
박사학위논문

Vibrio cholerae non-01과
*Vibrio mimicus*의 생태학적 연구

제주대학교 대학원

식품공학과



1994년 12월

Vibrio cholerae non-01과
*Vibrio mimicus*의 생태학적 연구

지도교수 송 대 진

장 수 현

이 논문을 공학박사학위 논문으로 제출함

1994년 12월

장수현의 공학박사학위 논문을 인준함



심사위원장
위 원

강 영 주
류 홍 수

위 원

김 영

위 원

고 영 환

위 원

송 대 진




제주대학교 대학원

1994년 12월

Ecological Study of Vibrio cholerae
non-01 and *Vibrio mimicus*

Soo-Hyun Chang

(Supervised by Professor Dae-Jin Song)

 제주대학교 중앙도서관
A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1994. 12

목 차

Summary	1
서 론	3
재료 및 방법	7
1. 균의 분포 조사	7
1) 시료 채취 장소	7
2) 시료 채취	7
3) 수온, 염도 및 conductivity 측정	7
4) COD 측정	9
5) pH 측정	9
6) 균수 측정 및 분리 동정	9
2. 염도와 수온의 변화에 따른 균의 적응력 시험	13
1) 사용 균주	13
2) 실험에 사용한 물의 수질 검사	13
3) 염도 측정	16
4) 염도와 수온의 변화에 따른 균수의 변화 측정	16
3. 어육 중에서 균의 증식	16
1) 사용 균주	16
2) 어육 균질액의 제조	16
3) 균의 접종과 배양	17
결과 및 고찰	18
1. <i>V. cholerae</i> non-O1과 <i>V. mimicus</i> 의 분포	18
1) 시료 채취 지점 별 환경 조건과 검출 균수	18

2) 물의 검출률	25
3) 뿔의 검출률	25
4) 물의 염도와 검출률의 관계	28
5) 물과 뿔의 검출률 비교	30
2. 염도와 수온의 변화에 따른 군수 변화	30
1) 강물에서 수온의 변화에 따른 군수 변화	30
2) 기수에서 수온의 변화에 따른 군수 변화	34
3) 해수에서 수온의 변화에 따른 군수 변화	37
3. 어육에서의 균 증식	40
1) 방어육에서의 균 증식	40
2) 조피블락 육에서의 균 증식	43
적 요	47
참고문헌	49



SUMMARY

To study ecological properties of *Vibrio cholerae* non-O1 and *Vibrio mimicus* which have been described as new food poisoning bacteria recently, the influence of factors such as temperature, salinity, pH and chemical oxygen demand(COD) on detection rate and density of these bacteria were evaluated. Fifty four seawater samples and 49 bottom deposit samples from estuary of Kum river from March 26th, 1993 to February 22nd, 1994 were used for this study. The detection rate of *V. cholerae* non-O1 were 16.7% for seawater and 10.2% for bottom deposit, respectively. The total detection rate of *V. cholerae* non-O1 (11.7%) was a little higher than *V. mimicus*(10.7%). Both *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* were mainly detected in estuary water of which showed temperature 24 ℃ above and salinity 10‰ below. These bacteria were also detected in bottom deposit on January when the water temperature was 3.5 ℃. From these results, we supposed that temperature, salinity and organic material were important factors to growth of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus*. *V. cholerae* non-O1 might be grown better than *V. mimicus* under the fluctuating aquatic environmental condition such as salinity.

To establish remedy for food poisoning outbreak by these bacteria, the adaptability and population changes were examined in fresh water, brackish water(10‰ NaCl) and seawater(30‰ NaCl). Survivals of both

species significantly drop with water temperature were risen regardless of water types employed. However, survival times was the shortest in fresh water(6-10 days) and longest survival period(10-16 days) at 4 ℃. In case of brackish water, the longest survival period(10-16 days) were checked at 15 ℃ and population were varied only in small numbers at that temperature. No significant difference in survival period for both bacteria was observed between seawater samples at different temperature but *V. mimicus* survived about 5-6 days longer than *V. cholerae* non-O1 in brackish water. In conclusion, *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* were not likely to be recovered in normal fresh water, brackish water and seawater and both biological and physicochemical factors could affect the survival of these species.

When these bacteria inoculated in fresh meat homogenate(1% NaCl water 4 : meat 1) of a yellow tail fish and a young rockfish, and incubated at 35 ℃. Each of these bacteria was reached to cell number possibly causing food poisoning after 8 hours when these bacteria mixed culture of them also showed the same results as inoculated solely.

서 론

Vibrio 속은 담수에서 해수까지 넓은 수역에서 검출되는 그람 음성의 종속영양세균으로서 1854년 이탈리아의 Pacini가 콜레라 환자의 분변으로부터 원인균을 분리, *Vibrio cholerae*라고 명명한 이래, 1970년대 중반까지만 하여도 사람에게 질병을 일으키는 *Vibrio* 속은 콜레라의 원인균인 *Vibrio cholerae*와 생선회의 식중독 원인균인 *Vibrio parahaemolyticus*(장염 비브리오) 2종 뿐이었다(三好, 1989). 그러나 최근 20년 사이에 거듭된 연구의 진전에 따라 차례 차례로 새로운 종의 *Vibrio* 속이 발견되어 1984년 경에는 20종의 *Vibrio*가 보고되었고(Krieg와 Holt, 1984), Janda 등(1988)의 발표에서는 34종의 *Vibrio*가 보고되었으나, 本田 등(1991)에 의하면 44종의 *Vibrio*가 보고된 것으로 알려져 있고, 현재에도 그 수는 증가하고 있는 추세이다. 이 중에서 현재 사람에게 질병을 일으키는 *Vibrio* 속은 12종에 달하며, 특히 *V. cholerae* non-O1, *V. mimicus*, *V. fluvialis* 및 *V. parahaemolyticus* 4종을 일본 후생성에서 식중독 원인균으로 지정하였다(三好, 1989).

Vibrio 속은 기수, 해수 중에 널리 분포되어 있으며 이들 균에 오염된 해수와 피부상처 접촉을 통한 감염(창상 감염)과 이 균에 오염된 어패류의 섭취(경구 감염)에 의하여 일어난다고 알려져 있다. 경구 감염에서는, 세균이 소화관 내에 정착하고 거기서 병원 인자를 생산하여 위장염을 일으키는 경우가 대부분이다. 그러나 숙주의 건강 상태에 따라서는 세균이 소화관 벽을 파괴하고, 혈액, 림프액 등에 침입하여 패혈증을 일으키는 경우도 있다. *Vibrio* 속 세균수는 수온과 관련이 있으며, 수온이 낮은 겨울에는 그 수가

적으며 수온이 상승하는 여름철에 증가한다. 따라서 어떤 종의 *Vibrio*라도 그 감염은 여름철에 많이 발생하는 것으로 알려져 있다.

V. cholerae non-O1(Non-agglutinable *V. cholerae*, NAG-Vibrio)의 생화학적 특징은 콜레라균과 같지만 콜레라균의 균체항원 O1에 대하여 반응을 일으키지 않는 콜레라균을 지칭(Smith, 1979)하는 것으로 1970년 Colwell 등이 처음 분리하였다. 이 균은 자연 환경의 담수, 기수 및 해수 어디에서나 검출되는 수생세균(Colwell 등, 1977; Kaper 등, 1979; Kaysner 등, 1987; Twedt 등, 1981; Garay 등, 1985; Tison 등, 1986; Arnau 등, 1988)으로 콜레라와 비슷한 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(McIntyre 등, 1965; Spira 등, 1978; Kaper 등, 1979; Blake 등, 1980). 그러나 콜레라보다 사망률이 현저히 낮고 발열, 복통 증상에서 차이가 있으며 주증상은 위장염으로 인한 심한 설사이다(McIntyre 등, 1965; Aldova 등, 1968; El-Shawi와 Thewaini, 1969; Dut 등, 1971; Dakin 등, 1974; Spira 등, 1978; Blake 등, 1980; Shehabi 등, 1980; Morris와 Black, 1985). 또 최근에는 어류에도 질병을 일으킨다는 보고가 있어 그 중요성이 강조되고 있다(Yamanoi 등, 1980; Gyobu 등, 1984).

V. cholerae non-O1이 생산하는 독소로는 cholerae toxin-like enterotoxin (Craig 등, 1981; Yamamoto 등, 1983), *El Tor* hemolysin (Ichinose 등, 1987; Yamamoto 등, 1984; Yamamoto 등, 1986), kanagawa hemolysin (Honda 등, 1985; Yoh 등, 1986), shiga-like toxin (O'Brien 등, 1984), heat stable-like enterotoxin (NAG-ST) (Nishibuchi와 Seidler, 1983; Honda 등, 1985; Arita 등, 1986) 등이 밝혀져 있으나, 사람에게 위장염을 일으키는 원리는 아직 확실히 밝혀져 있지 않다(Amitral 등, 1992). *V. cholerae* non-O1

에 의한 감염은 경구 감염이 주 감염 경로이나, 때때로 창상 감염이 원인이 되는 경우도 있다고 알려져 있다(Bonner 등, 1983; Hoge 등, 1989).

*V. mimicus*는 1981년 Davis 등에 의하여 제안된 신종으로 이전에는 *V. cholerae*로 분류되었지만 sucrose 분해성이 없다는 점이 *V. cholerae*와 다르다. 이 균은 *V. cholerae* non-O1과 세균학적 특성이 매우 유사하여 발견 초기에는 많은 혼동이 있었고, Iguchi 등(1989)은 lipopolysaccharide 부분의 당 조성을 기초로 하여 화학적 분류법으로 검토한 결과 두 균이 유사성이 있다고 보고하였지만, 계속된 연구 결과, *V. mimicus*는 sucrose 분해 음성, Voges-Proskauer(포도당으로부터 acetylmethylcarbinol 생성) test 음성으로 *V. cholerae* non-O1과는 명백히 구분된다고 보고된 바 있다(Davis 등, 1981; Tacket 등, 1982; Baumann 등, 1984).

*V. mimicus*가 생산하는 독소로는 cholerae toxin(Spira와 Fedorka-Cray, 1984; Chowdhury 등, 1987a), cholerae toxin-related enterotoxin(Dotevall 등, 1985), *Escherichia coli* heat-labile or heat-stable enterotoxin-like toxin (Nishibuchi 와 Seidler, 1983; Gyobu 등, 1988) 등이 있으며, 감염 증상으로는 위장염에 의한 설사가 주 증상으로 *V. cholerae* non-O1과 매우 유사하다 (Shandera 등, 1983; Sanyal 등, 1983; Chowdhury 등, 1987b). *V. mimicus*는 수계에 널리 분포되어 있으므로 수산물과 밀접한 관련이 있으며 (Sasagawa 등, 1980; Davis 등, 1981; Muramatsu 등, 1981; Kodama 등, 1984; Chowdhury 등, 1985; 1986a; 1986b; 1989) 특히, 여름철에 이 균에 오염된 생굴이나 해산물 등을 섭취함으로써 장염을 일으킨다고 알려져 있고, 미국, 일본, 방글라데시, 캐나다 및 뉴질랜드 등과 같은 여러 나라의 임상 환자로부터 이 균이 분리되었다(Ogg 등, 1989; Kaper 등, 1986; Kodama 등,

1984; Davis 등, 1981). *V. mimicus*에 오염된 해산물을 생식한 후 위장염을 일으킨 사례는 일본에서도 보고되었고(Kodama 등, 1984), 방글라데시에서는 담수산 참새우에서 균을 분리하였다는 보고도 있다(Kaper 등, 1986; Sanyal 등, 1984).

이와 같은 보고들로 볼 때, *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*는 환경 조건만 맞으면 세계 어느 지역에서나 서식하는 것으로 볼 수 있으며, 우리나라에서도 이 균들의 분포가 넓게 되어 있을 것으로 추정된다. 특히 생선회나 패류를 생식하는 우리나라에서는 이들 균의 분포나 환경 조건에 따른 검출률 및 생태에 대한 연구가 시급한 실정이나 아직 이들에 대한 연구가 부족한 실정이다. 그러므로 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 생태학적 특징을 구명하여 수산 식품의 위생 대책 수립에 필요한 자료를 얻고자 자연 환경에서의 분포, 수질 조건의 변화에 따른 균수의 증감 및 신선한 어육에서의 증식도를 실험하였다. 분포는 이들 균이 검출된 적이 있고 다른 지역보다 검출률이 높으며 저도호염성 *Vibrio*가 서식하기 좋은 조건을 갖추었다고 알려진 금강 하구(송 등, 1985; 장 등, 1993; 김 등, 1987)를 대상으로 하였고, 수질 조건의 변화에 따른 이들 균의 적응력을 알아보기 위하여는 자연 상태의 바닷물과 강물에 균을 접종하여 담수, 기수, 해수에서 균수 변화를 측정하였으며, 또한 이 균들이 신선한 어육에 오염되었을 때의 증식 속도를 밝혔기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 균의 분포 조사

1) 시료 채취 장소

V. cholerae non-O1 와 *V. mimicus* 분포 시험에 제공된 시료는 1993년 3월 26일부터 1994년 2월 22일 사이에 금강 하구언 상류의 2개 지점과 하구언에서 오식도 앞바다 까지의 3개 지점에서 군산대학교 실습선 405호를 이용하여 채취한 것이었다(Fig. 1).

2) 시료 채취

시료 채취는 매월 만조 때에 실시하였으며 시험에 사용된 물은 표층 1m 깊이의 것을 채수기로 채취하였고, 뿔은 동일 장소에서 채니기로 채취하였으며, 물 54개, 뿔 49개, 총 103개 시료를 채취하여 실험에 사용하였다. 채취된 각 시료는 250ml 용량의 멸균 광구병에 담아 실험실로 즉시 운반하여 중균배지에 접종하였다.

3) 수온, 염도 및 conductivity 측정

수온과 염도는 현장에서 각 시료 채취 지점의 수심 1m 부분을 temperature-salinity-conductivity meter(USYSI Co., SCT-33, USA)로 측정하였다.

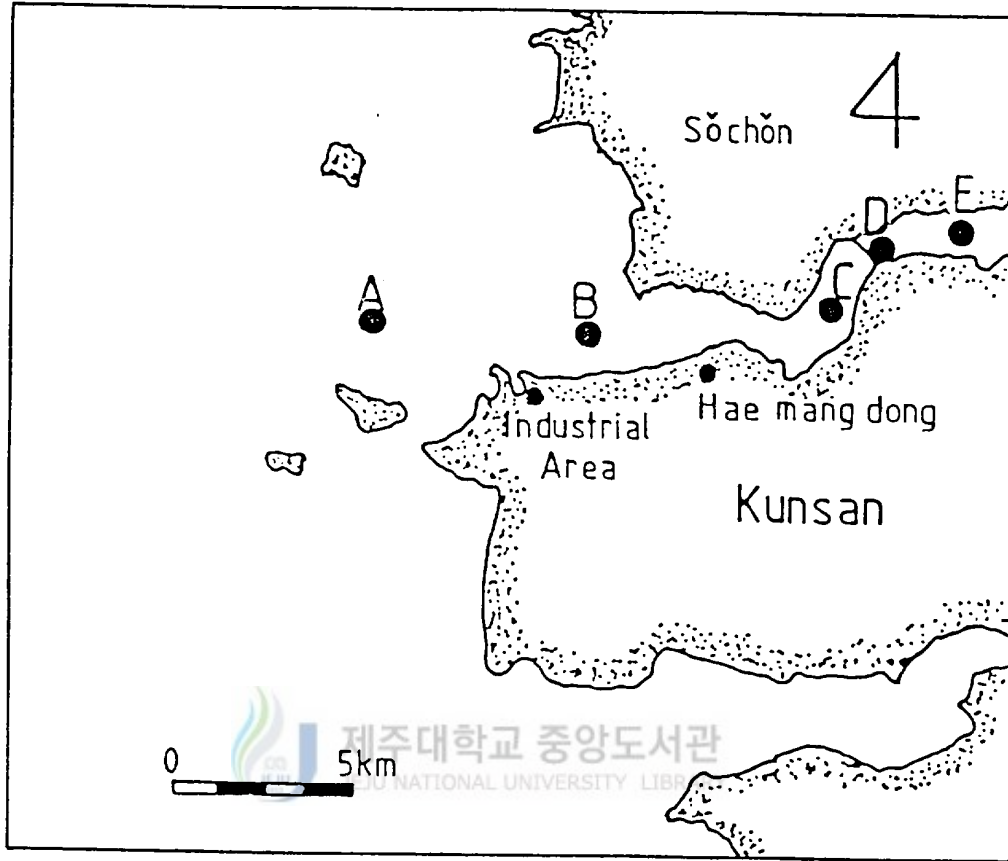


Fig. 1. Location of sampling stations in estuary of Kum river.

4) Chemical oxygen demand(COD) 측정

A.O.A.C.(1990) 방법에 준하여 실시하였다.

5) pH 측정

시료의 pH는 현장에서 pH Boy-C1(Shindengen co., SU-08, Japan)으로 측정하였다.

6) 균수 측정 및 분리 동정

균의 분리 동정 및 균수 검사는 Fig. 2와 같이 실시하였다. 빨과 물은 모두 원시료를 10^{-1} - 10^{-6} 까지 희석하여 1% NaCl을 가한 alkaline peptone수에 접종하고 37 ± 1 °C에서 16-18시간 증균배양하였으며 균수는 최확수법으로 산정하였다.

증균배지에서 양성으로 나타난 시험관의 균액은 TCBS(thiosulfate citrate bile salts sucrose) 평판배지(Difco, Co., USA)에 획선배양하여 전형적인 노란색과 녹색 집락을 선정하여 분리하고(Fig. 3), 분리된 균을 TSI (triple sugar iron) 반사면배지(Difco, Co., USA)에 접종하여 H₂S 가스 생성 여부를 확인하였다.

TSI 반사면배지에서 가스 생성이 없는 균은 Harrigan과 McCance(1976) 법에 의하여 protease와 hemolysin 생성 유무를 확인하고, protease와 hemolysin 양성인 균주(Fig. 4)만을 선정하였다.

선정된 균은 미국 FDA 표준 방법 (1992)에 준하여 동정하였고 이와 같은 실험에서 동정된 균을 토대로 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 양성 시험관 수를 구하여 MPN(most probable number)을 산출하였다.

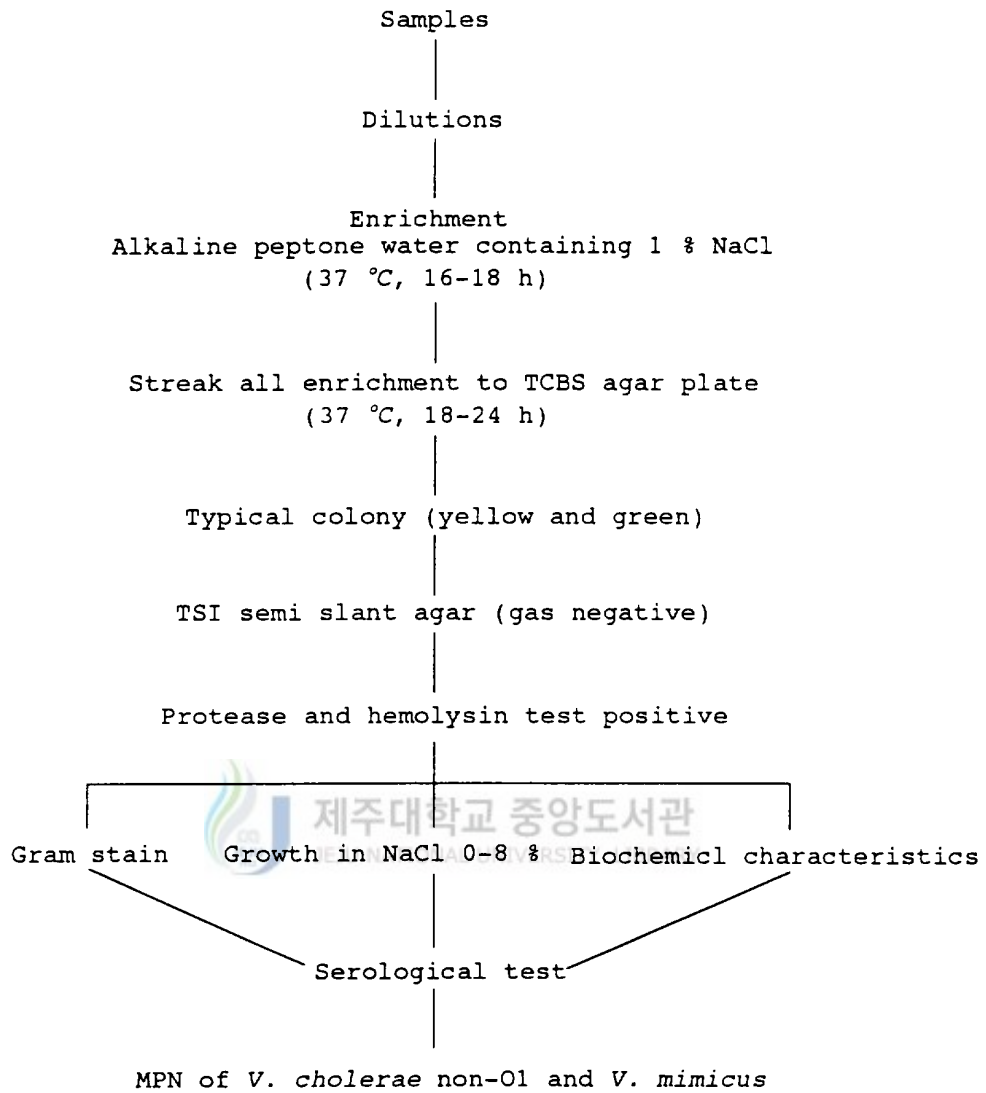


Fig. 2. Schematic diagram for isolation of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus*.

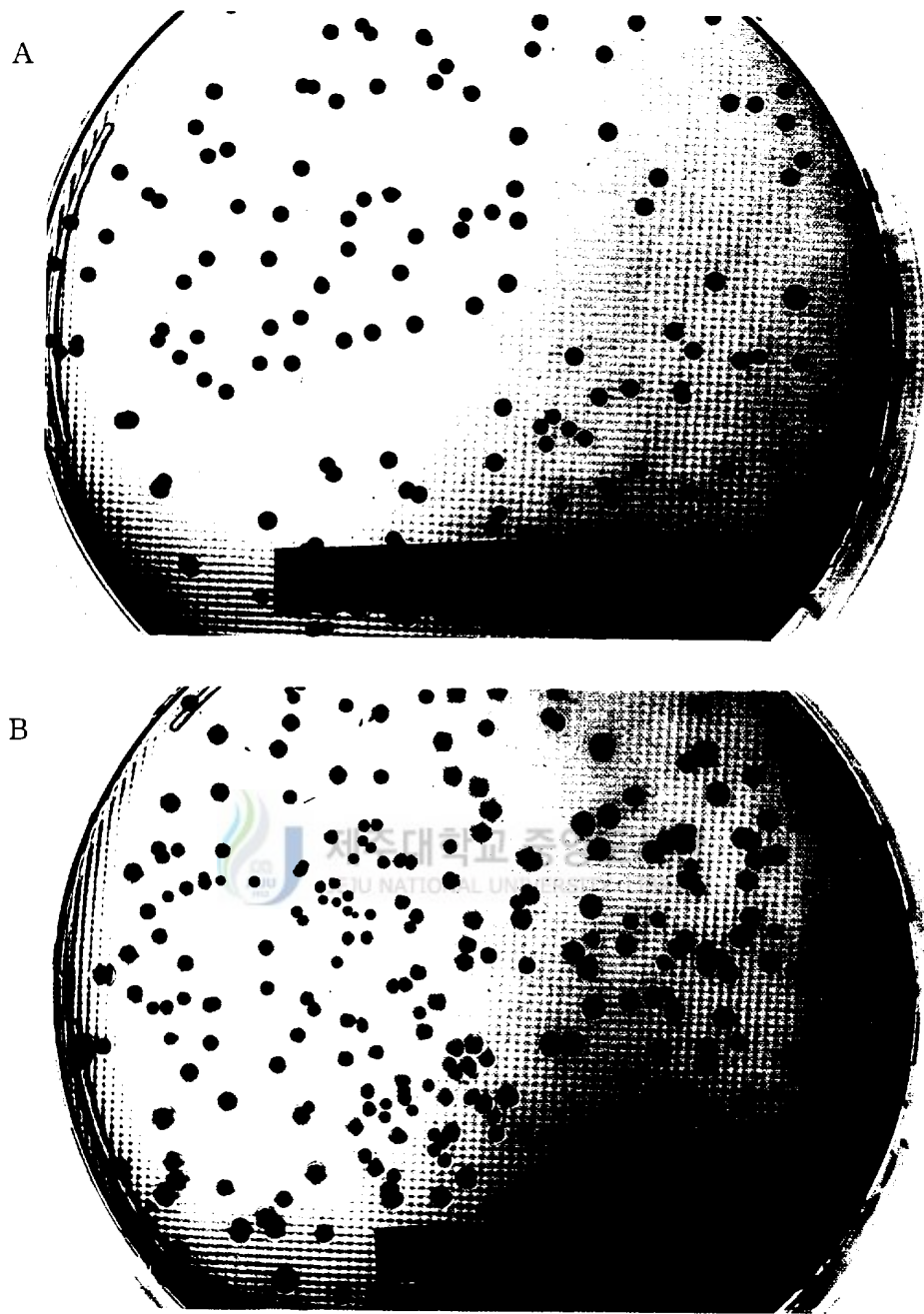
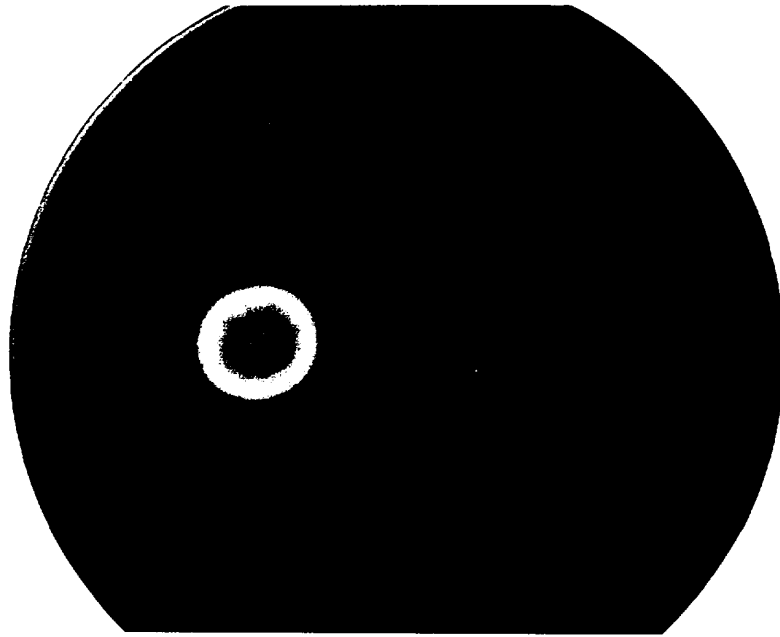


Fig. 3. Typical colony of *V. cholerae* non-O1 (A) and *V. mimicus* (B) on TCBS agar plate.

A



B



Fig. 4. Hemolysin activity of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* on blood agar plate (A) and protease activity of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* (B) on skim milk agar plate.

2. 염도와 수온의 변화에 따른 균의 적응력 실험

1) 사용 균주

V. cholerae non-O1 과 *V. mimicus*는 식중독 환자에서 분리된 균주로 日本 岡山大學 藥學部 環境衛生化學教室 (岡山市, 日本)로부터 분양 받아 사용하였다.

2) 실험에 사용한 물의 수질 검사

실험에 사용된 담수는 1994년 8월 8일 낙동강 하류의 물금 취수장 부근의 물을 채취하여 사용하였고, 해수는 1994년 8월 9일 경상남도 기장군 앞바다에서 채수하여 사용하였다. 담수 및 해수는 사용전 pore size 0.8 μ m의 membrane filter로 여과하였고, TCBS 평판배양에서 green 및 yellow colony 가 나오지 않는 것을 확인하였다. 기수는 여과한 담수와 해수를 염도가 10 ‰ 되도록 섞어서 사용하였다.

실험에 사용된 담수 및 해수에 대한 수질검사는 음용수의 수질 기준 등에 관한 규칙의 음용수의 수질 검사 방법(식품위생관계법규, 1994)에 준하여 실시하였으며 그 결과는 Table 1 및 2와 같다. 담수는 14항목을 검사한 결과, 가뭄으로 인하여 pH가 8.0 부근으로 다소 높게 나타났으며, BOD도 높은 편이었다. 그리고 대장균군의 MPN이 1,200/100ml로 높은 편이었다. 그러나 용존산소 및 여러 가지 중금속 함량 등 검사 항목 모두가 3급수 기준에 적합하였다(Table 1). 해수는 19항목을 검사한 결과, pH가 7.9로 예상보다 다소 낮았으며, COD는 조금 높게 나타났으나, 검사한 항목 모두가 2급수 기준치에 적합하였다(Table 2). 평상시의 강하구 물은 3급수 정도이고 연안 해수는

Table 1. Analytical results of water quality used as a fresh water

Tested item	Criteria of third grade	Results
pH	6.5-8.5	8.0
BOD(mg/l)	below 6	5.2
DO (mg/l)	above 5	11.9
SS (mg/l)	below 25	10.0
ABS (mg/l)	below 0.5	ND ^a
Cr (mg/l)	below 0.05	ND
As (mg/l)	below 0.05	ND
Cd (mg/l)	below 0.01	ND
Pb (mg/l)	below 0.1	ND
CN(mg/l)	ND	ND
Organic phosphate (mg/l)	ND	ND
Hg (mg/l)	ND	ND
PCB (mg/l)	ND	ND
Total coliform (MPN/100 ml)	below 5,000	1,200

a. Not detected.

Table 2. Analytical results of water quality used as a seawater

Tested item	Criteria of second grade	Results
pH	6.5-8.5	7.9
COD(mg/l)	below 2	1.9
SS (mg/l)	below 25	1.4
Distillation residue (mg/l)	ND	ND
Total nitrogen (mg/l) ^a	below 0.1	0.123
Total phosphate (mg/l) ^b	below 0.015	0.013
Cr (mg/l)	below 0.05	ND ^c
As (mg/l)	below 0.05	ND
Cd (mg/l)	below 0.01	ND
Pb (mg/l)	below 0.1	ND
Cu (mg/l)	below 0.02	ND
Zn (mg/l)	below 0.1	ND
CN(mg/l)	ND	ND
Organic phosphate (mg/l)	ND	ND
Hg (mg/l)	ND	ND
PCB (mg/l)	ND	ND
Total coliform (MPN/100 ml)	below 1,000	ND
Conductivity (μ MHOS)		45,000
Salinity (‰)		30.0

a, $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_2^--\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$; b, $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$; c, Not detected

2급수 정도이므로 담수와 해수 모두 시험에 사용하는 데 적합하였다.

3) 염도 측정

1-3)과 같은 salinity meter로 측정하였다.

4) 염도와 수온의 변화에 따른 균수 변화 측정

V. cholerae non-O1과 *V. mimicus*를 BHI(brain heart infusion) 배지 (Difco, Co., USA)에 18 시간 前培養한 후 원심 분리하여 균체를 모아 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.5, NaCl 1%)로 2회 씻은 다음 PBS 10ml에 현탁하였다. 이 현탁액 일정량을 각각 담수, 기수 및 해수에 접종하여 4, 15 및 25 ℃에서 진탕배양하면서 시간에 따른 균수의 변화를 측정하였다. 균수의 측정은 각 배양액을 10 배수로 단계 희석한 후 TCBS 평판배지를 이용하여 표면도말법으로 측정하였다.

3. 어육 중에서 균의 증식



1) 사용 균주

2-1)과 동일한 균주를 사용하였다.

2) 어육 균질액의 제조

어육에 있어서 두 균의 증식에 관한 실험은 김 등(1988)의 방법을 참고로 하였다. 즉 최근 생선회로 많이 사용되는 대표적인 적색육 어종인 방어 (yellow tail, *Seriola guinueradita*)와 백색육 어종인 조피볼락(young

rockfish, *Sebastes schlegeli*)을 광안리 활어시장에서 수조에 보관 중인 활어를 구입하여 혈액을 제거한 후 유효잔류염소량이 100ppm인 소독수에 10분간 침지하였다. 소독된 어체 표면의 물기를 완전히 제거하고, 어피를 벗긴 후 어육을 무균적으로 채취하였다. 이렇게 채취한 무균육을 1% 식염수(pH 7.5)와 섞어 (육 1 : 1% 식염수 4) 멸균한 waring blender(WPDD, Co., USA)로 균질화하여(10,000rpm) 사용하였다.

3) 균의 접종과 배양

BHI 배지에서 18시간 배양된 균을 10^{-3} 으로 희석하고 이 균액을 어육 균질액에 1% 되게 접종한 후 waring blender에 보관하면서 35℃에서 24시간 동안 균수 변화를 측정하였다.

균수 측정은 2-4시간 간격으로 하였으며 시료를 채취하기 직전 waring blender 내에서 30초간 균질화(10,000rpm) 시켰다.



결과 및 고찰

1. *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 분포

1) 시료 채취 지점별 환경 조건과 검출 균수

시료 채취 지점별 환경 조건과 검출 균수는 Table 3-7과 같다.

A 지점은 8월에 수온이 24 ℃, pH가 7.8, 염도가 21.5‰, COD가 1.03ppm일 때 해수에서 *V. cholerae* non-O1의 MPN이 6.2/100ml로 나타났고 *V. mimicus*는 검출되지 않았다. *V. cholerae* non-O1이 검출되지 않은 다른 달에 비하여 수온과 COD가 높은 편이었고 염도나 pH는 낮은 편이었다(Table 3).

B 지점은 8월에 수온이 24 ℃, pH가 7.7, 염도가 16.5‰, COD가 1.32ppm일 때 해수에서 *V. cholerae* non-O1의 MPN이 9/100ml이었고 뱀은 110/100ml로 나타났다. 이 때 뱀의 pH는 6.7로 다른 달에 비하여 낮은 편이었다(Table 4).

C 지점은 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 검출률과 균수가 가장 많이 나타났으며 뱀에서도 다른 지역보다 균의 오염도가 높았다. 해수에서 7, 9, 10월에 *V. cholerae* non-O1의 MPN이 3-6.2/100ml로 나타났으며, 균이 검출될 때 수온은 24 ℃ 이상이었고 pH는 7.5-7.7, 염도는 5.7-17‰, COD는 1.10-2.37ppm이었다. *V. mimicus*는 7, 8, 9월의 해수에서 MPN이 3-230/100ml이었고, 균이 검출될 때 수온은 24 ℃ 이상, pH는 7.5-8.1, 염도는 3.5-17‰, COD는 1.12-2.19ppm으로 *V. cholerae* non-O1이 검출될 때의 환경 조건과 유사하였다(Table 5). C 지점은 A, B 지점보다 COD가 높은 편

Table 3. Environmental conditions and MPN of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* from station A in estuary of Kum river

Date	Time	Temp. (°C)	pH		V.C. ^c (MPN/100 ml)		V.M. ^d (MPN/100 ml)		Salinity (‰)	Conductivity (× 100, μMHOS)	COD (ppm)
			SW ^a	BD ^b	SW	BD	SW	BD			
93. 3. 26	16:10	8.0	8.2	7.1	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	23.0	230	e
4. 17	12:30	10.2	8.1	8.0	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	30.0	330	0.60
5. 22	15:45	18.0	8.1	7.8	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	24.3	380	0.30
6. 19	15:37	21.0	8.0	7.5	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	25.9	368	0.94
7. 31	15:39	24.3	8.2	7.3	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	23.2	370	0.91
8. 17	16:43	24.0	7.8	7.8	6.2	< 30.0	< 3.0	< 30.0	21.5	332	1.03
9. 10	09:50	26.0	8.3	7.8	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	23.3	371	1.29
10. 28	15:39	24.0	8.2	7.9	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	23.2	366	0.17
12. 7	10:50	8.0	8.0	7.9	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	23.2	301	-
94. 1. 18	15:10	4.9	8.2	8.4	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	22.2	221	1.01
2. 22	13:40	4.5	8.3	7.6	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	29.4	289	0.77

a, Seawater; b, Bottom deposit; c, *V. cholerae* non-O1; d, *V. mimicus*; e, Not tested.

Table 4. Environmental conditions and MPN of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* from station B in estuary of Kum river

Date	Time	Temp. (°C)	pH		V.C. ^c (MPN/100 ml)		V.M. ^d (MPN/100 ml)		Salinity (‰)	Conductivity (× 100, μ MHOS)	COD (ppm)
			SW ^a	BD ^b	SW	BD	SW	BD			
93. 3. 26	16:30	8.5	8.1	6.4	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	28.5	310	—
4. 17	12:45	13.0	8.3	8.1	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	26.0	310	—
5. 22	15:15	18.0	8.2	7.9	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	11.0	359	0.92
6. 19	16:05	22.1	8.0	7.7	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	21.9	333	1.60
7. 31	16:11	24.5	8.0	7.7	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	19.0	312	0.88
8. 17	17:21	24.0	7.7	6.7	9.0	110	< 3.0	< 30.0	16.5	256	1.32
9. 10	10:23	24.2	7.8	7.7	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	15.1	240	1.45
10. 28	16:13	24.0	8.1	8.1	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	22.5	350	0.66
12. 7	11:20	7.1	8.0	7.9	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	24.8	263	—
94. 1. 18	15:40	4.2	8.2	8.2	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	17.1	174	2.30
2. 22	14:00	4.5	8.4	7.5	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	17.2	172	1.09

a, Seawater; b, Bottom deposit; c, *V. cholerae* non-O1; d, *V. mimicus*; e, Not tested.

이었고 pH와 염도는 낮은 편이었으나 D, E 지점보다는 염도가 높은 편이었다.

C 지점의 뺨에서 *V. cholerae* non-O1이 1월에, *V. mimicus*가 8, 9, 1월에 양성으로 나타났으며, 매우 특이한 것은 1월에 수온이 3.5℃일 때 두 균이 모두 검출된 것이다(Table 5). 이와 같은 결과는 이들 균이 뺨에서 월동하고 있다는 것을 증명하는 것으로, *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 생태 연구에 중요한 자료라고 사료된다. 병원성 *Vibrio* 균의 월동에 관한 연구는 장과 김 (1978)이 장염 *Vibrio*가 뺨에서 월동한다고 보고한 것 이외에는 아직 이에 대한 연구가 부족한 실정이므로 앞으로 많은 연구가 요구된다.

D 지점에서 *V. cholerae* non-O1은 10월에 해수에서만 MPN이 9.1/100ml로 나타났으며, 이 때 수온은 24℃, pH는 7.9, 염도는 6.5‰, COD는 2.13ppm이었다. 한편 *V. mimicus*는 7월의 해수에서 MPN이 3/100ml이었고, 8, 9월의 뺨에서 MPN이 230/100ml과 130/100ml으로 나타났다. 7월의 수온은 24.5℃, pH는 7.5, 염도는 5.3‰, COD는 1.45ppm이었다. 뺨에서 비교적 높은 균수가 검출되었으며, 이 때 수온은 24℃이고 염도는 0.1‰과 4.5‰이었고, 뺨의 pH는 7.9와 7.3이었다 (Table 6).

E 지점에서는 *V. cholerae* non-O1만 검출되었으며 9월의 해수에서 MPN이 9/100ml이었고 뺨에서는 7월의 MPN이 30/100ml으로 나타났다. 9월의 수온은 25℃, pH는 7.9, 염도는 4.8‰, COD는 2.47ppm이었다. 뺨에서 양성으로 나타난 7월의 수온은 25.2℃, pH는 6.9이었다(Table 7). Chowdhury 등 (1989)은 Dhaka, Bangladesh 및 일본의 오카야마에서 하절기의 *V. mimicus*의 분포를 검토한 결과 Dhaka의 물에서 MPN이 900/100ml, 오카야마의 물에서 MPN이 15,000/100ml라고 보고하였으나 본 실험 결과는 이 보다 균수가

Table 5. Environmental conditions and MPN of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* from station C in estuary of Kum river

Date	Time	Temp. (°C)	pH		V.C. ^c (MPN/100 ml)		V.M. ^d (MPN/100 ml)		Salinity (‰)	Conductivity (× 100, μMHOS)	COD (ppm)
			SW ^a	BD ^b	SW	BD	SW	BD			
93. 3. 26	17:16	9.5	8.1	7.4	<3.0	<30.0	<30.0	<30.0	21.0	240	- ^e
4. 17	11:00	12.0	7.9	7.6	<3.0	<30.0	<30.0	<30.0	14.0	170	1.53
5. 22	16:45	20.0	7.9	7.4	<3.0	<30.0	<30.0	<30.0	14.1	220	1.12
6. 19	14:20	23.0	7.7	7.5	<3.0	<30.0	<30.0	<30.0	7.0	112	2.84
7. 31	13:50	25.5	7.5	-	3.0	-	6.0	-	7.2	125	1.80
8. 17	14:44	25.0	7.7	7.8	3.0	<30.0	230.0	<30.0	7.0	124	1.12
	14:56	24.0	7.4	-	<3.0	-	<3.0	-	11.0	181	-
	15:40	24.2	7.6	7.2	<3.0	<30.0	3.0	91.0	3.9	64	1.09
	18:03	23.6	7.5	-	<3.0	-	<3.0	-	5.0	82	-
9. 10	08:10	24.0	7.7	-	6.2	-	<3.0	-	5.7	100	2.37
	08:53	24.0	8.1	7.8	<3.0	<30.0	3.0	91.0	3.5	61	2.19
	11:00	25.0	7.7	-	3.0	-	23.0	-	17.0	118	1.50
10. 28	14:35	24.5	7.7	8.1	3.0	<30.0	<3.0	<30.0	16.2	260	1.10
12. 7	10:03	6.1	7.8	7.8	<3.0	<30.0	<3.0	<30.0	12.1	129	-
94. 1. 18	16:17	3.5	8.1	8.1	<3.0	30.0	<3.0	<30.0	6.0	60	3.78
2. 22	12:40	4.0	8.1	7.7	<3.0	<30.0	<3.0	<30.0	17.3	172	2.78

a, Seawater, b, Bottom deposit; c, *V. cholerae* non-O1, d, *V. mimicus*, e, Not tested

Table 6. Environmental conditions and MPN of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* from station D in estuary of Kum river

Date	Time	Temp. (°C)	pH		V.C. ^c (MPN/100 ml)		V.M. ^d (MPN/100 ml)		Salinity (‰)	Conductivity (× 100, μMHOS)	COD
			SW ^a	BD ^b	SW	BD	SW	BD			
93. 3. 26	- ^e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. 17	10:35	14.0	7.9	7.4	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	10.4	139	1.81
5. 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. 19	14:10	24.0	7.6	6.9	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	4.7	78	2.05
7. 31	14:20	24.5	7.5	8.1	< 3.0	< 30.0	3.0	< 30.0	5.3	90	1.45
8. 17	15:32	24.0	7.4	7.9	< 3.0	< 30.0	< 3.0	230.0	0.1	5	1.47
9. 10	08:42	24.0	8.2	7.3	< 3.0	< 30.0	< 3.0	130.0	4.5	75	2.20
10. 28	14:27	24.0	7.9	7.8	9.1	< 30.0	< 3.0	< 30.0	6.5	110	2.13
12. 7	09:55	6.0	7.8	7.8	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	9.9	107	-
94. 1. 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. 22	12:30	4.0	7.6	7.5	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	14.2	140	3.12

a, Seawater; b, Bottom deposit; c, *V. cholerae* non O1; d, *V. mimicus*; e, Not tested.

Table 7. Environmental conditions and MPN of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* from station E in estuary of Kum river

Date	Time	Temp. (°C)	pH		V.C. ^c (MPN/100 ml)		V.M. ^d (MPN/100 ml)		Salinity (‰)	Conductivity (× 100, μMHOS)	COD (ppm)
			SW ^a	BD ^b	SW	BD	SW	BD			
93	3.26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4.17	10.50	7.9	7.4	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	11.0	135	1.82
	5.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.19	13.55	7.6	7.2	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	3.0	49	6.91
	7.31	14.20	7.5	6.9	< 3.0	30.0	< 3.0	< 30.0	4.2	71	2.00
	8.17	15.18	7.3	6.5	< 3.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	1.7	28	1.88
	9.10	08.23	25.0	7.0	9.0	< 30.0	< 3.0	< 30.0	4.8	85	2.47
	10.28	14.17	25.0	7.8	7.3	< 3.0	< 3.0	< 30.0	13.5	217	3.50
	12.7	09.47	6.3	7.9	7.6	< 3.0	< 3.0	< 30.0	11.0	120	-
94	1.18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.22	12.15	5.0	7.6	7.3	< 3.0	< 3.0	< 30.0	13.2	135	3.24

a, Seawater; b, Bottom deposit; c, *V. cholerae* non-O1; d, *V. mimicus*; e, Not tested.

낮게 검출되었다. 이는 *V. mimicus*의 생육에 미치는 수질 조건의 차이 때문이라고 사료된다.

2) 물의 검출률

해수는 C 지점에서 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 검출률이 31.3%로 가장 높게 나오고 다음이 D 지점으로 12.5%의 검출률을 나타내었다. A, B, E 지점은 *V. cholerae* non-O1만 검출되었다(Fig. 5).

3) 뺨의 검출률

뺨은 *V. mimicus*가 C와 D 지점에서 27.3%와 25%로 높게 검출되었고 A, B, E 지점에서는 검출되지 않았다. *V. cholerae* non-O1은 B, C, E 지점에서 검출되었고 D 지점에서는 검출되지 않았다. 특이한 것은 A 지점의 뺨에서 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus* 모두 검출되지 않았고 다른 지역보다 염도와 pH가 높고 COD가 낮은 특징이 있었다(Fig. 6).

해수에서 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*는 모두 수온이 24℃ 이상일 때 검출되었으며 염도가 비교적 낮고 COD가 비교적 높은 바닷물과 강물이 만나는 하구연 댐 밑의 C 지점에서 검출률이 높았다. 그리고 *V. cholerae* non-O1은 모든 지점에서 검출되는 반면 *V. mimicus*는 하구연 댐 주변에서 검출되는 특징이 있다는 것으로 볼 때, *V. mimicus*보다 *V. cholerae* non-O1이 더 넓은 수권에 적용하는 것으로 추측된다. Venkateswaran 등 (1989)은 일본의 후쿠야마 해안에서 *V. cholerae* non-O1의 분포에 대한 연구 결과 *V. cholerae* non-O1의 분포에 있어서 가장 중요한 인자는 온도라고 하였고, Garay 등(1985)의 Spain Valenia의 Albutera 호수와 그 연안수에 대한 연구

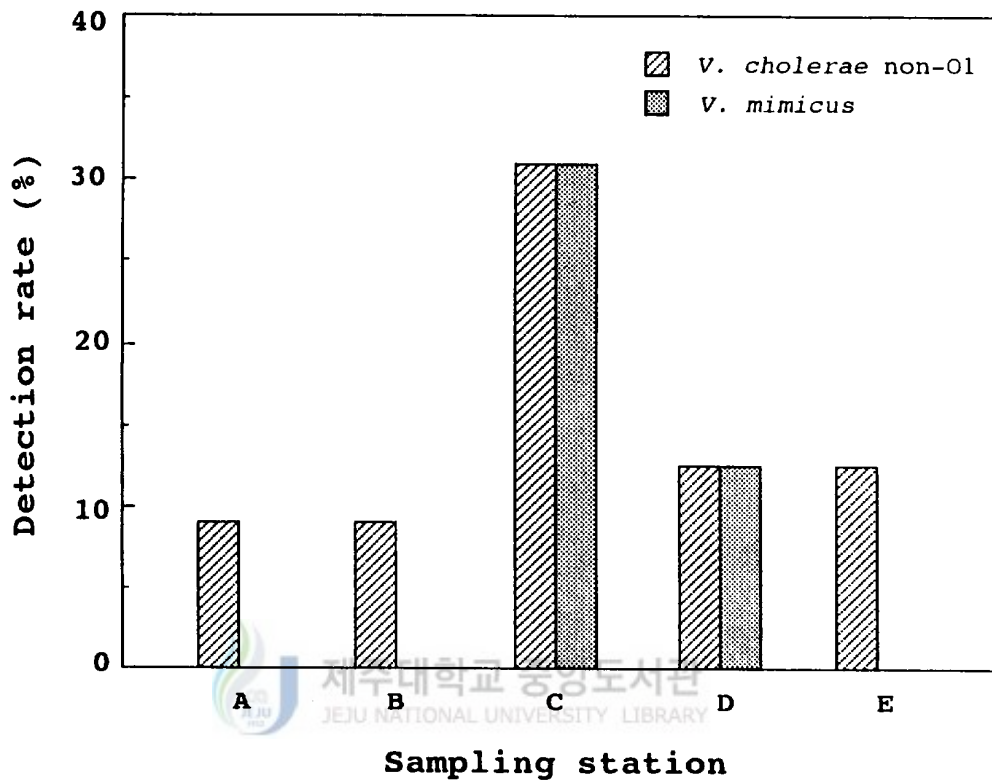


Fig. 5. Detection rate of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* in seawater from various sampling stations.

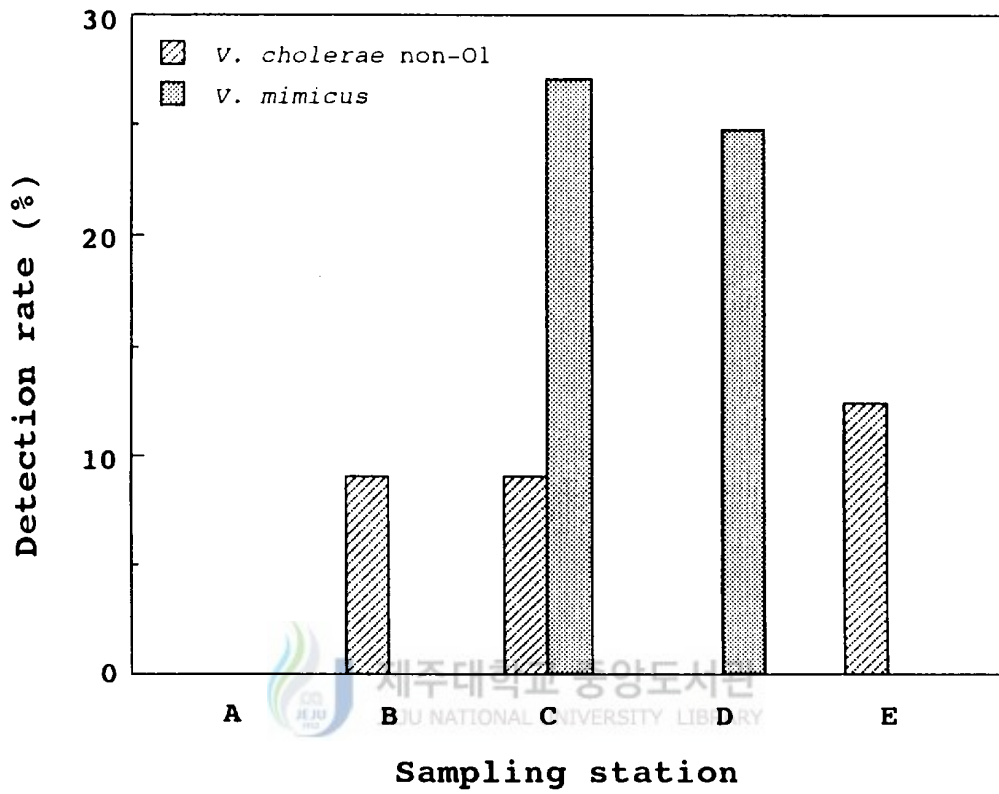


Fig. 6. Detection rate of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* in bottom deposit of different sampling stations.

결과 *Vibrio* 속의 출현은 물의 온도와 물의 type에 유의적으로 영향을 받는다고 하였는데 이는 본 실험 결과와 잘 일치한다.

빨에서도 *V. mimicus*는 C와 D 지점에서 높은 검출률을 보인 반면 다른 지역에서는 검출되지 않은 것으로 볼 때 강물과 바닷물이 만나는 지역의 침전물에 *V. mimicus*가 주로 서식하고 이 곳에서 월동을 하는 것으로 추측된다.

4) 물의 염도와 검출률의 관계

V. cholerae non-O1과 *V. mimicus*는 염도가 비교적 낮은 물에서 검출이 많이 되는 경향이었으나 *V. cholerae* non-O1의 검출률이 염도 15‰이하에서 9.3%, 15.1‰ 이상에서 7.4%로 차이가 적었고 *V. mimicus*는 염도 15‰이하에서 9.3%, 15.1‰ 이상에서 1.9%로 뚜렷한 차이가 있었다(Fig. 7). 이는 *V. cholerae* non-O1보다 *V. mimicus*가 염도의 영향을 많이 받는다고 추정할 수 있으며 기수 지역 이외에서는 *V. cholerae* non-O1보다 적응력이 낮다는 것을 나타낸다. Rhodes 등(1986)은 1985년 하절기 서부 콜로라도 각 지역에서 *V. cholerae* non-O1을 검사한 결과 염도가 높은 지역에서 낮은 지역까지 *V. cholerae* non-O1이 검출되었다고 보고하였고, Chaudhuri 등(1992)은 환경 유래의 *V. cholerae* non-O1은 외부 세포막에 phospholipid를 가지고 있지 않고, 이러한 세포 표면의 특성은 여러 가지 환경 변화에 높은 생존율을 가지게 되는 원인이라고 보고한 것으로 볼 때 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 환경 적응력에 차이가 있을 것으로 추정된다.

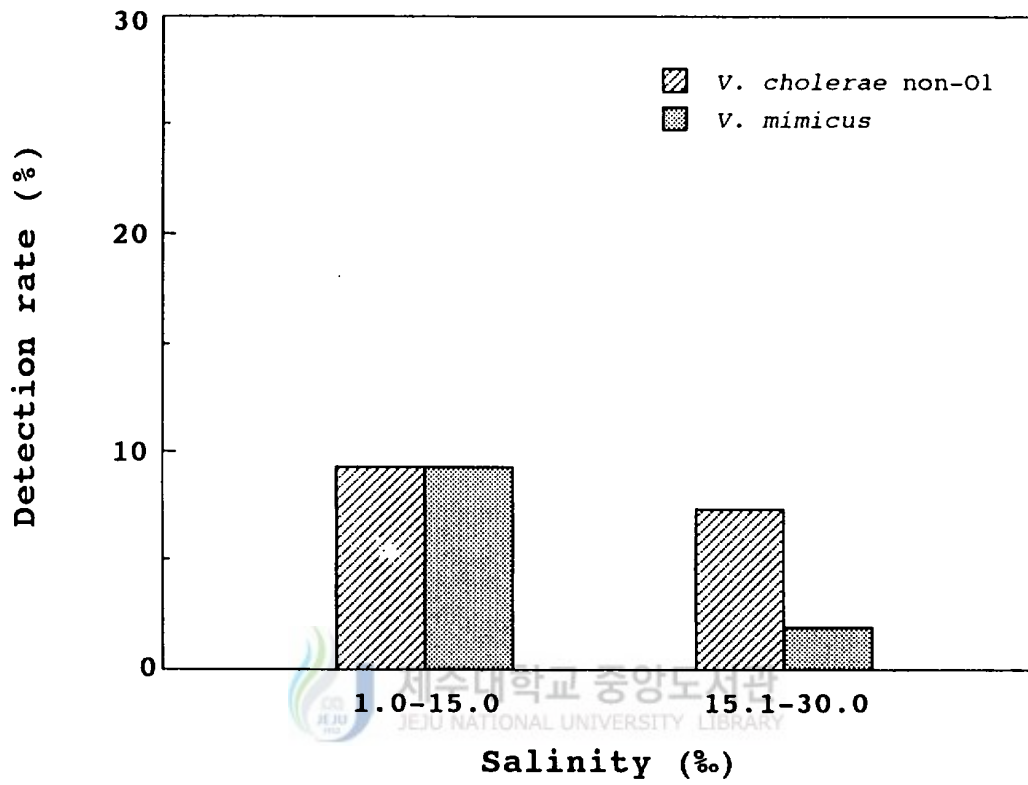


Fig. 7. Detection rate of *V. cholerae non-O1* and *V. mimicus* under the different salinity.

5) 물과 뺨의 검출률 비교

V. cholerae non-O1의 전체 검출률은 11.7%인데 해수에서 16.7%, 뺨에서 6.1%로 해수에서 더 높게 검출된 반면 *V. mimicus*는 전체 검출률이 10.7%인데 해수와 뺨이 11.1%와 10.7%로 큰 차이가 없었다(Fig. 8).

이상의 결과로 볼 때, *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*은 서식 조건이 일반적으로 유사하다고 사료되며 다만 *V. cholerae* non-O1이 *V. mimicus*보다 수질 조건의 변화에 더 넓게 적응하는 것으로 추정된다.

2. 염도와 수온의 변화에 따른 균수 변화

1) 강물에서 수온의 변화에 따른 균수 변화

최초 균수를 10^5 정도 강물에 접종하여 4, 15 및 25-28 ℃에 저장하면서 균수 변화를 본 결과 25-28 ℃에서 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*가 6일만에 사멸하였고 15 ℃에서 *V. cholerae* non-O1은 10일, *V. mimicus*는 8일만에 사멸한 반면 4 ℃에서 *V. cholerae* non-O1은 10일, *V. mimicus*은 6일만에 사멸하였다. 이상의 결과로 볼 때 강물에서 *V. cholerae* non-O1보다 *V. mimicus*가 적응력이 약한 것으로 추정되며 *V. cholerae* non-O1은 4와 15 ℃, *V. mimicus*은 15 ℃에서 안정성이 높음을 알 수 있었다. 두 균주 모두 여름철 표층 수온 정도인 25-28 ℃에서 가장 적응력이 낮았으며 10^1 정도의 균을 접종하였을 때는 1일 이내에 사멸하였다. 그리고 봄 가을철 평균 표층 수온인 15 ℃에서 두 균주 모두 안정성이 높은 것으로 나타났다(Fig. 9, 10). 이런 결과로 미루어 보면 여름철에 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*가 다량 오염되거나 증식되면 자연 소멸되는 데 1주일 정도 걸리기 때문에 주의가 요망된

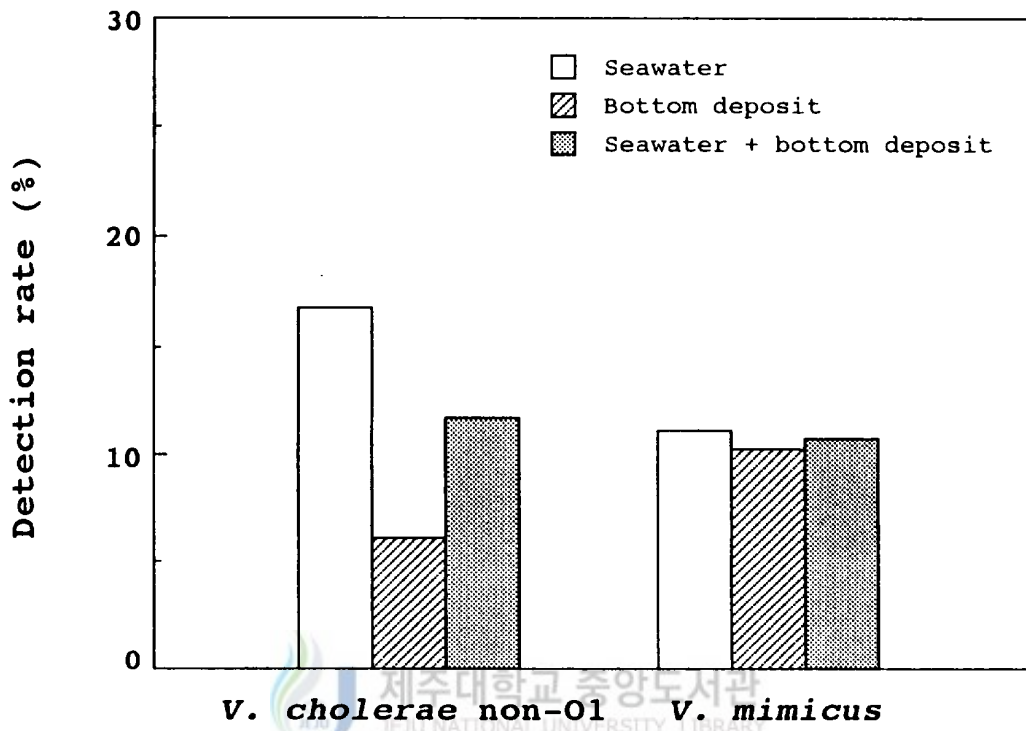


Fig. 8. Detection rate of *V. cholerae non-O1* and *V. mimicus* in seawater and bottom deposit.

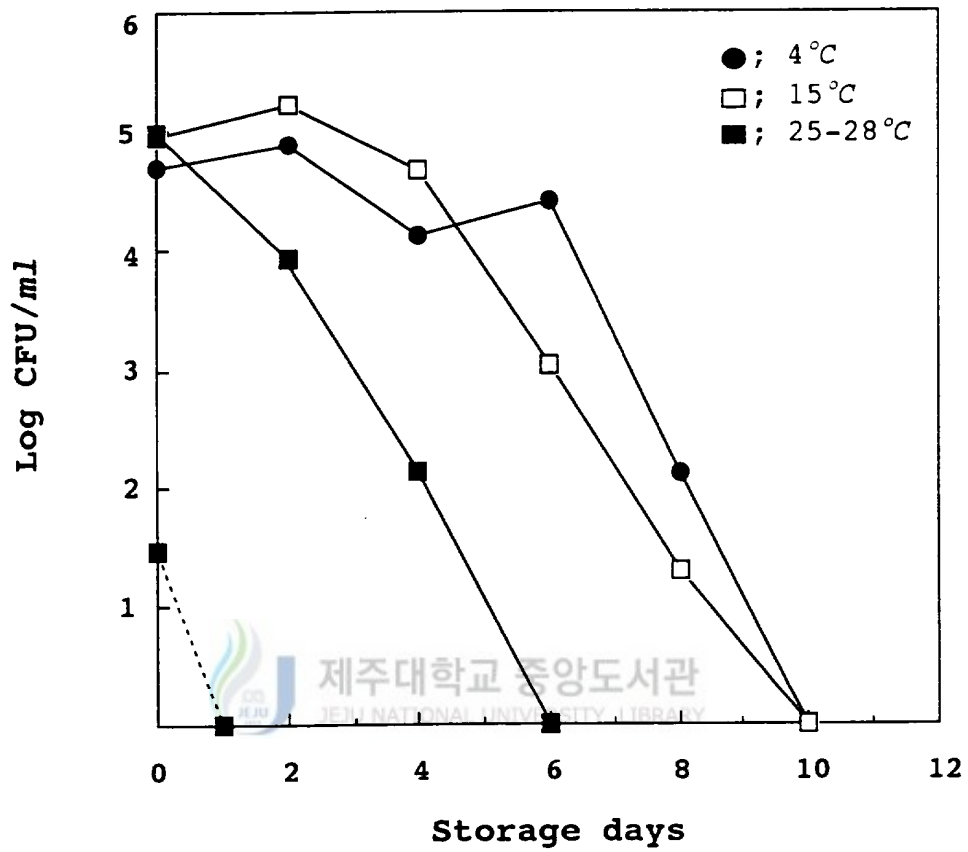


Fig. 9. Effects of temperature on survival of *V. cholerae* non-O1 stored in freshwater.

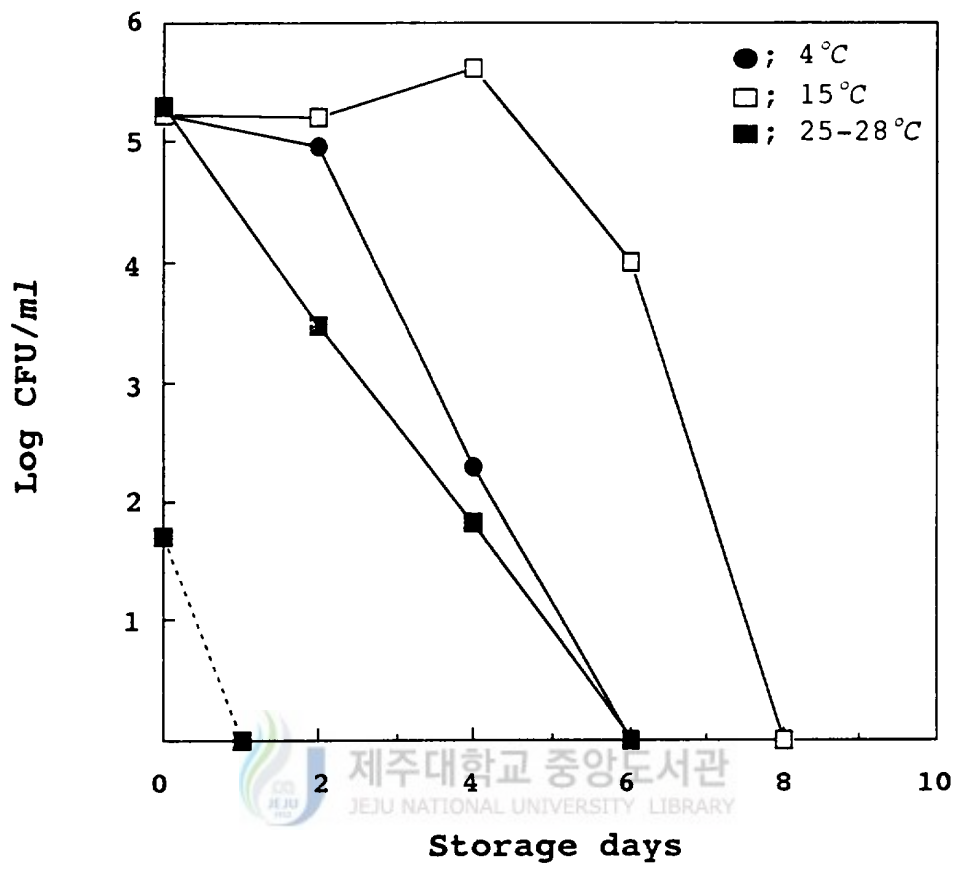


Fig. 10. Effects of temperature on survival of *V. mimicus* stored in freshwater.

다. 그리고 유기물질의 오염이 심한 지역이나 비가 많이 온 후에는 더 긴 기간 동안 물속에 균이 생존할 가능성이 있으므로 이에 대한 연구가 더 요구된다.

Venkateswaran(1989) 등은 *V. cholerae* non-O1이 염도 0.4-2.6‰의 담수에서 검출되었다고 보고한 바 있으나 그 검출률이 상당히 낮았고, Chowdhury(1989) 등은 *V. mimicus*의 경우 염도가 1‰ 이하인 호수에서 검출률이 염도가 2-4‰인 강에서 보다 극히 낮다고 보고하였다. 이러한 결과로 볼 때 두 균은 염도가 0.5‰ 이하에서는 검출이 잘되지 않는다는 것을 알 수 있으며, 염도가 0‰인 본 실험의 강물에서 두 균주가 염도 10‰과 30‰의 해수에서 보다 빨리 사멸한 것은 이들의 결과와 유사한 경향을 나타낸다고 볼 수 있다.

2) 기수에서 수온의 변화에 따른 균수 변화

염도 10‰로 조절된 기수에 10^5 정도의 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*를 접종하여 4, 15 및 25-28℃에 저장하면서 균수 변화와 두 균주를 10^3 정도 접종하여 25-28℃에서 저장하면서 균수 변화를 본 결과는 Fig. 11, 12와 같다.

각 온도 모두 *V. cholerae* non-O1보다 *V. mimicus*의 생존 기간이 길었으며 시간이 경과함에 따라 균수가 감소되다가 사멸하였다. 두 균주 모두 25-28, 4, 15℃ 순으로 생존 기간이 길었고 15℃에서 가장 안정성이 높았으며 *V. cholerae* non-O1은 10일 *V. mimicus*는 16일에 사멸하였다. 25-28℃에서 최초 균수를 저농도로 접종하였을 때는 배양 1-2일 제 1 log cycle 정도 균수가 증가한 후 시간이 경과함에 따라 급속히 감소되다가 사멸되었다(Fig. 11, 12). 염도 10‰의 기수에서 특징적인 것은 15℃에서 생장기간이 담수나

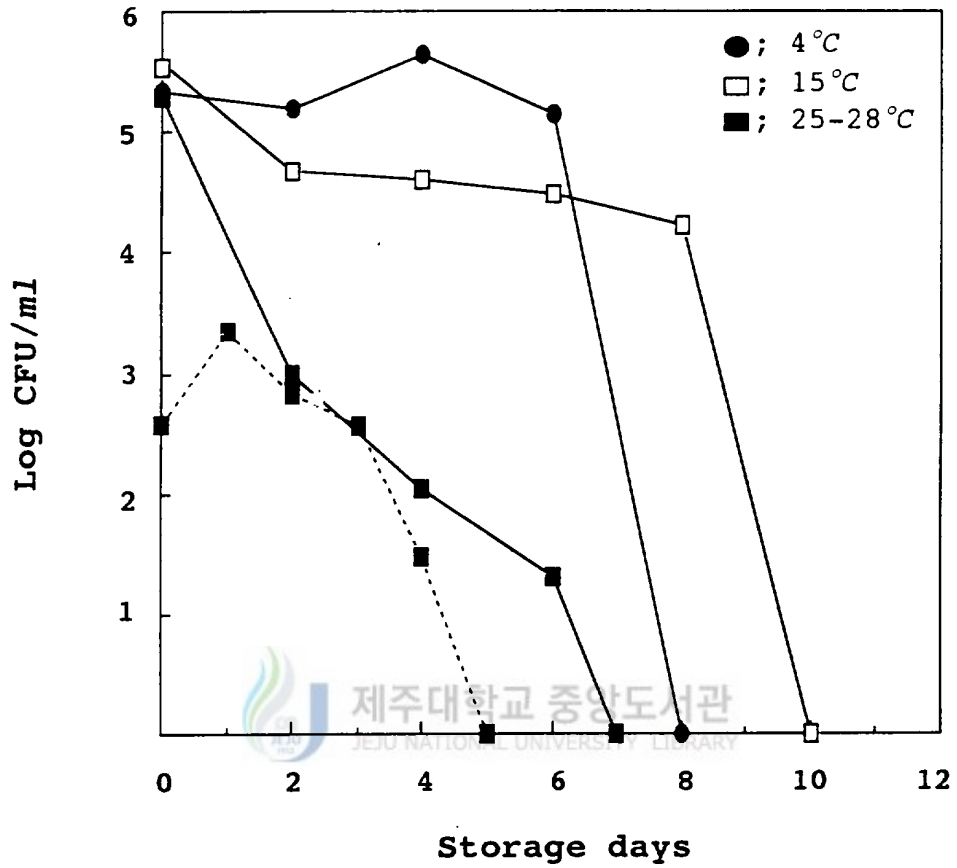


Fig. 11. Effects of temperature on survival of *V. cholerae* non-O1 stored in brackish water (10 % NaCl).

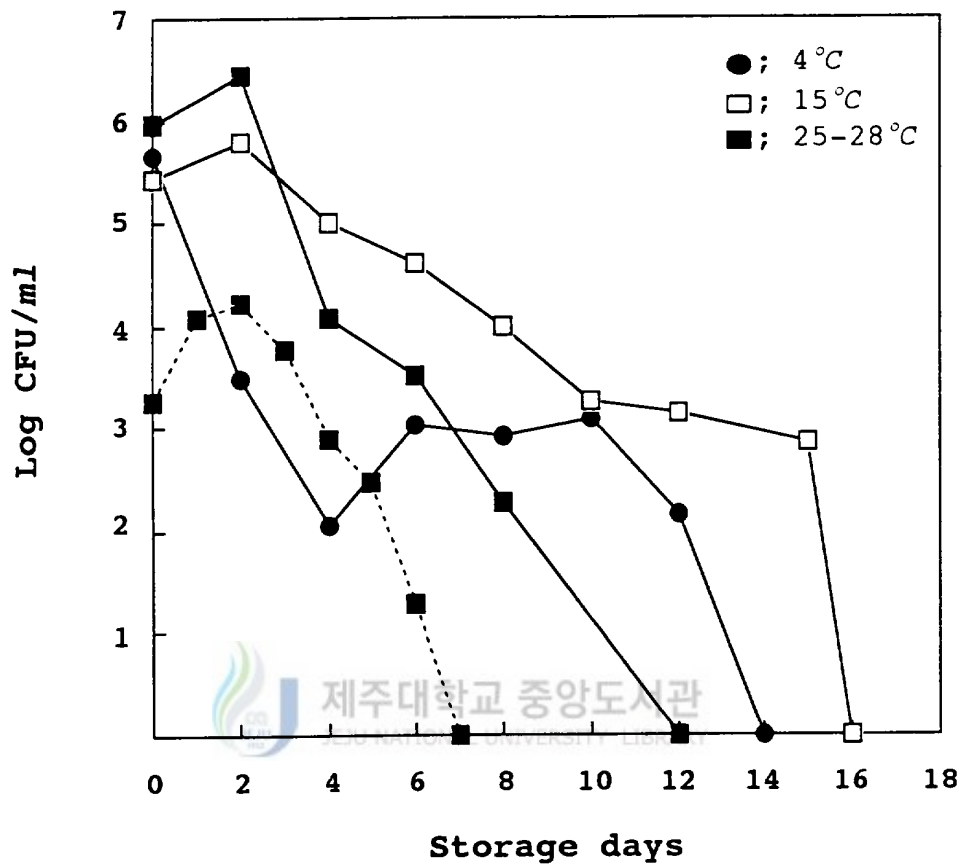


Fig. 12. Effects of temperature on survival of *V. mimicus* stored in brackish water (10 % NaCl).

염도 30‰의 해수에서 보다 2-4일 길었다는 점이다. 또 *V. mimicus*의 경우도 15℃에서 다른 조건에 비하여 균수가 서서히 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 두 균주 모두 염도 0.4-30‰의 넓은 범위에서 검출되나 (Venkateswaran 등, 1989; Chowdhury 등, 1989), 10‰ 부근의 염도가 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 최적 적응조건이라고 사료되며, 강물과 바닷물이 만나는 기수 지역에서 환경 조건만 맞으면 증식할 가능성이 높다고 볼 수 있고 많은 균이 증식된 후 유기물질 농도의 저하나 온도의 변화로 균이 다시 소멸되는 것으로 보여진다.

3) 해수에서 수온의 변화에 따른 균수 변화

염도 30‰의 해수에 10^5 정도의 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*를 접종하여 4, 15 및 25-28℃에 저장하면서 균수 변화와 10^2 정도의 저농도 균을 접종하여 25-28℃에 저장하면서 균수 변화를 조사한 결과는 Fig. 11, 12와 같다.

염도 30‰의 해수에서는 두 균주 공히 온도가 높을수록 생장기간이 짧았고, 최초 균수를 약 10^2 정도로 적게 하였을 때도 25-28℃에서는 배양 1일 후 1 log cycle 정도 증가하였으나 그 후 급격히 감소 3-4일만에 사멸하였다. 한편, 4℃에서는 생장기간이 *V. cholerae* non-O1이 19일, *V. mimicus*가 17일로 실험된 조건 중에서 생장기간이 가장 길었다(Fig. 13, 14).

Kaspar와 Tamplin(1993)은 *V. vulnificus*의 경우, 염도가 15-25‰에서 14℃가 21℃에서 보다 생장기간이 더 길었고 이 결과는 최적 염도가 아닌 경우는 온도가 환경에 대한 저항성에 영향을 미친다고 보고하였다. 이러한 결과로 볼 때 증식 최적 염도가 10‰이라고 알려져 있는 *V. cholerae* non-O1과 *V.*

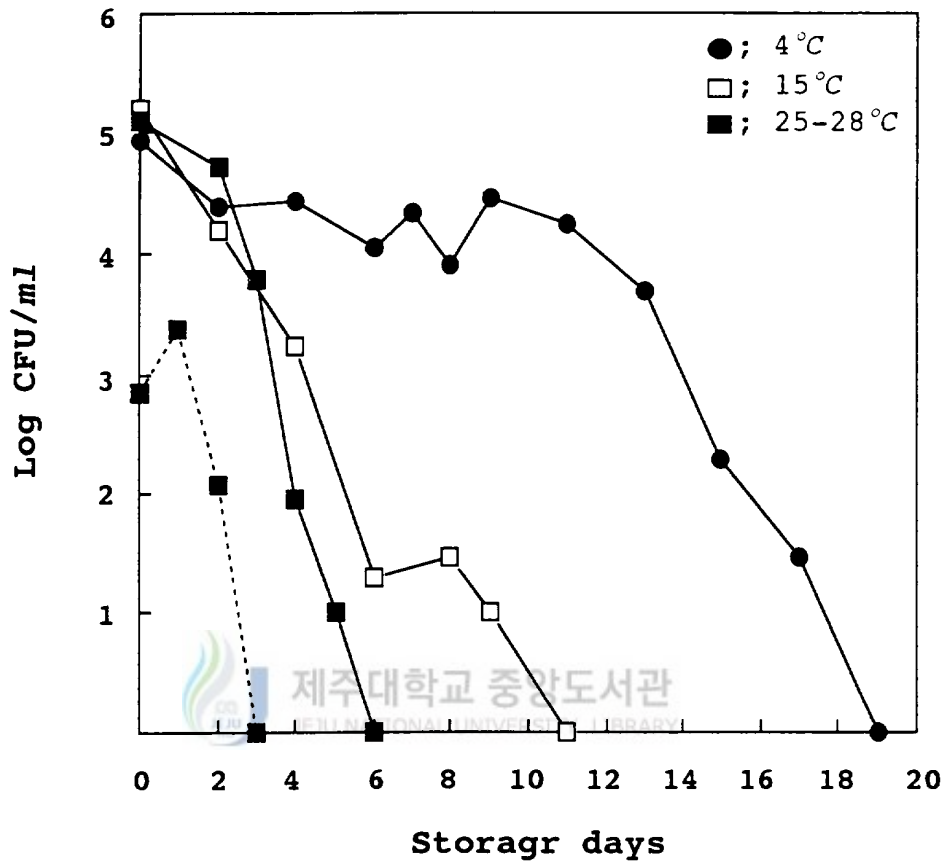


Fig. 13. Effects of temperature on survival of *V. cholerae* non-O1 stored in seawater (30 % NaCl).

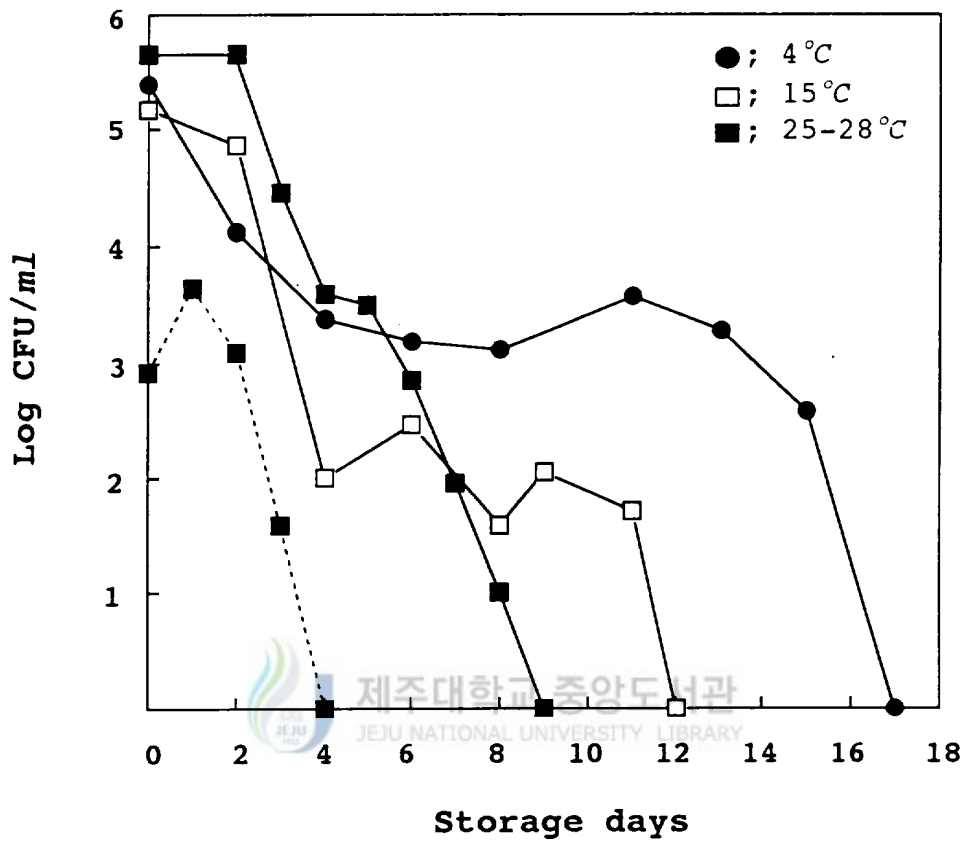


Fig. 14. Effects of temperature on survival of *V. mimicus* stored in seawater (30 % NaCl).

*mimicus*가 염도 30‰의 해수에서 15와 25℃보다 4℃에서 생장기간이 길게 나타난 것도 이와 같은 맥락에서 이해될 수 있을 것이며, 플랑크톤이나 유기물을 함유하고 있는 자연 환경의 해수에서는 겨울에도 이들 균이 잔존하고 있을 가능성이 있다고 추측할 수 있다.

이상의 결과를 종합하면 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*는 정상적인 해수, 기수 및 담수에서는 증식되기 어려우며, 많은 양의 균이 오염되었다고 하여도 시간이 경과하면 소멸될 것으로 사료된다. 그러나 여러 조건의 수권에서 이 균들이 분리되고 있는 것은 이 균들이 수질 조건의 변화 특히 유기물질의 오염이 심한 곳에서는 증식이 가능해지기 때문에, 강물과 바닷물이 섞이는 강하구와 같은 특수한 지역에서 온도, 염도 및 유기물질의 농도가 적당할 때 균이 증식되어 수권에 확산되는 것으로 추정할 수 있다.

3. 어육에서 균의 증식

1) 방어육에서 균 증식

방어(yellow tail fish) 육균질액에 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*를 단일접종 및 혼합접종하여 35℃에 저장하면서, 2-4 시간 마다 균수를 측정 한 결과는 Fig. 15, 16과 같다.

단일배양에 있어서 *V. cholerae* non-O1의 경우 최초 균수를 $6.2 \times 10^2/ml$ 되게 접종하였을 때 접종 후 4 시간 후부터 증식이 시작되었고 저장 16 시간에 $2.5 \times 10^8/ml$ 로 최대 균수에 달하였다. *V. mimicus*의 경우는 최초 균수를 $2.9 \times 10^2/ml$ 되게 접종하였을 때, 균이 초기 감소 없이 증가하기 시작하여 저장 12 시간에 $1.9 \times 10^8/ml$ 로 최대 균수에 달하였다(Fig. 15).

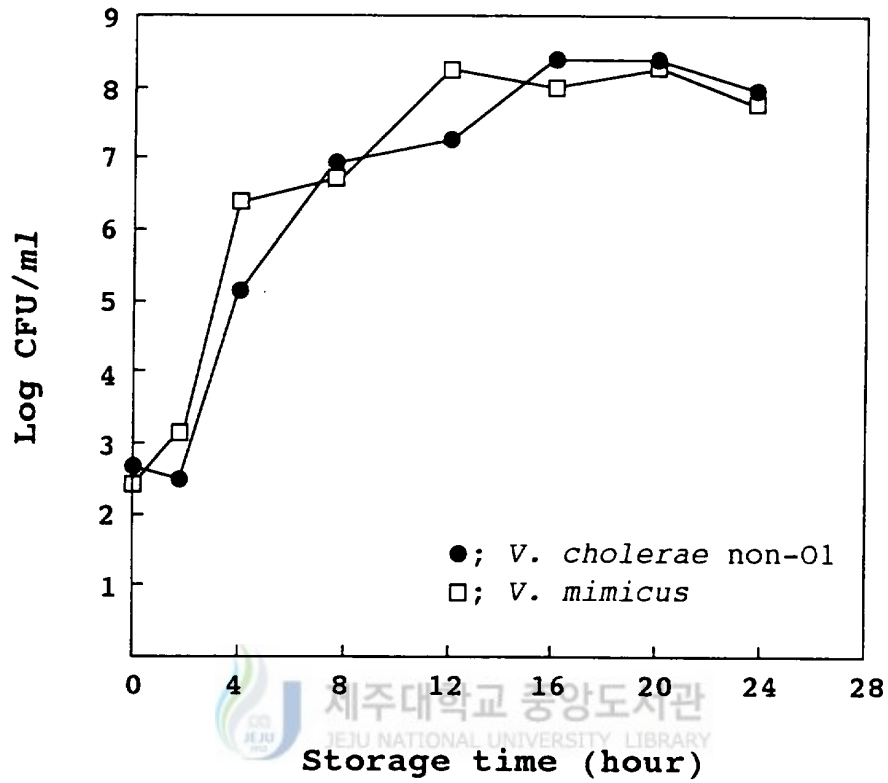


Fig. 15. Changes of viable cell count of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* inoculated in yellow tail meat homogenate during storage at 35°C.

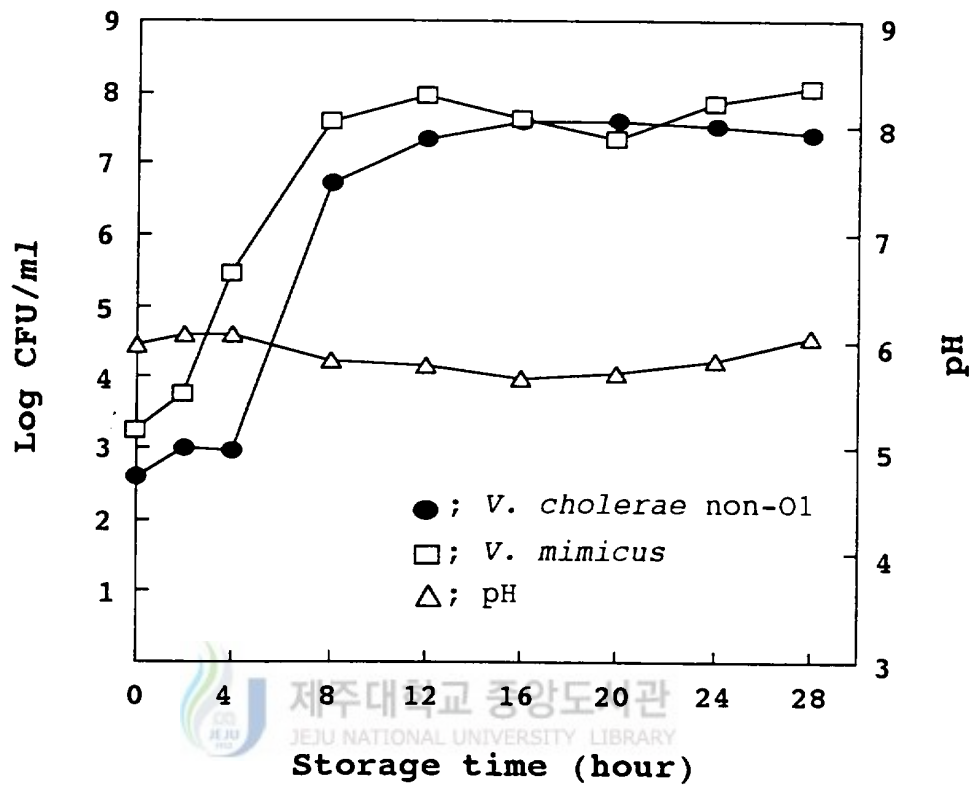


Fig. 16. Changes of viable cell count in mixed culture of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* in yellow tail meat homogenate during storage at 35 °C.

혼합배양에 있어서는 최초 균수를 *V. cholerae* non-O1은 $5.4 \times 10^2/ml$, *V. mimicus*는 $1.9 \times 10^3/ml$ 되게 접종하였을 때, *V. cholerae* non-O1의 경우 저장 4 시간 후부터 증가하기 시작하여 저장 8 시간에 $5.5 \times 10^6/ml$, 저장 20 시간에 $4.0 \times 10^9/ml$ 로 최대 균수에 달하였다. *V. mimicus*의 경우는 저장 2 시간부터 증가하여 저장 12 시간에 $1.0 \times 10^8/ml$, 저장 28 시간에 $1.3 \times 10^8/ml$ 로 최대 균수에 달하였다. 그리고 육균질액의 pH는 5.65-6.07로 변화의 폭이 적었다(Fig. 16).

2) 조피볼락육에서 균 증식

조피볼락(young rock fish) 육균질액에 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*를 단일접종 및 혼합접종하여 35 ℃에 저장하면서, 2-4 시간마다 균수를 측정한 결과는 Fig. 17, 18과 같다.

단일배양에 있어서 *V. cholerae* non-O1은 최초 균수를 $2.1 \times 10^1/ml$, *V. mimicus*는 $7.0 \times 10^1/ml$ 되게 접종하였을 때, 두 균주 모두 저장 2 시간부터 증가하기 시작하여 *V. cholerae* non-O1은 저장 12 시간에 $3.7 \times 10^8/ml$ 로 최대 균수에 달하였으며, *V. mimicus*는 저장 12 시간에 $1.4 \times 10^9/ml$, 저장 24 시간에 $4.4 \times 10^9/ml$ 로 최대 균수에 달하였다 (Fig. 17).

혼합배양에 있어서는 방어에서와 비슷한 최초 균수로 접종하였을 때 *V. cholerae* non-O1의 경우, 방어에서와 유사하게 저장 4 시간부터 균수가 증가하기 시작하였고 저장 16 시간에 $8.0 \times 10^6/ml$ 로 최대 균수에 달하였다. *V. mimicus*는 저장 2 시간부터 균수가 증가하기 시작하여 저장 8 시간에 $6.0 \times 10^8/ml$ 로 증가하였고 그 후 약간 감소하였으나 저장 24시간 쯤부터 다시 증가하기 시작하여 저장 28 시간 쯤 $2.7 \times 10^9/ml$ 로 최대 균수에 달하여 *V.*

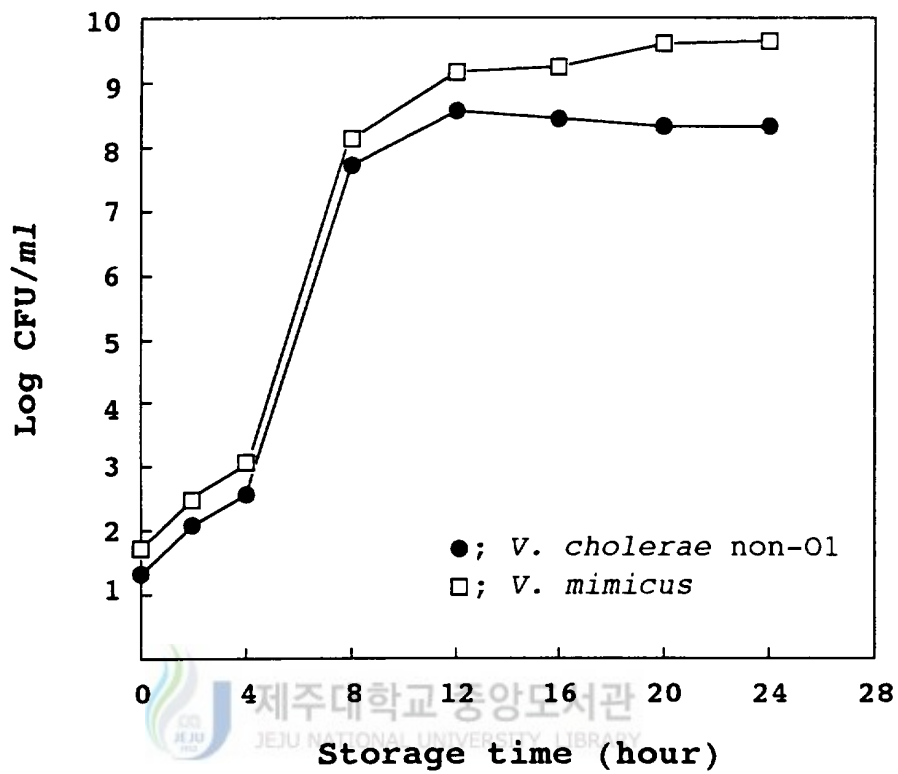


Fig. 17. Changes of viable cell count of *V. cholerae non-O1* and *V. mimicus* inoculated in young rockfish meat homogenate during storage at 35°C.

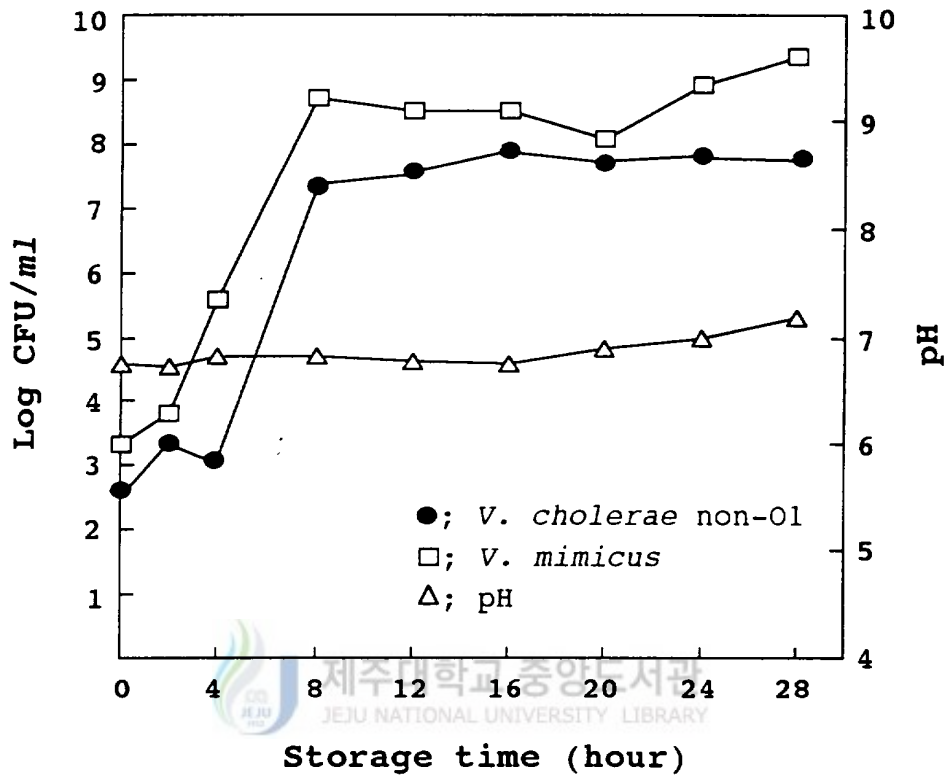


Fig. 18. Changes of viable cell count in mixed culture of *V. cholerae* non-O1 and *V. mimicus* in young rockfish meat homogenate during storage at 35 °C.

*mimicus*의 균수 증가가 *V. cholerae* non-O1보다 약간 높았다. 그리고 육균 질액의 pH는 6.73-7.19로 변화가 적었으나 방어육 균질액의 pH에 비해서 중성에 더 가까웠다 (Fig. 18).

이상의 결과로 볼 때, 두 균주 모두 두 종류의 어육에서 잘 증식하였으며, 저장 8 시간 정도에 식중독을 일으킬 수 있는 균수에 도달하였다. 어육 종류 별로는 방어육보다 조피볼락육에서 균수의 증가가 약간 많았는데, 이것은 조피볼락육의 pH가 중성에 가까웠기 때문으로 사료된다. 균주 별로는 두 종류의 어육 모두에서 *V. mimicus*의 균수가 *V. cholerae* non-O1보다 약간 더 증가하였으나 유의할 만한 차이는 없었다. 이들 두 균과 생태적 성질이 유사한 *V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus*의 경우 생선육에서 잘 증식되었으며, 적색육보다 백색육 어종에서 증식이 양호하였다는 보고(김 등, 1986; 김 등, 1988)로 볼 때, 병원성 비브리오는 대부분 생선육에서 잘 증식된다고 추측되므로 생선회 관리에 깊은 주의가 요망된다.



적 요

새로운 식중독 원인균으로 알려지고 있는 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 분포와 서식 조건을 밝히고자 금강 하구에서 1993년 3월 26일부터 1994년 2월 22일까지 수질 환경변화와 *V. cholerae* non-O1 및 *V. mimicus*의 분포를 조사하였으며, 식중독 사고 예방을 위한 대책 수립에 필요한 자료를 제공하고 자 담수, 기수 및 해수를 대상으로 염도와 온도의 변화에 따른 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 적응력 및 신선한 어육에 있어서 균의 증식력을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. *V. cholerae* non-O1은 해수 54개 시료에서 16.7%, 뱀 49개 시료에서 6.1%, 전체 11.7%가 검출되었으며, *V. mimicus*는 해수 37개 시료에서 11.1%, 뱀 49개 시료에서 10.2%, 전체 10.7%가 검출되었다.

2. *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*는 수온 24℃ 이상, 염도 10‰ 이하의 기수에서 주로 검출되었으나, 수온이 3.5℃인 1월에 뱀에서도 검출되었다.

3. *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 서식은 온도, 염도 및 유기물질의 오염이 주요 인자이며, *V. cholerae* non-O1은 *V. mimicus*보다 염도 변화에 대한 적응력이 더 높았다.

4. 담수에서 *V. cholerae* non-O1은 25-28℃보다 4와 15℃에서 생장기간이 길었으며 *V. mimicus*는 4℃와 25-28℃보다 15℃에서 생장기간이 길었다.

5. 기수에서는 두 균주 모두 15, 4, 25-28℃순으로 생장기간이 길었으며 담수와 해수보다 적응력이 좋았다.

6. 해수에서는 두 균주 공히 온도가 높을수록 생장기간이 짧았으며, 4℃에서 실험 조건 중 생장기간이 가장 길었다.

7. 염도와 온도의 변화는 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*의 생장에 중요한 인자이며 담수에서는 *V. mimicus*보다 *V. cholerae* non-O1의 안정성이 높았고, 기수에서는 *V. cholerae* non-O1보다 *V. mimicus*의 안정성이 높았으며 해수에서는 두 균 사이에 큰 차이가 없었다.

8. 신선한 방어와 조피블락의 육균질액(회석수 4 : 육 1)에 *V. cholerae* non-O1과 *V. mimicus*를 접종하여 35℃에서 배양한 결과, 증식이 양호하였으며 두 균을 혼합하여 접종하였을 때도 각각 접종한 것과 차이가 없었다.

참 고 문 헌

- Aldova, E., K. Lazonikova, E. Stepankova and J. Lietova. 1968. Isolation of nonagglutinable vibrios from an enteritis outbreak in Czechoslovakia. *J. Infect. Dis.* 118, 257-263.
- Amitral, T. R., R. K. Bhadra, T. Takeda, T. Shimada, Y. Takeda, G. Balakrishnair, S.C. Pal. and S. Chakrabarti. 1992. Reassessment of the prevalence of heat-stable enterotoxin(NAG-ST) among environment *Vibrio cholerae* non-O1 strains isolated from Calcutta, India, by using a NAG-ST DNA probe. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2485-2489.
- A.O.A.C. 1990. Association of Official Analytical Chemist Vol. I. Kenneth Helrich ed. 15th ed., Arlington Virginia, U.S.A. pp. 316-317.
- Arita, M., T. Takeda, T. Honda and T. Miwatani. 1986. Purification and characterization of *Vibrio cholerae* non-O1 heat-stable enterotoxin. *Infect. Immun.* 52, 45-49.
- Arnau, A., C. Amaro, M. J. Pujalte and E. Garay. 1988. The annual cycle of zooplankton associated *Vibrio cholerae* and related vibrios in Albufera Lake and its coastal surrounding waters (Valencia, Spain). *Microbiol. Sociedad Espanola de Microbiologia* 5, 45-49.
- Baumann, P., A. S. Furniss and J. V. Lee. 1984. Genus I. *Vibrio* Pacini 1854, 411^{AL}, p. 518-538. In E. H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., H. J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed.

- American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Blake, P. A., D. T. Allegra, J. D. Snyder, T. J. Barret, L. MacFarland, C. T. Caraway, J. C. Feeley, J. P. Craig, N. D. Puhr and R. A. Feldman. 1980. Cholerae-a possible endemic focus in the United States. *N. Engl. J. Med.* 302, 305-309.
- Bonner, J. R., A. S. Coker, C. R. Berryman and H. M. Pollock. 1983. Spectrum of *Vibrio* infections in a Gulf coast community. *Ann. Intern. Med.* 99, 464-469.
- 장동석, 김영만. 1978. 장염비브리오균의 월동에 관한 연구. *한수지*. 11, 147-153.
- 장동석, 김영만, 박옥연, 성희경, 유흥식, 김신명, 김영목. 1993. 어패류에 대한 비브리오균 오염 실태에 관한 연구. 부산수산대학교. 식품미생물학교실. pp. 1-11, 30-36
- Chaudhuri, K., R. K. Bhadra and J. Das. 1992. Cell surface characteristics of environmental isolates of *Vibrio cholerae* non-O1. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3567-3573.
- Chowdhury, M. A. R., K. M. S. Aziz, Z. Rahim and B. A. Kay. 1985. Isolation of *Vibrio mimicus* from aquatic environment of Bangladesh. *J. Diarrhoeal. Dis. Res.* 3, 54.
- Chowdhury, M. A. R., K. M. S. Aziz, Z. Rahim and B. A. Kay. 1986a. Toxigenicity and drug sensitivity of *Vibrio mimicus* isolated from fresh water prawns in Bangladesh. *J. Diarrhoeal. Dis. Res.* 4, 237-240.

- Chowdhury, M. A. R., K. M. S. Aziz, Z. Rahim and B. A. Kay. 1986b. Antibiotic resistance patterns of *Vibrio mimicus* isolated from human and environmental sources in Bangladesh. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 30, 622-623.
- Chowdhury, M. A. R., K. M. S. Aziz, B. A. Kay and Z. Rahim. 1987 a. Toxin production by *Vibrio mimicus* strains isolated from human and environmental sources in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 25, 2200-2203.
- Chowdhury, M. A. R., K. M. S. Aziz, B. A. Kay, Z. U. Ahmed, K. Haider and T. Alam. 1987 b. Plasmids in *Vibrio mimicus*. *Bangladesh J. Microbiol.* 4, 27-30.
- Chowdhury, M. A. R., H. Yamanaka, S. Miyoshi, K. M. S. Aziz and S. Shinoda. 1989. Ecology of *Vibrio mimicus* in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2073-2078.
- Colwell, R. R. 1970. Polyphasic taxonomy of the genus *Vibrio* : Numerical taxonomy of *Vibrio cholerae*, *Vibrio Parahaemolyticus*, and related *Vibrio* species. *J. Bacteriol.*, 104, 410-433.
- Colwell, R. R., J. Kaper and S. W. Joseph. 1977. *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and other vibrios: occurrence and distribution in Chesapeake Bay. *Science*. 198, 394-396.
- Craig, J. P., K. Yamamoto, Y. Takeda and T. Miwatani. 1981. Production of cholerae-like enterotoxin by a *Vibrio cholerae* non-O1 strain isolated from the environment. *Infect. Immun.* 34, 90-97.

- Dakin, W. P. H., K. J. Howell, R. G. A. Sutton, M. F. O'Keefe and P. Thomas. 1974. Gastroenteritis due to non-agglutinable (non-cholerae) vibrios. *Med. J. Aust.* 2, 487-490.
- Davis, B. R., G. R. Fanning, J. M. Madden, A. G. Steigerwalt, H. B. Bradford, Jr., H. L. Smith, JR. and D. J. Brenner. 1981. Characterization of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. *J. Clin. Microbiol.* 14, 631-639.
- Dotevall, H., G. Jonson-Stromberg, S. Sanyal and J. Holmgren. 1985. Characterization of enterotoxin and soluble hemagglutinin from *Vibrio mimicus*: identity with *V. cholerae* O1 toxin and hemagglutinin. *FEMS Microbiol. Lett.* 27, 17-22.
- Dut, A. K., S. Alwi and T. Velauthan. 1971. A shellfish-borne cholerae outbreak in Malaysia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65, 815-818.
- El-Shawi, N. and A. J. Thewaini. 1969. Non-agglutinable vibrios isolated in the 1966 epidemic of cholerae in Iraq. *Bull. W.H.O.* 40, 163-166.
- FDA. 1992. Bacteriological Analytical Manual 7th Ed. Food and Drug Administration U. S. A. pp. 11-138.
- Garay, E., A. Arnau and C. Amaro. 1985. Incidence of *Vibrio cholerae* and related vibrios in a coastal lagoon and seawater influenced by lake discharges along an annual cycle. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 426-430.

- Glass, D. I., S. Becker, M. I. Huq, B. J. Stoll, M. U. Khan, M. H. Merson, J. V. Lee and R. E. Black. 1982. Endemic cholera in rural Bangladesh, 1966-1980. *Am. J. Epidemiol.* 116, 959-970.
- Gyobu, Y., H. Kodama, H. Uetake and H. Katsuda. 1984. Studies on the enteropathogenic mechanism of non-O1 *Vibrio cholerae* isolated from the environment and fish in Toyama prefecture. *Microbiol. Immunol.* 28, 735-745.
- Harrigan, M. F. and M. E. McCance. 1976. Biochemical tests for Bacteria in Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic press, New York, pp. 67-68, p. 81.
- Hoge, C. W., D. Watsky, R. N. Peller, J. P. Libonati, E. Israel and J. G. Morris, Jr. 1989. Epidemiology and spectrum of *Vibrio* infections in a Chesapeake Bay community. *J. Infect. Dis.* 160, 985-993.
- Honda, T., M. Arita, T. Takeda, M. Yoh and T. Miwatani. 1985. Non-O1 *Vibrio cholerae* produces two newly identified of toxins related to *Vibrio parahaemolyticus* hemolysin and *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin. *Lancet.* 2, 163-164.
- 本田 武司, 山本 耕一郎, 飯田哲也. 1991. ビブリオ属菌の毒素, 遺傳子, 病原性. *Medical Immunology.* 21, 313-323.
- Ichinose, Y., K. Yamamoto, N. Nakasone, M. J. Tanabe, T. Takrda, T. Miwatani and M. Iwanaga. 1987. Enterotoxicity of El-Tor-like hemolysin of non-O1 *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 55, 1090-1093.
- Iguchi, T., S. Kondo and K. Hisatsune. 1989. Sugar composition of the

- polysaccharide portion of lipopolysaccharides of *Vibrio fluvialis*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio mimicus*. *Microbiol. Immunol.* 33, 833-841.
- Janda, J. M., C. Powers, R. G. Bryant and S. L. Abott. 1988. Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. *Clin. Microbiol. Reviews.* 1, 245-267.
- Kaper, J., H. Lockman, R. R. Colwell and S. W. Joseph. 1979. Ecology, serology and enterotoxin production of *Vibrio cholerae* in Chesapeake Bay. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 91-103.
- Kaper, J. B., J. B. Nataro, N. C. Roberts, R. J. Shebeling and H. B. Braford. 1986. Molecular epidemiology of non-01 *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus* in US. Gulf coast. *J. Clin. Microbiol.* 23, 652-654.
- Kaspar, C. W. and M. L. Tamplin. 1993. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *ASM.* 59, 2425-2429.
- Kaysner, C. A., C. Abeyta, M. M. Wekell, A. DePaota, R. F. Stott and J. M. Leitch. 1987. Incidence of *Vibrio cholerae* from estuaries of the United States west coast. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1344-1348.
- 김영만, 이명숙, 장동석. 1986. 생선회에 오염된 장염비브리오균에 미치는 저장온도의 영향. *한수지.* 19, 136-140.
- 김영만, 허성호, 장동석. 1988. 어패육에서의 *Vibrio vulnificus*의 증식에 관한 연구. *한수지.* 21 (2), 80-84.
- 김영만, 신일식, 장동석. 1987. 한국 연안의 *Vibrio vulnificus*의 분포에 관한 연구. *한수지.* 20, 591-600.

- Kodama, H., Y. Gyobu, N. Tokuman, I. Okaba, H. Uetake, T. Shimada and R. Sakazaki. 1984. Ecology of non-O1 *Vibrio cholerae* in Toyama prefecture. *Microbiol. Immunol.* 28, 311-325.
- Krieg, N. R. and J. R. Holt. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A. pp. 516-550.
- Lee, J. V., D. J. Bashford, T. J. Donovan, A. L. Furniss and P. A. West. 1984. The incidence and distribution of *Vibrio cholerae* in England, *In* R. R. Colwell(ed.). *Vibrios in the environment*. John Wiley and Sons. Inc., New York. pp. 427-450.
- McIntyre, O. R., J. C. Feerey and W. B. Greenough. 1965. Diarrher caused by non-cholerae vibrios. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14, 412-441.
- 三好 伸一. 1989. ビブリオ感染症, -非消化器感染を中心に-. *J. Antibact. Antifung. Agents.* 17, 279-285.
- Morris, J. G., Jr. and R. B. Black. 1985. Cholerae and other vibrios in the United States. *N. Engl. J. Med.* 312, 343-350.
- Muramatsu, K., M. Wada, M. Kobayashi, T. Shimada and R. Sakazaki. 1981. A food-borne outbreak of infection possibly with *Vibrio cholerae* serovar 6. *J. Japan. Assoc. Infect. Dis.* 55, 1-6.
- Nishibuchi, M and R. J. Seidler. 1983. Medium-dependent production of extracellular enterotoxins by non-O1 *Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus*, and *Vibrio fluvialis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 228-231.

- O'Brien, A. D., M. E. Chen, R. K. Holmes, J. Kaper and M. M. Levine. 1984. Environmental and human isolates of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* produce a *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga)-like cytotoxin. *Lancet*. 1, 77-78.
- Ogg, J. E., R. A. Ryder and H. L. Smith, JR. 1989. Isolation of *Vibrio cholerae* from Aquatic Birds in Colorado and Utah. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 95-99.
- Pacini, F. 1855. Osservazione microscopiche e Deduzioni Pathologiche sul Cholera Asiatico. *Gezetta Medica Italiana Toscana, Firenze, Serie 2, 6*: 405-412.
- Rhodes, J. B., H. L. Smith, JR. and J. E. Ogg. 1986. Isolation of Non-O1 *Vibrio cholerae* serovars from surface waters in western Colorado. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1216-1219.
- Sanyal, S. C., M. I. Huq, P. K. B. Neogi, K. Alam, M. I. Kabir and A. S. M. H. Rahman. 1984. Experimental studies on the pathogenicity of *Vibrio mimicus* strains isolated in Bangladesh. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 62, 515-521.
- Sasagawa, I., K. Ikemura, F. Yamasaku, H. Kanai, R. Sakazaki and T. Shimada. 1980. Sporadic and collective cases of food poisoning caused by sucrose non-fermenting *Vibrio cholerae* serovar 41. *J. Jap. Assoc. Infect. Dis.* 54, 226.
- Shandera, W. X., J. M. Johnston, B. R. Davis and P. A. Blake. 1983. Disease from infection with *Vibrio mimicus*, a newly recognized

- Vibrio* species. *Ann. Inter. Med.* 99, 169-171.
- 식품위생관계법규. 1994. 지구문화사 pp. 241-289
- Smith, H. L. Jr. 1979. Serotyping of non-cholerae vibrios. *J. Clin. Microbiol.* 10, 85-90.
- 송 철, 김호훈, 강연호, 이광식, 전현수, 이재관, 오해성, 서준석. 1985. 비브리오 불니피쿠스(*Vibrio vulnificus*) 균의 분포 및 병원성에 관한 연구. 국립보건원보. 22, 79-91.
- Spira, W. M. and P. J. Fedorka-Cray. 1984. Purification of enterotoxins from *Vibrio mimicus* that appear to be identical to cholera toxin. *Infect. Immun.* 45, 679-684.
- Spira, W. M., R. R. Daniel, Q. S. Ahmed, A. Huq, A. Yusuf and D. A. Sack. 1978. Clinical features and pathogenicity of O group 1 non-agglutinating *Vibrio cholerae* and other vibrios isolated from cases of diarrhea in Dacca, Bangladesh, pp. 137-153. In U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. U.S. Cholerae Panel. NIH publication no. 80-200030. U.S. Government Printing Office, Washington. D.C.
- Tacket, C. O., F. Hickman, G. V. Pierce and L. F. Mendoza. 1982. Diarrhea associated with *Vibrio fluvialis* in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 16, 991-992.
- Tison, D. L., M. Nishibuchi, R. J. Seidler and R. J. Siebeling. 1986. Isolation of non-O1 *Vibrio cholerae* serovars from Oregon coastal environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 444-445.

- Twedt, R. M., J. M. Madden, J. M. Hunt, D. W. Francis, J. T. Peeler, A. P. Duran, W. O. Herbert, S. McCay, C. N. Roderick, G. T. Spite and T. J. Wazenski. 1981. Characterization of *Vibrio cholerae* isolated from oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 1475-1478.
- Venkateswaran, K., T. Takai, I. M. Navarro, H. Nakano, H. Hashimoto and R. J. Siebeling. 1989. Ecology of *Vibrio cholerae* Non-O1 and *Salmonella* spp. and role of zooplankton in their seasonal distribution in Fukuyama coastal water, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1591-1598.
- Yamanoi, H., K. Muroga and S. Takayashi. 1980. Physiological characteristics and pathogenicity of NAG vibrio isolated from diseased ayu. *Fish Pathol.* 15, 69-73.
- Yamamoto, K., Y. Takeda, T. Miwatani and J. P. Craig. 1983. Evidence that a non-O1 *Vibrio cholerae* produces enterotoxin that is similar but not identical to cholera enterotoxin. *Infect. Immun.* 41, 896-901.
- Yamamoto, K., M. Al-Omani, T. Honada, Y. Takeda and T. Miwatani. 1984. Non-O1 *Vibrio cholerae* hemolysin: purification, partial characterization, and immunological relatedness to El Tor hemolysin. *Infect. Immun.* 45, 192-196.
- Yamamoto, K., Y. Ichinose, N. Nakasone, M. Tanabe, M. Nagahama, J. Sakurai and M. Iwanaga. 1986. Identity of hemolysins produced by *Vibrio cholerae* non-O1 and *V. cholerae* O1, biotype El Tor. *Infect. Immun.* 51, 927-931

•

Yoh, M., T. Honda and T. Miwatani. 1986. Purification and characterization of a non-O1 *Vibrio cholerae* hemolysin that cross-reacts with thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect. Immun.* 52, 319-322.



감 사 의 글

본 연구가 이루어지기 까지 시종일관 조언과 격려로 세심한 지도를 아끼지 않으신 송대진 지도교수님께 먼저 진심으로 감사드리며, 바쁘신 가운데도 항상 따뜻한 격려와 지도를 하여 주신 김재하 학장님과 식품공학과 강영주 교수님, 김수현 교수님, 하진환 교수님, 고영환 교수님, 임상빈 교수님 그리고 부산수산대학교 류홍수 교수님께 감사드립니다.

그리고 이 실험을 위하여 성심성의껏 도와 주신 동의대학교 식품영양학과 김영만 교수님, 학위과정을 마칠 수 있도록 물심양면으로 도와 주신 군산대학교 해양산업대학 홍성근 교수님, 노석 교수님, 그리고 수산가공학과 교수님들, 헌신적으로 실험을 도와 주신 정용현, 김병곤 선생 그리고 군산대학교 실습선 405호 김진부 선생님에게도 고마운 마음을 전합니다.

또한 오랫동안 우정을 나누며 성원해 주신 김영철 사장님, 이실 소장님, 전효기 사장님과 이 기쁨을 나누고 싶습니다.

끝으로 오늘이 있기 까지 도와 주신 건이 형님 내외분과 사랑으로 지금까지 슬기롭게 뒷바라지를 하여 준 아내와 그 동안 아빠를 도와 준 문영, 마리아, 희영에게 이 영광을 돌립니다.