

Vibrio vulnificus 菌의 分布 및 細菌學의 特性

張東錫 · 申逸湜 · 崔承泰 · 金榮萬*
釜山水產大學 微生物學科 · *東義工業專門大學
(1986년 1월 10일 수리)

Distribution and Bacteriological Characteristics of *Vibrio vulnificus*

Dong-Suck CHANG, Il-Shik SHIN, Seung-Tae CHOI
Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan.
Nam-gu, Pusan 608, Korea

and

Young-Man KIM
Department of Food Processing, Dong Eui Technical Junior College
Pusanjin-gu, Pusan 601, Korea
(Received January 10, 1986)

Vibrio vulnificus is a recently recognized halophilic organism that may cause serious human infections. Patients infected with *V. vulnificus* often have a history of exposure to the sea, suggesting that the organism may be common inhabitant of marine environment.

The purpose of this experiment is to investigate the distribution and bacteriological characteristics of *V. vulnificus*.

The strain used in this experiment was isolated from sea water and sea products such as common octopus (*Octopus variabilis*), ark shell (*Anadara broughtonii*), blue crab (*Ericheir japonica*), and sea squirt (*Synthia roretzi*) collected in Pusan area from July to October in 1985.

V. vulnificus was frequently isolated in August when temperature of sea water was around 26°C and rarely isolated in October when temperature of sea water was around 18.5°C.

The distinctive biochemical characteristics of *V. vulnificus* were ONPG hydrolysis positive and fermented lactose and not grown in peptone water contained 8% NaCl.

The optical density at 660 nm of the growth of *V. vulnificus* was reached maximum level after 8 hours of culture at 35°C in brain heart infusion broth but that of *V. vulnificus* was little increased at 15°C for 14 hours.

Optimum temperature and pH for the growth of *V. vulnificus* were around 35°C and 8.0. The specific growth rate and the generation time of *V. vulnificus* isolated from the samples were 1.21 hr⁻¹, 34 min at 35°C and 0.61 hr⁻¹, 69 min at 25°C, respectively.

V. vulnificus did not grow on eosin-methylene-blue agar, salmonella-shigella agar, deoxycholate agar but grew well on Endo agar, xylose-lysine-deoxycholate agar and hektoen enteric agar. On Endo agar, the colonies of *V. vulnificus* were red and achieved a diameter of 2 to 4 mm as a feature enabling differentiation of *V. vulnificus* from other *Vibrio* spp. *V. vulnificus* grow well on TCBS agar forming green colonies.

V. vulnificus refrigerated at 4°C exhibited a linear decline of its viability as 1 log cycle in every 16 hours storage, while *V. vulnificus* freezed at -18°C almost became extinct.

緒 論

Vibrio 屬에는 *Vibrio cholera*, *Vibrio mimicus* 等 淡水由來性細菌과 *Vibrio parahaemolyticus* 와 같은 海水由來性食中毒細菌이 우리의 健康을 해치는 것으로 알려져 왔다.

그런데 여러學者들에 의해 *Vibrio parahaemolyticus* 와 비슷한 性狀을 가진 菌種에서 lactose 를 分解하고 人體에 病變을 일으키는 一羣의 *Vibrio* 菌이 報告되어 왔었다.

이 菌이 海水浴客의 皮膚傷處로 侵入하여 壞疽病을 일으킨 것이 Roland(1970)에 의해 처음 報告된 후 Farmer 와 Baumann(1979)에 의하여 *Vibrio vulnificus* 로 正式 命名된 바 있다. 그 후 계속해서 Carruthers 와 Kabat(1981), Desmond 等(1984), 坂崎利一(1982) 등이 美國과 日本 等地에서 이 菌이 檢出되고 있음을 報告한 바 있다.

특히 1985年 여름 우리나라에서 많은 問題를 일으켰던 이 菌은 好鹽性 菌으로서 1~3%의 食鹽을 包含한 培地에서 잘 자라는데 食中毒細菌인 *Vibrio parahaemolyticus* 와는 달리 食鹽耐性이 적고 여러가지 菌體外酵素를 生産하며 또 *Vibrio parahaemolyticus* 는 lactose 를 分解하지 않으나 이 菌은 lactose 를 分解하므로 lactose positive *Vibrio* 라고 부르기도 하였다. (Hollis et. al., 1976)

또한 *Vibrio parahaemolyticus* 에 의한 細菌性食中毒는 發病되더라도 數日 經過하면 完治되는 것이 보통이지만 *Vibrio vulnificus* 에 의한 *Vibrio* 敗血症은 死亡率이 상당히 높은 것으로 알려져 있다.

우리나라에서는 1979年 처음 敗血症患者가 나타났

으나 正確한 菌의 이름은 밝혀내지 못했으며 1981年 에 가서야 이 菌이 分離同定되었다. (Goo et al, 1982)

그러나 現在까지 이 菌의 分布 및 量的 檢査가 되어있지 않고 또 地域別로 海水의 汚染程度와 菌의 檢出率 等에 관한 研究는 거의 없는 實情이다.

따라서 著者들은 1次的으로 1985年 7月에서 10月 사이에 釜山地域에서 汚染度가 높은 것으로 推定되는 海水 및 沿岸海産物을 試料로 하여 *Vibrio vulnificus* 의 檢出率과 이들 試料에서 分離된 菌의 細菌學의 特性을 患者에서 分離된 菌과 比較하여 實驗한 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 試料

本實驗에 使用된 試料는 1985年 7月 부터 10月 사이에 釜山地域의 海水와 낙지(common octopus, *Octopus variabilis*), 피조개(ark shell, *Anadara broughtonii*), 게(blue crab, *Ericheir japonica*), 우렁쟁이(sea squirt, *Synthia routzi*) 등 70種을 試料로 하였다(Table 1).

2. 分離 및 同定

細菌의 分離實驗過程은 Fig.1과 같으며 Blake 등(1982)과 美國 FDA의 標準方法(1978)에 따랐다.

낙지, 피조개, 게, 우렁쟁이 등은 試料 50 g에 3% NaCl 을 含有한 滅菌磷酸緩衝稀釋水 450 ml 를 各 各 加하여 90秒間均質化하여 3% NaCl 을 含有한 1% peptone 水에서 35°C 에 18~24時間 增菌培養하여 thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar (TCBS

Table 1. List of samples examined

Data	Samples	Number of samples	pH	Temp. (°C)
Jul. 1985	Sea water	13	7.80~8.36	24.0~25.0
	Common octopus	4	6.58(Ave)	
	Ark shell	4	6.33 "	
	Blue crab	5	6.63 "	
Aug. 1985	Sea water	13	7.65~8.42	24.5~26.0
	Common octopus	4	6.61(Ave)	
	Ark shell	4	6.83 "	
	Blue crab	5	6.65 "	
Oct. 1985	Sea water	11	7.75~8.41	18.5~21.0
	Common octopus	3	6.55(Ave)	
	Ark shell	2	6.40 "	
	Sea squirt	2	6.15 "	

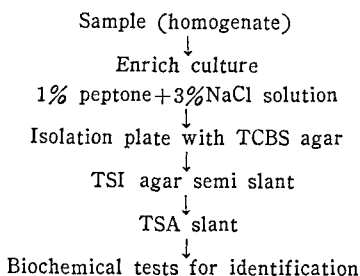


Fig. 1. Isolation scheme for *Vibrio vulnificus*.

agar)에 劃線培養(35°C 18~24時間) 하여 潤澤이 있는 典型的인 綠色集落을 따내어 triple sugar iron agar (TSI agar)에서 典型的인 反應을 나타내는 菌株을 釣菌하여 生化學試驗을 거쳐 同定하였다. 本菌의 同定은 Bergey's manual of systematic bacteriology volume 1(1984)의 分類方法을 參考로 하였다.

3. 細菌學의 特性

分離된 菌의 最適培養條件을 알기 위하여 brain heart infusion broth (BHI broth)에 菌株을 接種하여 定置 및 震盪培養을 하였다. 定置培養은 15°C, 25°C, 35°C, 40°C로 調節된 孵卵器에 各各 培養하였고 震盪培養은 같은 溫度條件에서 120 rpm으로 調節된 震盪培養器에 培養하여 Spectrophotometer (ANA-75 Tokyo Photoelectric Co.)로 660 nm에서 吸光度를 測定하였고 比增殖速度(Specific growth rate)와 平均世代時間, 그리고 菌의 最適 pH도 求하였다.

以上の 實驗에서 얻은 最適條件하에서 EMB 寒天培地, SS 寒天培地, Endo 寒天培地, XLD 寒天培地, HE 寒天培地, TCBS 寒天培地에 劃線培養하여 本菌과 비슷한 *Vibrio fluvialis*, *Vibrio parahaemolyticus* 등의 集落과 比較하였다. 對照菌株로 使用된 *V. parahaemolyticus*는 日本 東京都衛生研究所에서 분양받은 T-5531 菌株이며, *V. vulnificus*는 某大學病院에서 이 菌으로 因하여 死亡한 患者에서 分離同定된 菌株였으며 *V. fluvialis* 集落의 性狀은 Seidler 등(1980)의 報告書를 引用하였다.

冷蔵, 凍結에 대한 影響은 滅菌磷酸緩衝稀釋水에 菌을 接種하여 4°C와 -18°C에서 各各 保管하면서 72時間동안 菌數變化를 測定하였다.

結果 및 考察

1. 月別 檢出率

試驗된 試料 42種에서 菌의 月別 檢出率은 水溫이

24.5°C~26.0°C로 높았던 8月에는 26個 試料中 5個 試料에서 檢出되어 19.2%로 높은 檢出率을 나타내었으며 반면 水溫이 24.0~25.0°C인 7月에 7.7%, 18.5~21.0°C인 10月에 5.5%로 檢出되었다. 그리고 7月에서 10月사이의 平均檢出率은 11.4%였다 (Table 2).

Table 2. Detection rate of *Vibrio vulnificus* in sample collected at Pusan area from July to October in 1985

Date	Numbers of sample		
	Tested	Positive	Rate(%)
Jul.	26	2	7.7
Aug.	26	5	19.2
Oct.	18	1	5.5
Total	70	8	11.4

이 結果로 보아 9月은 10月보다 檢出率이 높을 것이라는 것을 推定할 수 있으며 7月과 8月에 檢出率이 높게 나타난 것을 볼 때 本菌의 檢出率은 海水의 溫度와 깊은 關係가 있음을 알 수 있었다.

2. 試料別 檢出率

海水, 낙지, 피조개, 게, 우렁쉥이 등에서의 檢出率은 피조개와 게에서 各各 10個試料中 2個試料가 陽性으로 가장 높게 나타났으며 낙지, 海水의 順이었다. 그리고 우렁쉥이에서는 檢出되지 않았다.

피조개와 게에서 檢出率이 높게 나타난 것은 이들의 棲息海域이 海水의 汚染度가 높고 또 汚染된 海水와의 接觸部位가 다른 試料보다 더 많기 때문으로 推定된다. 그러나 試料別 檢出率의 比較는 보다 많은 試料를 對象으로 實驗을 하여야 될 것으로 思料된다.

3. 生化學의 特徵

試料에서 分離된 菌과 患者에서 分離된 菌의 生化學의 特徵은 Table 3과 같다.

自然環境에서 分離된 菌과 患者에서 分離된 菌의 形態의인 特徵 및 生化學의 性狀의 差異點은 없었다. 本菌이 다른 *Vibrio*屬과 區別될 수 있는 가장 뚜렷한 生化學의 特徵은 젖산, ONPG 加水分解陽性이며 둘째, sucrose와 arabinose는 分解하지 못하나 lactose를 分解하며 셋째, *Vibrio parahaemolyticus*는 8%의 食鹽濃度에서도 增殖이 可能하나 *Vibrio vuln-*

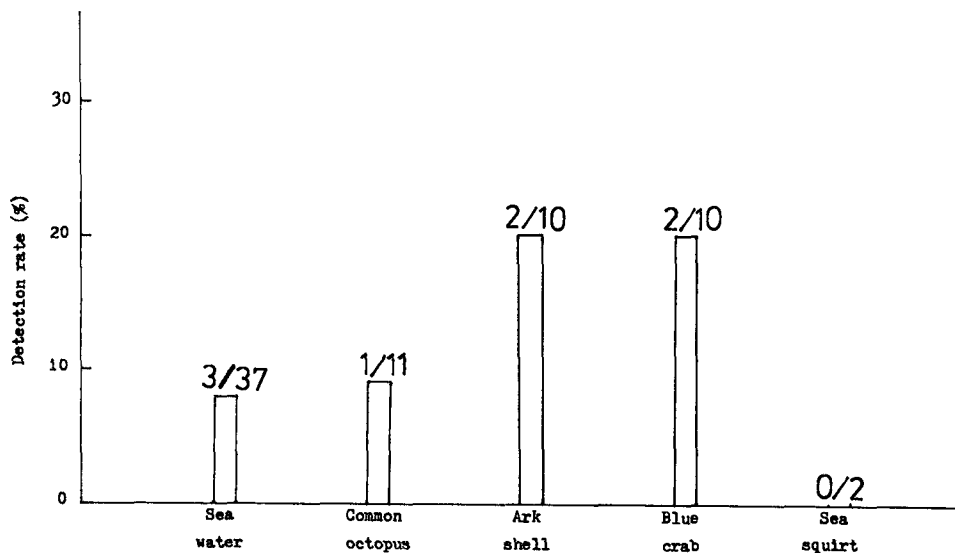


Fig. 2. Detection rate of *Vibrio vulnificus* in various samples at Pusan area from July to October in 1985.

Table 3. Characteristics of the isolated *Vibrio vulnificus*

Tested item	Specimen	
	Environment	Patient
Cell morphology	rod	rod
Gram reaction	-	-
Motility	+	+
Production of oxidase	+	+
H ₂ S	-	-
acetoin	-	-
gas from glucose	-	-
Gelatin hydrolysis	+	+
Arginine dihydrolase	-	-
Lysine decarboxylase	+	+
ONPG hydrolysis	+	+
Fermentation of glucose	+	+
lactose	+	+
arabinose	-	-
sucrose	-	-
Salt tolerance 0%	-	-
0.5%~6%	+	+
8%	-	-
Growth at 4°C	-	-
25°C	++	++
35°C	+++	+++
42°C	+	+
45°C	-	-

ficus 는 8% 이상의 食鹽濃度에서 增殖을 하지 못한 다는 점이다. Hollis 等(1976)에 의하면 *Vibrio vulni-*

ficus 가 食鹽濃度 8%에서도 100菌株 中 8菌株가 增殖하였다고 報告한 바 있으나 本 實驗에 의하면 8% 이상에서는 增殖을 하지 못하는 것으로 나타났으며 4°C 이하와 45°C 이상에서는 增殖하지 않았고 42°C 에서는 增殖을 하였다. 이 結果는 Oliver 等(1983) 이 發表한 結果와 一致하였다.

4. 細菌學의 特性

BHI broth 에 接種한 菌을 15°C, 25°C, 35°C 및 40°C에서 各各 定置 및 震盪培養하면서 培養時間에 따른 菌의 增殖을 吸光度로 測定한 結果를 Fig. 3, 4 에 나타내었다.

定置培養時 培養 5時間까지는 40°C에서 培養한 것이 35°C에서 培養한 것보다 빨리 增殖했으나 그 이후는 35°C에서 培養한 것이 40°C보다 活潑히 增殖하였으며 最大增殖值도 35°C가 1.08로 40°C의 0.90보다 높았다. 25°C에서는 誘導期는 35°C, 40°C보다 길었으나 18時間만에 35°C와 비슷한 最大增殖值를 나타내었다. 그리고 15°C에서는 20時間이 經過하여도 거의 增殖하지 않았는데 이로서 *V. vulnificus* 도 低溫感受性이 매우 큰 것을 알 수 있었다.

한편 震盪培養器에서 培養하였을때도 40°C 쪽이 培養 6時間까지는 35°C 경우보다 빨리 增殖했으나 그 이후는 35°C에서 增殖이 活潑하였으며 660 nm 에서 測定한 OD 값으로 본 最大增殖值도 1.37로 40°C의 1.31보다 더 높았다. 25°C에서도 定置培養

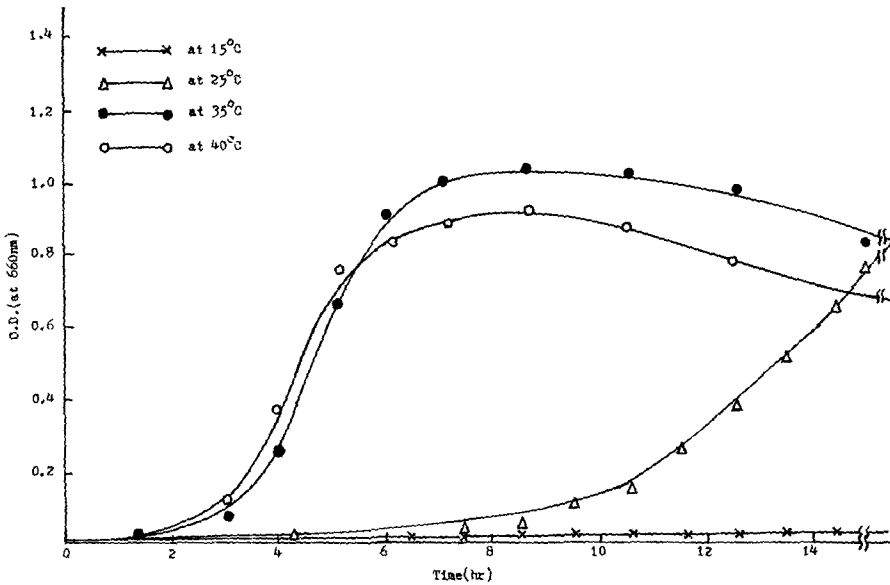


Fig. 3. Growth curve of *Vibrio vulnificus* by the temperature in BHI broth.

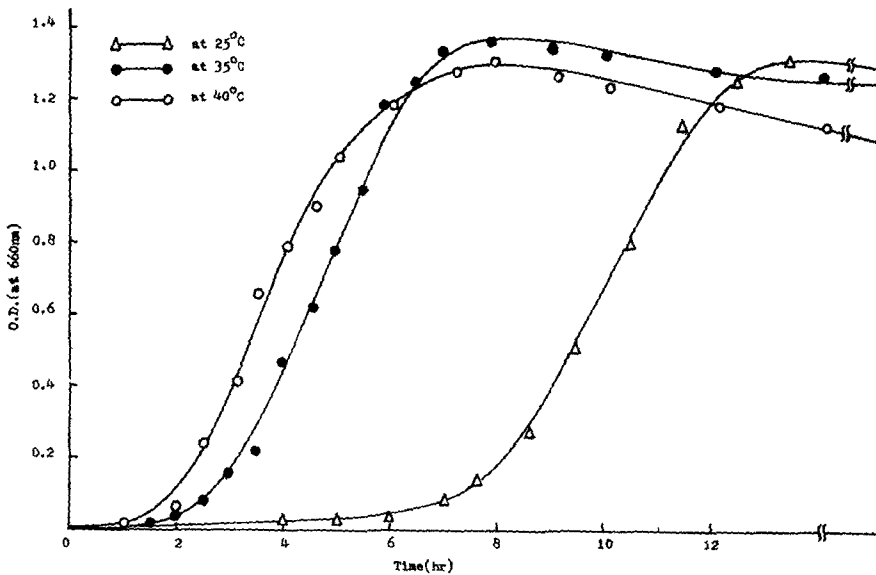


Fig. 4. Growth curve of *Vibrio vulnificus* by the temperature in BHI broth under shaking condition.

의 경우와 마찬가지로 35°C, 40°C 보다 誘導期는 길었으나 35°C 와 비슷한 最大增殖値를 나타내었다. 이상의 結果로 미루어 볼 때 震盪培養의 경우가 定置培養의 경우보다 誘導期도 짧았고 最大增殖値도

높았으며 *Vibrio vulnificus*의 最適增殖溫度가 35°C 附近임을 알 수 있었다. 이 結果는 Kelly (1982)의 研究結果와 一致하였으며 또한 25°C 에서도 잘 增殖하는 것으로 보아 本菌의 增殖溫度範圍가 비교적 넓

은 條件이며 우리나라 여름철 沿岸海水의 溫度가 25°C에서 30°C에 가깝다는 것을 勘案한다면 [本菌이 여름철 海水中에서 增殖이 活發하다고 推定할 수 있다.

그리고 各 溫度別로 培養時間과 菌數와의 關係式에서 比增殖速度(hr^{-1})와 平均世代時間 (min)을 Table 4에 나타내었다. 35°C에서 震盪培養하였을 때

Table 4. Cultural characteristics of *Vibrio vulnificus* isolated from the samples

Temp. (°C)	Specific growth rate (hr^{-1})	Generation time (min)
25	0.34	124
25*	0.61	69
35	1.01	41
35*	1.21	34
40	0.86	48

*; shaking culture

가 比增殖速度와 平均世代時間이 $1.21hr^{-1}$, 34分으로 가장 빨랐고 35°C 定置培養, 40°C 定置培養 25°C 震盪培養, 25°C 定置培養의 順으로 나타났으며 25°C에서는 震盪培養이 定置培養에 비해 比增殖速度와 平均世代時間이 약 2倍 가량 빨랐다.

이 結果로 미루어보아 定置培養보다 震盪培養이 菌의 增殖을 더 活發히 하였고 가장 빠른 平均世代時間은 35°C의 34分으로 一般腸內細菌의 平均世代時間인 20分에 비해 조금 긴 것을 알 수 있었다.

本菌의 增殖에 대한 pH의 影響은 Fig. 5에 나타내었다. pH 4 이하에서는 本菌은 增殖하지 않았으며

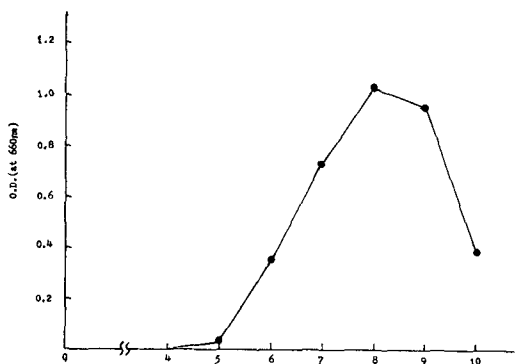


Fig. 5. Effect of pH on the growth of *Vibrio vulnificus*.

pH 8에서 가장 높은 增殖値를 나타내었다. 이 結果는, 우리나라 沿岸海水의 pH가 7.65~8.42 임을 勘案한다면 海水가 本菌의 增殖에 適合한 pH 條件임을

보여준다.

5. 寒天培地上에서 集落의 特徵

本菌을 여러가지 腸內細菌分離培地에 培養하였을 때 集落의 特徵을 *V. parahaemolyticus* *V. fluvialis*와 比較實驗하였다(Table 5).

*V. vulnificus*는 Endo, XLD, HE 寒天培地에서 똑 같이 잘 자랐으나 *V. fluvialis*와 *V. parahaemolyticus*는 HE 寒天培地에서 제일 잘 자랐다.

MC 寒天培地에서 大腸菌은 典型的인 赤色の 集落을 나타내는데 반하여 *V. fluvialis*와 *V. parahaemolyticus*는 無色이었고 *V. vulnificus*는 lactose를 分解하는 速度에 따라 赤色 혹은 無色으로 나타났으며 Endo 寒天培地에서는 *V. fluvialis*와 *V. parahaemolyticus*는 48時間 培養後 粉紅色 集落이었으나 *V. vulnificus*는 赤色集落을 나타내었다. XLD 寒天培地에서는 *V. fluvialis*는 黃色集落으로 나타났으나 *V. vulnificus*는 *V. parahaemolyticus*와 同一하게 분홍색集落으로 나타나 區別이 困難했다.

Vibrio 菌의 分離培地인 TCBS 寒天培地에서는 細菌이 다 잘 자랐으나 *V. fluvialis*는 黃色集落으로 나타났고 *V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus*는 綠色集落으로 나타났으며 *V. vulnificus*의 集落이 *V. parahaemolyticus*의 集落보다 直徑이 작았으며 粘性이 없었다.

6. 冷蔵 및 凍結에 의한 影響

*V. vulnificus*에 대한 冷蔵(4°C) 및 凍結(-18°C)의 影響을 調査한 結果는 Fig. 6과 같다.

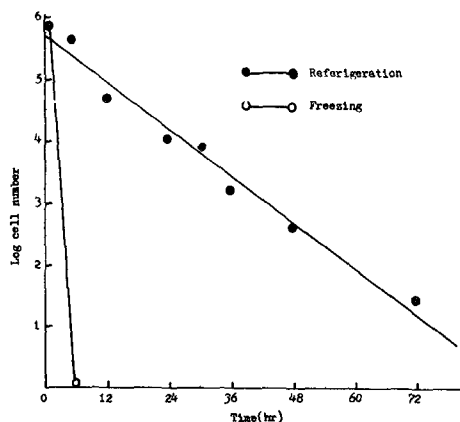


Fig. 6. Effect of refrigeration (at 4°C) and freezing (at -18°C) on the growth of *Vibrio vulnificus*.

Table 5. Growth of *Vibrio vulnificus* on various agar medium

Agar	Growth(size[mm] color of colonies)					
	<i>Vibrio fluvialis</i>		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		<i>Vibrio vulnificus</i>	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
EMB	NG ^a	NG (pin point)	NG	NG	NG	NG
SS	<1. mm (Pin point) Pink colonies	1-2, Pink	NG	NG	NG	NG
DC	2-3, Colorless	3-4, Light pink	NG	NG	NG	NG
MC	2, Colorless	4, Colorless	2, Colorless	4, Colorless	1-2, Colorless	2-4, Red or colorless ^b
Endo	1-2, Colorless	3, Pink	1, Colorless	2-3, Pink	Pin point	2-4Red
XLD	2-3, Yellow	3-4, Pink or yellow	1-2, Pink	3-4, Pink		3-4, Pink
HE	2-3, Yellow- orange	4-5, Yellow- orange	2-3, Green with dark- green centers	4-5, Green with dark- green centers	1-2, Green with dark- green center	3-4, Green with dark- green center ^c
TCBS	2-3, Light yellow	4-5, Yellow	1-2, Green	2-3, Green	1-2, Green	2-3, Green

a NG, no growth.

b Varies according to rapidity of lactose fermentation.

c Sucrose-positive strains form yellow colonies.

-18°C로 凍結했을 경우는 거의 다 死滅하였으며 4°C에서의 冷蔵은 最初菌數를 10⁶/ml로 接種하여 實驗한 結果 24時間後에 10⁴/ml, 48時間後에 10²/ml, 72時間後에 10¹/ml까지 顯著하게 減少하였다.

이 結果로 부터 4°C 冷蔵에서 時間과 菌數와의 關係를 線形回歸直線으로 나타내었을때 그 式은

$$\log y = 5.5379 - 0.0601x$$

x; 時間(hr)

y; 殘存菌數

였으며 相關係數(r)은 0.9687이었다.

이상의 結果로 볼때 *V. vulnificus*는 4°C에 貯藏하였을때는 每 16時間마다 약 1 log cycle씩 減少함을 알 수 있었으며 여름철 이 菌으로 因한 事故를 막기 위해서는 低溫貯藏이 다른 菌에 비하여 그 效果가 대단히 크다는 것을 알 수 있었다. 또 이는 Oliver (1981)가 報告한 結果와도 類似한 傾向을 나타내었다.

要 約

1985年 7月에서 10月 사이에 釜山沿岸地域에서 蒐集한 海水, 낙지, 피조개, 게, 우렁쟁이 등 70種의

試料에서 *Vibrio vulnificus*의 檢出率과 試料에서 分離된 菌의 細菌學的 特性을 調査한 結果는 다음과 같다.

1. *Vibrio vulnificus*의 月別 檢出率은 水溫이 높은 8月에 19.2%로 가장 높았으며 7月에 7.7% 10월에 5.5%로 水溫과 比例하여 나타났으며 7月과 10月 사이의 平均檢出率은 11.4%였다.

試料別 檢出率은 棲息海域의 汚染度가 높고 汚染된 海水와의 接觸部位가 많은 피조개와 게에서 20%로 가장 높았으며 낙지 海水의 順으로 나타났다.

2. 試料에서 分離된 菌과 患者에게 分離된 菌의 生化學的인 差異點은 없었으며, 分離된 本菌이 다른 *Vibrio* 菌과 區別될 수 있는 生化學的 特徵은 ONPG 加水分解陽性, lactose 分解陽性, 食鹽耐性이 7% 이하인 점이다.

3. 이 菌의 最適培養條件은 pH 8.0, 溫度 35°C 附近이었으며, 培養溫度別 比增殖速度와 平均世代時間은 35°C 震盪培養에서 1.21hr⁻¹, 34 min으로 가장 빨랐으며 35°C 定置培養, 40°C 定置培養, 25°C 震盪培養 25°C 定置培養의 順이었다.

4. 이 菌은 腸內細菌分離用培地인 EMB, SS, DC 寒天培地에서는 增殖하지 못했으며 MC 寒天培地上

에서의 集落의 特徵은 赤色 혹은 無色으로 나타났고 Endo 寒天培地上에서는 赤色, TCBS 寒天培地上에서는 綠色集落으로 나타났다.

5. 이 菌을 4°C에 冷蔵하였을 경우 每 16時間마다 約 1 log cycle씩 減少하였으며 -18°C에 凍結하였을 때는 거의 다 死滅하였다.

文 獻

- Bauman, P. L., S. S. Baumann and M. J. Woolklis. 1980. Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia*, and photobacterium abolition of the genus Beneckeia. *Curr. Microbiol.* 4, 127—132.
- Carruthers, M. M. and W. J. Kabat. 1981. *Vibrio vulnificus* (Lactose-positive *Vibrio*) and *Vibrio parahaemolyticus* differ in their susceptibilities to human serum. *Immun.* 32, 964—966.
- Davis, J. W. and R. K. Sizemore. 1982. Incidence of *Vibrio* species associated blue crabs (*Callinectes sapidus*) collected from Galveson bay, Texas. *Appl. Microbiol.* 43, 1092—1097.
- Department of Health Education and Welfare. 1978. *Bacteriological analytical manual*, 5th ed., F. D. A., Division of Microbiology Bureau of Foods, Washington D. C. 20204 U. S. A. IX-1—IX-13.
- Desmond, E. P., J. M. Janda, F. I. Adams and E. J. Bottone. 1984. Comparative studies and laboratory diagnosis of *Vibrio vulnificus*, an invasive *Vibrio* sp. *J. Clin. Microbiol.* 19, 122—125.
- 坂崎利一. 1982. 食品と病原ビガリオ. *メテイヤサークル*. 27, 7—12.
- Goo, J. S., D. W. Kim, K. S. Han, J. S. Suk, M. H. Park and S. I. Kim. 1982. Lactose fermenting (*Vibrio vulnificus*) septicemia. *K. J. P.* 16, 463—469.
- Hollis, D. G., R. E. Weaver, C. N. Baker and C. Thornaberry. 1976. Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 3, 425—431.
- Johnson, D. E., F. M. Calia, D. M. Musher and A. Goree. 1984. Resistance of *Vibrio vulnificus* to serum bactericidal and opsonizing factors: Relation to virulence in suckling mice and humans. *J. Infect. Diseases.* 150, 413—418.
- Kelly, M. T. 1982. Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckeia) vulnificus* occurrence in a gulf coast environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 820—824.
- Kim, H. O., C. H. Rhim, Y. S. Lee, J. Y. Jeon and J. K. Kang. 1984. Four cases of *Vibrio vulnificus* septicemia, including two misidentified cases as *Aeromonas hydrophila* infection. *K. J. C. P.* 4, 115—122.
- Kreger, A., L. DeChatelet and P. Shirley. 1981. Interaction of *Vibrio vulnificus* with human polymorphonuclear leukocytes: association of virulence with resistance to phagocytosis. *J. Infect. Diseases.* 144, 244—248.
- Krieg, N. B. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology volume 1*. Williams and Wilkins Co., 516—539.
- Mertens, A., J. Nagler, W. Hansen and E. Gepts-Friedenreth. 1979. Halophilic, lactose-positive *Vibrio* in a case of fatal septicemia. *J. Clin. Microbiol.* 9, 233—235.
- Oliver, J. D. 1981. Lethal cold stress of *Vibrio vulnificus* in oysters. *Appl. and Environ. Microbiol.* 41, 710—717.
- Oliver, J. D., R. A. Warner and D. R. Cleland. 1982. Distribution and ecology of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting marine *Vibrios* in coastal waters of the southeastern United States. *Appl. and Environ. Microbiol.* 44, 1404—1414.
- Oliver, J. D., R. A. Warner and D. R. Cleland. 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose fermenting *Vibrios* in the marine environment. *Appl. and Environ. Microbiol.* 45, 985—998.
- Seidler, R. J., D. A. Allen, R. R. Colwell, S. W. Joseph, O. P. Daily. 1980. Biochemical characteristics and Virulence of environmental group F bacteria isolated in the United States. *Appl. and Environ. Microbiol.* 40, 715—720.
- Schandevyl, P., E. V. Dyck and P. Piot. 1984. Halophilic *Vibrio* species from seafish in

- Senegal. Appl. and Environ. Microbiol. 48, 236—238.
- Smith, G. C. and J. R. Merkel. 1982. Collagenolytic activity of *Vibrio vulnificus*: potential contribution to its invasiveness. Infect. Immun. 35 1155—1156.
- Tamplin, M., G. E. Rodrick, N. J. Blake and T. Cuba. 1982. Isolation and characterization of *Vibrio vulnificus* from two Florida estuaries. Appl. and Environ. Microbiol. 44, 1466—1470.
- Tison, D. L., M. Nishibuchi, J. D. Greenwood and R. J. Seidler. 1982. *Vibrio vulnificus* biogroup 2: new biogroup pathogenic for eels. Appl. and Environ. Microbiol. 44. 640—646.
- Tison, J. Greenwood, M. Nishibuchi and R. J. Seidler. 1981. Molecular taxonomy of lactose fermenting *Vibrios*. Dept. Microbiol. Oregon State Univ. Corvallis, OR 97331.