllim	8.79	8.70	8.28	8.30	8.37	8.41	8.47
	Daejeong	8.96	8.89	8.29	8.33	8.37	8.40	8.54
Salinity	Seongsan	31.03	31.87	31.87	31.95	32.73	32.63	32.01
	Pyoseon	30.88	32.02	32.00	31.98	32.75	32.60	32.04
	Hanllim	31.74	33.68	31.26	31.23	32.72	32.73	32.23
	Daejeong	31.83	33.64	31.68	32.28	32.73	32.79	32.49
DO	Seongsan	7.92	8.32	7.53	7.49	5.74	6.62	7.27
	Pyoseon	7.37	8.66	7.63	7.52	6.03	6.58	7.30
	Hanllim	8.86	8.27	8.29	7.78	6.96	6.81	7.83
	Daejeong	8.57	8.31	7.98	7.51	6.86	6.67	7.65

pH와 염분, DO값은 4지역 모두 평균 수치에서 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 pH와 염분, DO 수치는 *V. alginolyticus* 검출률에 영향을 주는지 확인할 수 없었으며 수온의 경우 지역별, 시기별로 많은 변동성을 보여 *V. alginolyticus* 검출률과 비교하였을 때 연관성이 있음을 확인할 수 있었다. 본 연구결과와 동일하게 전남 다도해에서도 *V. alginolyticus* 검출율은 수온과 비례하게 높아졌으며 특이하게 다른 비브리오속들과 달리 수온이 낮은 시기에도 적은 비율이지만 검출이 되었다[21]. 따라서 *V. alginolyticus* 는 다른 비브리오 속들에 비해 수온에 덜 민감하나 수온과 밀접한 연관성이 있음을 알 수 있었다.

Table 2. The Morphological and Physio characteristics of *V. alginolyticus*

strains characteristics	standard strains	Isolated <i>V. alginolyticus</i> strain			
		Seongsan	Pyoseon	Hallim	Daejeong
Gram staining	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+
Growth in					
0% NaCl	-	-	-	-	-
1% NaCl	+	+	+	+	+
2% NaCl	+	+	+	+	+
4% NaCl	+	+	+	+	+
6% NaCl	+	+	+	+	+
8% NaCl	+	+	+	+	+
10%NaCl	-	-	-	-	-
Growth at					
5℃	-	-	-	-	-
15℃	+	+	+	+	+
25℃	+	+	+	+	+
35℃	+	+	+	+	+
40℃	+	+	+	+	+
45℃	+	+	+	+	+
Growth at					
pH 2	-	-	-	-	-
pH 4	-	-	-	-	-
pH 6	+	+	+	+	+
pH 8	+	+	+	+	+
pH 10	+	+	+	+	+
pH 12	-	-	-	-	-

환경인자, 이화학적 특성

샘플링 지점 인근 해수의 수온, 염분, DO, pH 를 측정된 결과는 Table 3 과 같이 나타났으며 평균 수온의 경우 표선지역이 20.13℃로 가장 높게 나타났고 한림지역이 18.23℃로 평균 수온이 가장 낮게 조사되었다. 평균 수온이 가장 높은 표선지역은 월별 평균 수온에서도 다른 지역과 비교하여 항상 높은 수온을 보였으며 성산지역의 경우에는 9월에는 24.25℃로 높은 수온을 보였지만 2월에는 14.72℃까지 낮아져 다른 지역에 비해 많은 수온 변화를 보였다.

Table 3. Monthly environmental factor of the Jeju coast

Environmental Factor	Areas	9	10	11	12	1	2	Total
Temperature	Seongsan	24.25	22.30	20.88	17.85	15.93	14.72	19.32
	Pyoseon	25.05	22.67	21.87	18.84	16.71	15.64	20.13
	Hanllim	22.87	22.04	17.94	15.59	15.78	15.19	18.23
	Daejeong	22.69	22.07	18.28	17.45	15.89	15.58	18.66
pH	Seongsan	8.52	8.84	8.22	8.34	8.35	8.39	8.44
	Pyoseon	8.52	9.07	8.25	8.34	8.36	8.40	8.49
	Hanllim	8.79	8.70	8.28	8.30	8.37	8.41	8.47
	Daejeong	8.96	8.89	8.29	8.33	8.37	8.40	8.54
Salinity	Seongsan	31.03	31.87	31.87	31.95	32.73	32.63	32.01
	Pyoseon	30.88	32.02	32.00	31.98	32.75	32.60	32.04
	Hanllim	31.74	33.68	31.26	31.23	32.72	32.73	32.23
	Daejeong	31.83	33.64	31.68	32.28	32.73	32.79	32.49
DO	Seongsan	7.92	8.32	7.53	7.49	5.74	6.62	7.27
	Pyoseon	7.37	8.66	7.63	7.52	6.03	6.58	7.30
	Hanllim	8.86	8.27	8.29	7.78	6.96	6.81	7.83
	Daejeong	8.57	8.31	7.98	7.51	6.86	6.67	7.65

pH와 염분, DO값은 4지역 모두 평균 수치에서 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 pH와 염분, DO 수치는 *V. alginolyticus* 검출률에 영향을 주는지 확인할 수 없었으며 수온의 경우 지역별, 시기별로 많은 변동성을 보여 *V. alginolyticus* 검출률과 비교하였을 때 연관성이 있음을 확인할 수 있었다. 본 연구결과와 동일하게 전남 다도해에서도 *V. alginolyticus* 검출율은 수온과 비례하게 높아졌으며 특이하게 다른 비브리오속들과 달리 수온이 낮은 시기에도 적은 비율이지만 검출이 되었다[21]. 따라서 *V. alginolyticus* 는 다른 비브리오 속들에 비해 수온에 덜 민감하나 수온과 밀접한 연관성이 있음을 알 수 있었다.

Table 4. Antibiotics sensitive test of *V. alginolyticus* strains in 4 area

Susceptibility Antibiotics	Disc potency (μg)	No. of <i>V. alginolyticus</i> strain											
		Seongsan			Pyoseon			Hallim			Daejeong		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amoxycillin	10	5	5	5	3	5	12	2	2	8	8	4	4
Ciprofloxacin	5	8	6	1	10	7	3	6	4	2	8	8	-
Doxycycline	30	10	5	-	12	7	1	9	3	-	8	8	-
Florfenicol	30	6	3	6	9	5	6	4	5	3	5	6	5
Flumequine	30	6	4	5	7	6	7	5	5	2	7	5	4
Nalidixic acid	30	15	-	-	18	2	-	12	-	-	16	-	-
Oxolinic acid	2	9	6	-	14	5	1	5	5	2	10	6	-
Oxytetracycline	30	13	2	-	18	2	-	11	1	-	15	1	-

S: Sensitive I: Intermedite R: Resistant

항생제 감수성 시험

분리된 *V. alginolyticus* 에 대한 항생제 감수성 시험에 관한 결과는 Table 4와 같이 나타내었으며 4개 지역에서 분리된 균들은 공통적으로 Oxytetracycline, Nalidixic acid 모두 감수성을 보였으며, 성산지역과 대정지역에서 분리된 균주는 Doxycycline, Oxolinic acid 에도 감수성을 보였다. 내성을 보인 균주는 Amoxycillin 의 경우 표선지역은 12 균주, 한림지역 8 균주, 성산지역 5 균주, 대정지역 4 균주이고 Florfenicol은 표선지역과 성산지역에서 6 균주, 한림지역에서 3 균주, 대정지역에서 5 균주가 내성을 나타냈으며 Flumequine은 표선지역 7 균주, 성산지역 5 균주, 대정지역 4 균주, 한림지역 2 균주가 내성을 보였다. Ciprofloxacin에는 표선지역 3 균주, 성산지역 1 균주, 한림지역은 2 균주가 내성을 나타내었으며, Oxolinic acid는 한림지역 2 균주, 표선지역 1 균주가 내성을 보였고 Doxycycline은 표선지역 1 균주가 내성을 보였다. 따라서 *V. alginolyticus* 에 감염 시 병원체에 감수성을 보인 항생제를 제1 선택제로 하여 투여함이 바람직하며 모든 균주에 감수성을 보인 Oxytetracycline, Nalidixic acid 외에도 Oxolinic acid, Doxycycline, Ciprofloxacin에도 대부분 감수성을 보여 *V. alginolyticus* 에 효과적인 항생제임을 알 수 있었다. 하지만 Nalidixic acid 와 Tetracycline의 경우 *V. alginolyticus* 에 관해 OM protein 변형 사례가 있으므로 오남용에 주의하여야 한다[22].

지역에 따른 월별 *V. alginolyticus* 의 분리 현황

2020년 9월부터 2021년 2월까지 4개 지역에서 채취한 해수와 소라의 분리된 *V. alginolyticus* 의 분리 결과는 Table 5 에 있다. 총 360건의 검체에서 63건(17.5%)의 *V. alginolyticus* 가 분리되었으며 해수의 경우 총 240건의 검체에서 43건(17.9%)이 분리되었다. 지역별로는

표선지역이 13건(21.7%)으로 가장 많은 가장 많은 분포율을 나타냈고 한림지역이 8건(13.3%)으로 가장 낮은 분포율을 나타냈다. 소라의 경우 120

Table 5 Isolation frequency of *V. alginolyticus* from samples

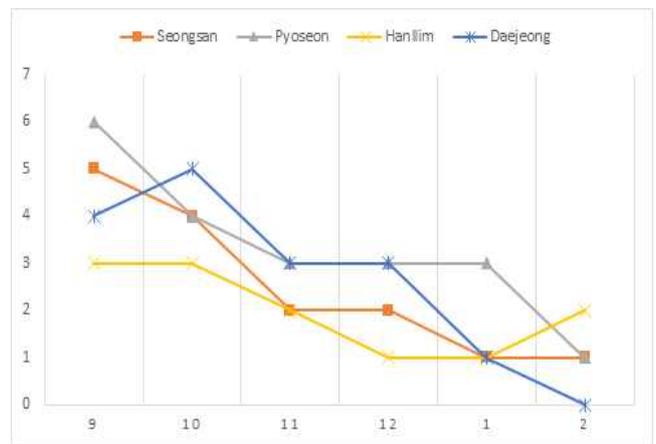
Sample source	Sea water		Shellfish		Total	
	A	B	A	B	A	B
Seongsan	60	11 (18.3%)	30	4 (13.3%)	90	15 (16.7%)
Pyoseon	60	13 (21.7%)	30	7 (23.3%)	90	20 (22.2%)
Hallim	60	8 (13.3%)	30	4 (13.3%)	90	12 (13.3%)
Daejeong	60	11 (18.3%)	30	5 (16.7%)	90	16 (17.8%)
Total	240	43 (17.9%)	120	20 (16.7%)	360	63 (17.5%)

A, Total number of sample collected; B, Total number of isolation of *V.alginolyticus* (ratio in %)

건의 검체에서 20건(16.7%)이 분리되었으며 지역별 분포의 경우 표선지역이 7건(23.3%)으로 가장 많은 분포율을 나타냈으며 성산지역과 한림지역이 4건(13.3%)으로 가장 낮은 분포율을 나타냈다. 조사지역 중 표선지역의 *V. alginolyticus* 분포율이 해수와 소라 모두에서 가장 높게 검출되었으며 전체 검출률에서는 총 90건 중에서 20건(22.2%)으로 가장 높았다. 다른 지역은 대정 16건(17.8%), 성산 15건(16.7%), 한림 12건(13.3%)의 분포율을 나타냈으며 월별 분포율은 9월이 11건(18.3%)으로 가장 높았으며 2월이 2건(3.3%)으로 가장 낮은 분포율을 보였다. 월별 분포를

보았을 때 *V. alginolyticus* 는 9월 및 10월에 높은 검출률을 보이고 1월과 2월에도 검출되었다. 수온이 높을수록 검출 빈도가 증가하였지만, 상대적으로 수온이 낮은 달에도 검출되는 것으로 보아 *V. alginolyticus* 의 검출률은 지역별 평균 수온과 상관관계가 있는 것으로 판단된다(Figure 1).

Figure 1 Monthly *V. alginolyticus* detection rate



결론

본 연구결과 해수와 소라 모두 표선지역에서 가장 검출률이 높았고 한림지역이 가장 낮은 검출률을 보였다. 평균 수온과 비교하여 수온이 가장 높은 시기와 평균 수온이 가장 높은 지역에서 *V. alginolyticus*가 가장 많은 검출률을 보였으며 이러한 검출률을 통해 수온이 낮은 지역에서 보다 높은 지역에서 *V. alginolyticus*가 더 높은 검출률을 보였고 따라서 *V. alginolyticus*의 분포는 다른 해양환경인자보다 수온과 연관성이 높음을 확인할 수 있었다. 본 연구는 연중 수온이 가장 높은 9월과 가장 낮은 2월 사이에 실험을 진행하여 위와 같은 결과를 보였지만 아직 신뢰성을 확보할 만한 기간이 아니며, 보다 많은 기초 자료 확보를 위하여 검체 수 증가와 제주 지역의 연간 *V. alginolyticus* 분포 추이 조사가 필요할 것으로 보인다. 또한,

해양환경에서의 DO, 염분, pH의 환경 특성은 크게 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었으나 다른 해양환경 특성과의 연관성 등의 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Craig Baker-Austin, James D. Oliver, Munirul Alam, Afsar Ali, Matthew K. Waldor, Firdausi Qadri and Jaime Martinez-Urtaza. 2018. *Vibrio* spp. Infections. Nat Rev Dis Primers. 4, 1-19. [1]
2. Luigi Vezzulli, Rita R. Colwell and Carla Pruzo. 2013. Ocean Warming and Spread of Pathogenic Vibrios in the Aquatic Environment. Microb Ecol. 65, 817-825.
3. T. Gregersen. 1978. Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria. European journal of applied microbiology and biotechnology. 5, 123-127
4. Jeffrey J. Tarrand and Dieter H. M. Groschel. 1982. Rapid Modified Oxidase Test for Oxidase-Variable Bacterial Isolates. J Clin Microbiol. 16, 772-774
5. Min-Kyoung Song, Man-Chul Kim, Moon-soo Heo. 2007. Study on the Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* along Cheju Coast. Korean J. Environ. Biol. 25,34-41
6. James J. Biemer, M.D. 1973. Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method. Ann Clin Lab Sci. 3, 135-140
7. K.-K. Lee, S.-R. Yu, Yang, P.-C. Liu and F.-R. Chen. 1996. Isolation and characterization of *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. Lett Appl Microbiology. 22, 111-114
8. S R Rippey. 1994. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. Clin Microbiol Rev. 7, 419-425
9. Sonja Oberbeckmann, Bernhard M. Fuchs, Mirja Meiners, Antje Wichels, Karen H. Wiltshire and Gunnar Gerdt. 2012. Seasonal Dynamics and Modeling of a *Vibrio* Community in Coastal Waters of the North Sea. Environ Microbiol. 63, 543-551
10. Man-chul kim, Tae-Won Jang Yong-Jae Han, Ju-Sang Kim, Ramasamy Harikrishnan, Duck-Chul Oh, Ki-young Kim, Moon-soo Heo. 2009. Physico-Chemical Characteristics of Aquacultural Discharging Water in Jeju Island. Saengmyeong Gwahag Hoeji. 7, 943-948
11. Hyuk-joon Koh, Sung-Eun Park, Hyung-Ke Cha, Dae-soo Chang, Jun-Ho Koo. 2013. Coastal Eutrophication caused by Effluent from Aquaculture Ponds in Jeju. J Korean Soc. Mar. Environ. Saf. 19, 315-326
12. Frederique Le Roux, K. Mathias Wegner, Craig Baker-Austin, Luigi Vezzulli, Carlos R. Osorio, Carmen Amaro, Jennifer M. Ritchie, Tom Defoirdt, Delphine Destoumieux-Garzon, Melanie Blokesch, Didier Mazel, Annick Jacq, Felipe Cava, Lone Gram, Carolin, C. Wendling, Eckhard Strauch, Alexander Kirschner and Stephan Huehn. 2015. The emergence of *Vibrio* pathogens in Europe: ecology, evolution, and pathogenesis (Paris, 11-12th March 2015). Front Microbiol. 6, 830
13. John D. Duck. 1982. Nonstaining (KOH) Method for Determination of Gram Reactions of Marine Bacteria. Appl Environ Microbiol. 44, 992-993
14. Miguel kourany. 1983. Medium for Isolation and Differentiation of *Vibrio parahemolyticus* and *Vibrio alginolyticus*. Appl Environ Microbiol. 45,310-312
15. Young-Il Jeong, Go-Eun Myung, Eun-Jin Ch

- oi, Sang-Moon Soh, Gi-jun Park and Tae-jong Son. 2018. Distribution of Pathogenic Vibrios in the Aquatic Environment Adjacent to Coastal Areas of South Korea and analysis of the Environmental Factors Affecting Their Occurrence. J Environ Health Sci.44, 133-142
16. Luigi Vezzulli, Rita R. Colwell and Carla Pruzzo. 2013. Ocean Warming and Spread of Pathogenic Vibrios in the Aquatic Environment. Microb Ecol. 65,817-825
17. Uwe Schmidt, Herman chmel and claude cobbs. 1979. *Vibrio alginolyticus* infections in Humans. J Clin Microbiol. 10,666-668
18. Carla pruzzo, Anwar Huq, Rita R. Colwell. 2005. Pathogenic Vibrio Species in the Marine and Estuarine Environment. Oceans and Health: Pathogens in the Marine Enviroment. 217-252
19. Dong-Young Lee, Soo-Youn Moon, Sang-Oh Lee, Hee-Young Yang, Hee-Joo Lee and Mi Suk Lee. 2008. Septic Shock due to *Vibrio alginolyticus* in a Cirrhotic Patient: The First Case in Korea. Yonsei Med J. 49, 329-332
20. Su Mi Kim, Kyung Mi Won, Sung Ho Woo, Hua Li, Eun Jeon Kim, Kwang Jin Choi, Mi Young Cho, Myung Suk Kim and Soo Il Park. 2005. Vibrios Lsolated from Diseased Marine Culturing Fished in Korea. J. Fish Pathol. 18,133-145
21. Mal Nam Kim and Han Woong Lee. 2007. Seasonal Distribution of *Vibrio* spp. In the Jeonnam Archipelago Marine Ranching Ground. J. Fish Pathol. 21,229-235
22. Xiao-Peng Xiong, Chao Wang, Ming-Zhi Ye, Tian-Ci Yang, Xuan-Xian Peng, Hui Li. 2010. Differentially Expressed Outer Membrane Proteins of *Vibrio alginolyticus* in Response to Six Types of Antibiotics. Mar Biotechnol. 12,686-695
23. R. Siddiqui, M. M. Alam, M. N. Naser, Y. Otomo, M. Yasmin, J. Nessa and C. R. Ahsan. 2012. Prevalence of *Vibrio alginolyticus* in Sediment Samples of River and Coastal Areas of Bangladesh. Banglad J Microbiol. 29,1-6
24. E. H. Kampelmacher, Lucretia M. van Noorle Jansen, DAA Mossel, Frieda J. Groen. 1972. A Survey of the Occurrence of *Vibrio parahemolyticus* and *V. alginolyticus* on Mussels and Oysters and in Estuarine Water in the Netherlands. J. appl. Bact. 35,431-438
25. Hamza Eid, Zainab Soliman, Al-Shaimaa Hanafy. 2015. Prevalence and Molecular Characterization of Vibrio Spp. In Fish Shellfish from Port Said Coastal Area. SCVMJ, XX. 20, 291-302
26. Selena Lam, Edmund Monteiro. 1981. Unusual Vibrio Species found in Diarrhoeal Stools. Singapore Med J. 22, 259-261