J. Fd Hyg. Safety 17(3), 152–156 (2002)

시판 수산물 중 장염비브리오균의 분포와 분리균주의 혈청학적 특성

함희진† · 진영희 · 정윤태
서울시 보건환경연구원

Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in Fishery products, Sold at Garak Wholesale Market and Serological Characteristics of Isolated Strains

Hee-jin Ham†, Young-hee Jin, and Yun-tae Jung
Seoul Health & Environmental Research Institute, Seoul 138-701, Korea

Abstract – Totally, 742 fishery products were collected at Garak wholesale market in Seoul from Jan. to Dec. in 2001. *Vibrio parahaemolyticus* were 12.5%(93/742). The detection ratio of *V. parahaemolyticus* by month was reached the maximum in summer season (July to September). The highest ratio with 22.9% were abtained from molluscs, followed by shellfishes with 15.3%, and fishes and crustaceans with about 8%. The ratio of serotypable strains were 15.2%(10/66) and identified serotyps of *V. parahaemolyticus* were K24, K28, K34, K42, K47 and K53

Key words : *Vibrio parahaemolyticus*, fishery products

장염비브리오균은 어패류를 생식함으로써 야기되는 세균성 식중독균의 하나이고, 해수, 해저펄 및 각종 해산물에 서식하는 호염성의 그람음성 간균이며 특히, 하절기 어패류에 의한 식중독 원인의 대부분을 차지한다[1-2]. 1998년도 우리나라 식품의약품안전청이 집계한 식중독 발생건수 119건 가운데 장염비브리오균에 의한 식중독이 전체의 28.6%로 가장 높은 비중을 차지하였고[3], 일본에서는 식중독의 70%이상이 장염비브리오균에 오염된 해산물에 기인한다고 보고되어 있다[4]. 즉, 장염비브리오균은 생선회를 즐겨먹는 한국과 일본에서 여름철에 빈번히 발생하고 있는 실정이다. 어패류, 생선회, 해수 및 갯펄에서 이 균의 분포에 관해서는 우리나라 남해안과 서해안 및 북미, 일본, 인도네시아, 인도 그리고 베트남 등지에서 활발히 연구, 조사되고 있다[1-2, 4-5].

본 연구에서는 서울시내 대형수산도매시장에 집결되는 국내외 모든 지역의 수산물들을 대상으로 산지별, 월별 장염비브리오균의 검출현황을 조사하고, 분리한 균주들 가운데 이미 병원성이 밝혀졌던 균주들은 있는지, 또한 그 생화학적 성상은 어떤지를 살펴봄으로 시중 유통되는 수산물의 위생관리 및 식중독 예방을 위한 기초 자료를 제공코자 실시하였다.

재료 및 방법

시험 검체

시험 검체는 서울시 가락동에 소재하는 대형 도매시장인 가락농수산물시장에서 2001년 1월부터 12월까지 수거한 총 742건의 수산물(어류 192건, 패류 242건, 갑각류 212건 그리고 연체류 96건 등)을 대상으로 실시하였다. 각각의 검체는 polybag에 채취한 후 즉시 ice box에 보관하여 1시간 이내에 실험실로 운반, 채취하여 가검물로 취하였다.

균 분리와 동정

가검물을 균질기로 분쇄한 후 10 g을 취하여 미리 준비한 1% NaCl이 첨가된 Alkaline Peptone Water(APW, pH 8.4 ± 0.2) 90 ml에 넣어 37°C에서 18~24시간 배양하여 증균하였고, 증균된 배지에서 1 Loop를 떼어 Thiosulfate-Citrate-Bile-Sucrose agar(TCBS, Difco, USA)에 도말하여 37°C에서 18~24시간 배양한 후 Sucrose 음성반응을 나타내는 녹색 집락 중 *V. parahaemolyticus*로 의심되는 집락을 순수분리하여 Tryptic Soy agar(TSA, Difco, USA)에서 배양하였으며, 배양된 균쥬는 API 20E kit(Biomeriex, France), Easy 24E kit(KOMED, Korea)을 이용하여 동정하였는데, 시험 방법은 미국 F.D.A.의 Bacteriological Analytical Manual(1992)[6], A.P.H.A.의 Standard method (1993)[7] 및 식품공전(식품의약품안전청, 2000)의 일반시험법 중 미생물 시험법[8]에 준하여 시험하였다.

†Author to whom correspondence should be addressed.

Table 1. Monthly change of detection rates of *V. parahaemolyticus* by fishery products

Fishery products	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Total(%)
Fishes	0/0*	0/0	0/6	0/25	3/43	0/22	0/10	2/10	10/38	0/17	1/19	0/2	16/192(8.3)
Shellfishes	0/0	1/14	0/33	0/19	0/0	3/32	9/39	13/18	3/9	5/39	1/21	2/18	37/242(15.3)
Crustaceans	0/7	1/9	0/26	0/23	0/18	0/15	5/14	3/29	5/29	2/25	2/20	0/19	18/212(8.5)
Molluscs.	0/3	0/5	0/7	0/7	0/3	1/7	4/11	6/8	5/10	3/9	2/12	1/14	22/96(22.9)
Total(%)	0/10	2/28 (7.1)	0/72	0/74	3/53 (5.7)	4/79 (5.1)	18/75 (24.0)	24/50 (48.0)	23/86 (26.7)	10/90 (11.1)	6/72 (8.3)	3/53 (5.7)	93/742 (12.5)

*No. of positive sample/No. of tested sample

Table 2. Detection rates of *V. parahaemolyticus* by harvested area

Regions	Each places	P/T*	Percentages(%)
Kang-won	Dong-hae 0/5, Muk-ho 0/1, Sok-cho 8/58	8/64	12.5
Kyung-gi	Kang-hwa 1/3, An-san 0/1, Su-won 0/1, In-cheon 15/64	16/69	23.2
Kyung-nam	Nam-hae 0/9, Tong-young 2/33, Ma-san 2/47, Bu-san 3/40, Sa-cheon 2/7	9/136	6.6
Kyung-buk	Po-hang 1/8	1/3	33.3
Chun-nam	Kang-Jin 1/2, Ko-heung 5/41, Bul-kyo 1/9, Kwang-yang 0/1, Mok-po 1/13, Yeo-su 20/140, Wan-do 1/7, Geo-mun-do 0/1, Huk-san-do 1/1, Sin-an 1/8, Yeo-za-man 0/5	31/228	13.6
Chun-buk	Kun-san 8/46, Bu-ahn 2/22	10/68	14.7
Chung-nam	Seo-san 2/4, Seo-cheon 1/1, Seo-hae 0/3, An-myen-do 2/22, Tae-ahn 0/2	5/32	15.6
Che-ju	Je-ju 2/16, Chu-za-do 0/1	2/17	11.8
Imported	Norway 0/1, Newzealand 0/4, Taiwan 0/1, Rusia 0/4, USA 1/7, North-Pacific 2/8, North-Korea 1/1, Oh-Man 0/3, India 0/1, Indonesia 1/4, Japan 0/14, China 4/63, Canada 0/4, Tailand 0/1, Pakistan 0/1, Phillipine 2/6, Deep sea 0/1, Adjacent sea 0/1	11/125	8.8
Total		93/742	12.5

*No. of positive samples/No. of tested samples

항혈청을 이용한 K-antiserum 응집반응 시험

2% NaCl Brain Heart Infusion agar(BHI, Difco, USA)에 균을 접종하여 18-24시간 배양 후 균을 saline에 농후하게 풀어 균 부유액을 제조하였고, 이 균액을 slide glass에 도말한 후 K-antiserum(Denka seiken, Japan)을 동량 첨가하여 응집반응 유무로 항혈청시험을 실시하였다.

결과 및 고찰

월별 및 검체별 검출율

가락농수산물시장에서 수거한 총 742건의 수산물을 대상으로 장염비브리오균을 분리 동정한 결과 93개의 검체에서 검출되어 12.5%의 검출율을 보였다(Table 1). 이러한 결과는 이 등9)의 1995년 6.3%(23/364), 이 등[4]의 1996년 4.7%(50/1,065), 이 등[10]의 1997년 4.2%(66/1,577), Kumiko *et al.*[11]의 일본산 어패류에서 4.9%(71/1,445) 등의 결과에 비해 높은 검출율을 보였고, Wang[12]의 16.9%(22/130) 장염비브리오균 분리율 보고와 Hase *et al.*[13]의 일본 오사카 수산물도매시장에서 수거한 어패류에서 검출율 21.2%보다는 약간 낮은 경향이었고, Iida[14]의 어패류에서 검출율 39.1%보다는 매우 낮은 경향을 보였다.

장염비브리오균의 월별 검출율을 살펴보면, 2월 7.1%(2/

Table 3. Biochemical properties of 66 strains of *V. parahaemolyticus* isolated from fishery products

Item	Positive(%)	Item	Positive(%)	Item	Positive(%)
Gram staining	0	Raffinose	0	Potassium nitrate	66/66(100)
Arabitol	0	Rhamnose	3/66(4.6)	Urease	7/66(10.6)
Lactose	0	Inositol	1/66(1.5)	H_2S	0
Sucrose	2/66(3.0)	Maltose	66/66(100)	Lysine decarboxylase	65/66(98.5)
Mannitol	66/66(100)	Glucopyranoside	0	Arginine decarboxylase	0
Dulcitol	1/66(1.5)	Esculin	0	Ornithine decarboxylase	59/66(89.4)
Adonitol	0	ONPG	0	Glucose fermentation	66/66(100)
Sorbitol	0	Indole	66/66(100)	Oxidase	66/66(100)
Cellobiose	5/66(7.6)	Phenylalanine	0	Voges-Proskauer	0

28), 5월 5.7%(3/53), 6월 5.1%(4/79), 7월 24.0%(18/75), 8월 48.0%(24/50), 9월 26.7%(23/86), 10월 11.1%(10/90), 11월 8.3%(6/72) 그리고 12월 5.7%(3/53)의 검출율을 보였고 1, 3, 4월에는 검출되지 않았다. 이러한 결과는 윤과 안[1]의 1992년 7월 3.0%, 8월 3.8% 그리고 9월 2.2%, 이 등[9]의 1995년 10월 20.0%(19/95), 11월 3.0%(2/67) 그리고 12월 2.4%(2/83), 이 등[4]의 1996년 1월 0%, 2월 4.4%, 3월 1.3%, 4월 0%, 5월 1.2%, 6월 0%, 7월 9.1%, 8월 6.8%, 9월 3.4%, 10월 1.4%, 11월 2.5% 그리고 12월 0%등의 결과보다는 다소 높은 검출율을 나타내었고, 7-9월 사이의 검출율이 높은 점에서 일치하였고, 이는 하절기 장염비브리오균에 의한 식중독의 주요 원인균이 될 수 있음을 알 수 있었다(Table 1).

장염비브리오균의 검체별 검출율을 살펴보면, 어류가 8.3%(16/192), 패류 15.3%(37/242), 갑각류 8.5%(18/212) 그리고 연체류 22.9%(22/96)로서, 연체류가 어류, 패류 및 갑각류에 비해 장염비브리오균 검출율이 비교적 높게 나타났다. 이러한 결과는 윤과 안[1]의 1992년 패류 3.0%(41/1350), 이 등[9]의 1995년 어류 3.6%(4/110), 패류 11.7%(14/120), 갑각류 10.3%(4/39) 그리고 연체류 2.9%(1/34), 이 등[4]의 1996년 어류 3.5%(10/287), 패류 9.5%(28/119), 갑각류 3.4%(4/119) 그리고 연체류 5.4%(8/149), 이 등[10]의 1997년 어류 5.3%(22/417), 패류 6.1%(27/446), 갑각류 3.3%(7/213) 그리고 연체류 3.2%(7/216)의 보고들에서 패류가 어류 갑각류 및 연체류에 비해 장염비브리오균 분리율이 비교적 높게 나타난 것과는 다른 결과를 나타내었다. 한편, Baffone *et al.*[15]은 이탈리아 연안 어류에서 2.63%(3/114), 홍합에서 2.7%(1/37), 대합조개에서 2.0%(1/49)의 *V. parahaemolyticus* 검출율을 보고하였고, Andrew *et al.*[16]은 유럽 어류에서 11.0%(20/177)의 *V. parahaemolyticus* 검출율을 보고하였는데, 그리이스의 경우 14%(14/101), 포르투칼의 경우 35%(7/20)로 보고하였으며, Pavia *et al.*[17]은 Calabria 지역 패류에서 33.3%(18/54)의 *V. parahaemolyticus*가 분리되었다고 보고하였고, Yang-chih *et al.*[18]은 Taipei의 전통시장에서 수거한 어류에서 13.3%의 *V. parahaemolyticus*가 분리되었다고 보고하였는데 이들 결과들과 대체로 일치하였다.

수산물의 산지별 검출율

시험에 제공된 수산물의 산지별 장염비브리오균의 검출율은 Table 2에 나타내었다. 강원 지역이 12.5%(8/64)이었고, 경기지역은 23.2%(16/69), 경남 6.6%(9/136), 경북 33.3%(1/3), 전남 13.6%(31/228), 전북 14.7%(10/68), 충남 15.6%(5/32), 제주 11.8%(2/17) 그리고 수입수산물에서 8.8%(11/125)의 검출율을 보였다. 이는 이 등[4]의 1996년 경기 9.2%, 충남 9.9%, 전북 7.8%, 전남 4.1%, 경남 3.8%, 강원 2.1% 그리고 제주 2.1%, 이 등[10]의 1997년 경기 5.9%(7/119), 충남 7.5%(7/93), 전북 5.0%(6/121), 전남 3.9%(17/440), 경남 4.5%(11/244), 경북 5.3%(2/38), 강원 1.8%(3/168), 제주 5.1%(3/39) 그리고 수입수산물 4.6%(8/175)의 검출율과 비교해 볼 때, 전체적으로 검출율이 높았다. 한편, Wong *et al.*[19]은 대만에서 연구한 결과, 대만으로 수입된 수산물의 45.9%(315/686)에서 *Vibrio parahaemolyticus*가 검출되었다고 보고하였다.

분리된 균주의 생화학적 성상

분리된 93균주 가운데 66주를 대상으로 생화학적 성상을 시험한 결과, Glucose, Oxidase, Nitrate, Indole, Maltose 그리고 Mannitol은 각각 100%, Lysine 98.5%, Ornithine 89.4%, Urease 10.6%, Cellobiose 7.6%, Rhamnose 4.6%, Sucrose 3.0%, Dulcitol 1.5%, Inositol 1.5%의 양성율을 나타내었고, H2S, ONPG, Arginine, Phenylalanine, Adonitol, Arabitol, Lactose, Raffinose, Sorbitol, Voges-Proskauer 그리고 Esculin은 모두 음성이었다(Table 3). 이는 이 등[4]이 1996년 Glucose, Oxidase, Nitrate, Indole, Lysine, Ornithine 그리고 Mannitol 각각 100%, Cellobiose

Table 4. Serotype frequency of 66 strains of *V. parahaemolyticus* isolated from fishery products

Sorce of isolation	Serovars						Total
	K24	K28	K34	K42	K47	K53	
갑오징어(cuttle fish)*Sepia esculenta*	1			1			2
징거미(Large shrimp)*Heptacarpus geniculatus*		1					1
바지락살(Shortnecked clam)*Meretrix lusoria*			1				1
꽁치(Saury)*Cololabis saira*				1			1
대합(Clam)*Metrix lamacki*				1			1
오징어(Squid)*Todalodes pacificus*				1			1
한치알(Arrow squid)*Doryteuthis bleekeri*			1				1
홍합(Mussel)*Mytilis coruscus*					1	1	2
Total(15.2%=10/66)	1	1	2	4	1	1	10

91.7%, Maltose 98.3%, Rhamnose 23.3%, Urease 1.7%, H2S, ONPG, Arginine, Phenylalanine, Adonitol, Arabitol, Dulcitol, Inositol, Lactose, Raffinose, Sorbitol, Voges-Proskauer 그리고 Sucrose 각각 0%의 양성율을 보고한 것과 비교해 볼 때, 대체로 일치하였으나 Cellobiose, Maltose, Rhamnose, Urease 그리고 Sucrose에서 차이점을 발견할 수 있었다.

분리된 균주의 K-type 혈청형 분포

생화학적 성상의 특성을 비교 분석한 66주를 대상으로 분리 균주들의 K-type 혈청형 분포를 살펴본 결과, K24와 K28이 갑오징어와 징거미에서 하나씩, K47, K53는 홍합에서 각각 확인되었고, K34는 바지락살과 한치알에서 하나씩 2개가 확인되었고, K42는 갑오징어, 꽁치, 대합 그리고 오징어에서 각각 하나씩 4개가 확인 되는 등 모두 10개의 K-혈청형 장염비브리오균이 확인되어 15.2%(10/66)의 혈청형의 확인 동정율을 나타내었다(Table 4). 이는 이 등[9]이 1995년 수산물 유래 장염비브리오균에서 K3, K9, K17, K22, K24, K28, K51 혈청형들이 분리되었다고 보고하였고, 이 등[10]은 1997년 K5, K9, K17, K18, K22, K29, K31, K34, K42, K46, K51, K63 혈청형들이 분리되었다고 보고한 결과와 비교해 볼 때, 1995년의 결과[9]와는 K24, K28이 일치하였고, 1997년의 결과[10]와는 K34, K42가 일치하였을 뿐 대체적으로 일치하지 않아 수산물 유래 장염비브리오균의 혈청형이 매년 변하고 있음을 알 수 있었다.

국문요약

서울시 가락농수산물시장에서 2001년 1-12월 수거한 총 742건의 수산물에서 장염비브리오균을 분리 동정한 결과 12.5%(93/742)의 검출율을 보였고, 월별로는 2월 7.14%(2/28), 5월 5.7%(3/53), 6월 5.1%(4/79), 7월 24.0%(18/75), 8월 48.0%(24/50), 9월 26.7%(23/86), 10월 11.1%(10/90), 11월 8.3%(6/72), 12월 5.7%(3/53) 등, 7-9월 검출율이 높아 하절기 장염비브리오균에 의한 식중독의 주요 원인균이 될 수 있음을 알 수 있었으며, 검체별로는 어류 8.3%(16/192), 패류 15.3%(37/242), 갑각류 8.5%(18/212) 그리고 연체류 22.9%(22/96)로 나타나, 연체류가 분리율이 비교적 높았다. 또한, 지역별로는 경기 23.2%(16/69), 경남 6.6%(9/136), 경북 33.3%(1/3), 전남 13.6%(31/228), 전북 14.7%(10/68), 충남 15.6%(5/32), 제주 11.8%(2/17) 그리고 수입수산물 8.8%(11/125)의 검출율을 보였다. 93주 가운데 66주에서 K-type 혈청형을 살펴본 결과, K24, K28이 갑오징어와 징거미에서 하나씩, K47, K53는 홍합에서, K34는 바지락살과 한치알에서, K42는 갑오징어, 꽁치, 대합 그리고 오징어에서 각각 확인되어 15.2%(10/66)의 동정율을 나타내었다.

참고문헌

1. 윤한식, 안병용: 군산만에서 서식하는 패류의 장염비브리오균에 관한 분포연구. *Kor. J. Food Hygiene*, **7**, 137-142 (1992).
2. 박석기, 황영옥, 정지헌, 정윤태: 병원미생물 시험법. 서울시보건환경연구원, pp 194-2001 (2000).
3. 식품의약품안전청: 식중독 발생현황 및 대책. 식품공업

(KOR), **148**, 72-84 (1999).
4. 이재인, 오영희, 이영기, 조애란, 류승희, 심성원: 시판 어패류중 장염비브리오균(*Vibrio parahaemolyticus*)의 분포 및 항생제 감수성 특성. 서울특별시 보건환경연구원보, **32**, 26-36 (1996).
5. 김영만, 이명숙, 장동석: 생선회에 오염된 장염비브리오균에 미치는 저장온도의 영향. *Bull. Korean Fish. Soc*., **19**, 136-140 (1986).
6. Food and Drug Administration: Bacteriological Analytical Manual, 7th ed., AOAC, *International*., pp 141-147 (1992).
7. Marshall, R.T.: Standard methods for the examination of dairy products, Washington, *American Public Health Association*., pp 153-162 (1993).
8. 식품의약품 안전청: 식품공전. 문영사, pp 78-111, (2000).
9. 이향, 김수진, 홍채규, 홍범석, 이강문: 동절기중 시판수산물에서 분리되는 *Vibrio* 속균. 서울특별시 보건환경연구원보, **31**, 18-26 (1995).
10. 이재인, 오영희, 홍채규, 이영기, 류승희, 김성원, 이정자: 시판 어패류중 장염비브리오균(*Vibrio parahaemolyticus*)의 병원성 특성에 관한 연구. 서울특별시 보건환경연구원보, **33**, 32-42 (1997).
11. Kumiko, K., Hiroshi, U., Machiko, J., Teruyoshi, A., Mie I., Takeshi, I. and Sumio, Y.: Results of bacterial contamination of commercial raw fish and shellfish in Tama, Tokyo (1986-1996). *Jpn. J. Food Microbiol*., **15**, 161-165 (1998).
12. Wang, J.Y.: 大陸 魚佩類 中 腸炎 Vibrio 菌 分離. *J. Food and Drug Analysis*, **4**, 239-246, (1996).
13. Hase, A., Kitase, T. and Yasukawa, A.: *Vibrio parahaemolyticus* contamination in raw seafoods and seafood shops and evaluation of the polymerase chain reaction(PCR) method for the detection of this microorganism. *Annual Report of Osaka Coty Institute of Public Health and Environmental Science*, **59**, 89-93 (1997).
14. Iida, Tetsuya: *Vibrio Parahaemolyticus*. *臨床營養(JPN)*, **41**, 228-232, (2000).
15. Baffone, W., Pianetti, A., Bruscolini, F., Barbieri, E. and Citterio, B.: Occurrence and expression of virulence-related properties of *Vibrio* species isolated from widely consumed seafood products. *International J. Food Microbiol*., **54**, 9-18 (2000).
16. Andrew, R.D., Christopher, C., Dominique, J., George, J.E.N. and Roy, M.K.: Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control*, **12**, 67-71 (2001).
17. Pavia, M., Tanferna, P. and Nobile, C.G.A.: La contaminatione microbica dei molluschi eduli lamellibranchi in calabria. *L'Iggiene Moderna*, **110**, 569-578 (1998).
18. Yang-chih, S.D., Chao-Ling, L., Shu-shen, H. and Jan-Yi, W. : Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from sashimi in the Taipei. *J. Food and Drug Analysis*, **5**, 225-232 (1997).
19. Wong, H.C., Chen, M.C., Liu, S.H. and Liu, D.P.: Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *International J. Food Microbiology*, **52**, 181-188, (1999).