

염도와 수온의 변화가 *Vibrio vulnificus*의 생존에 미치는 영향

김영만 · 권지영
동의대학교 식품영양학과

Effects of Salinity and Temperature on the Survival of *Vibrio vulnificus*

Young-Man Kim and Ji-Young Kwon

Department of Food Science and Nutrition, Dong-eui University, Pusan 614-714, Korea

Vibrio vulnificus is a gram-negative, halophilic, oxidase-positive, lactose-positive, motile, rod shaped bacterium that has been associated with primary septicemia and wound infection. Elucidating the growth and survival of *V. vulnificus* in ecological conditions is of great importance to develop sanitary measure against this microorganism. Thus we simulated the ecological conditions and evaluated the effect. About 10^5 CFU/ml of *V. vulnificus* was inoculated to fresh water, brackish water (1% NaCl), sea water (3% NaCl), and bottom deposit solution. The same concentration of *V. vulnificus* was also inoculated to distilled water, 1% NaCl solution and 3% NaCl solution as controls.

These were stored at 4, 15 and 25°C, respectively and were used to assess the effects of temperature and salinity on the survival of *V. vulnificus*. In fresh water *V. vulnificus* could not survive regardless of storage temperature. In case of brackish water and sea water survival time of *V. vulnificus* was the longest at 25°C, and the number of *V. vulnificus* was decreased most rapidly at 4°C. *V. vulnificus* survived longer in brackish water than in any other conditions. In bottom deposit solution containing brackish water, the survival time of *V. vulnificus* was longer and the rate of decline was slower than that in brackish water. These results indicate that both biological and physicochemical factors such as temperature and salinity could affect survival of *V. vulnificus*. *V. vulnificus*, damaged in normal fresh water, did not grow on TCBS agar of selective plating medium but grew on BHI agar plate; however, *V. vulnificus* was recovered by addition of salt and nutrient materials.

Key words : *Vibrio vulnificus*, salinity, water temperature

서 론

*Vibrio vulnificus*는 굴, 대합 및 피조개 등의 조개류와 생선 뿐만 아니라 펄과 플랑크톤에서도 분리된 바 있으며 (Oliver et al., 1982 ; Oliver et al., 1983 ; Tamplin et al., 1982 ; Kaysner et al., 1987 ; O'Neill et al., 1992), 소장염 환자의 혈액 (Mertens et al., 1979), 익사체의 허파와 자궁내막염 등의 환자에서도 분리되는 것으로 볼 때 해수와의 접촉, 수산물의 생식과 연관되어 소화기뿐만 아니라 다른 신체 부위에도 감염증을 일으키는 병원성 균으로 알려지고 있다 (Tison and Kelly, 1984).

Blake et al. (1980)은 식중독 뿐만 아니라 패혈증 및 피부장해를 나타내는 환자의 혈액에서도 *V. vulnificus*를 분리하여 이 균에 의한 감염증을 감염경로에 따라서 창상과 경구감염의 두 가지 형태가 있다고 보고하였다.

이 균은 수온이 20°C 이상이고 염도가 낮은 해역에서 빈번하게 검출되었다 (Kelly, 1982 ; Kelly and Dinuzzo, 1982). 또한 환경 분리균과 환자 분리균의 세균학적 특

성이나 항생제 감수성 그리고 치사 독성에 대한 차이는 없는 것으로 보고되어 있다 (Tison and Kelly, 1986 ; Kaysner et al., 1987 ; Chang et al., 1986 ; Kim, 1989).

Chang et al. (1986)은 *V. vulnificus*의 분포와 세균학적 특성을 구명하기 위하여 부산 지역의 해수와 해산물을 대상으로 실험한 결과, 수온이 26°C인 8월에 빈번하게 검출되었으며 *V. vulnificus*가 가장 잘 성장하는 최적 온도와 pH는 35°C와 8.0이라고 하였다.

Kim et al. (1987)이 한국 연안의 *V. vulnificus* 분포를 조사한 결과에 의하면 해수는 외항수보다 내항수에서, 시기 별로는 수온이 높은 7~10월에 균이 많이 검출되었으며, 지역 별로는 동해안이나 남해안에 비하여 염도가 낮은 서해안에서 검출율이 높게 나타났다. 특히 군산 인근은 여름철 수온이 20°C 이상이고 바다와 하천이 합류되어 염도가 낮고 수심이 얕으며 펄과 유기물질의 유입이 많은 지역이므로 *V. vulnificus* 검출율 (67%)이 높다고 알려져 있다 (Kim et al., 1987 ; Chang et al., 1993 ; Yang et al., 1995).

해산물을 생식하는 식습관을 가지고 있는 우리나라에서는 여름철에 이 균에 오염된 생선회를 먹고 패혈증을 일으켜 사망하는 사건이 매년 발생하여 주목받고 있음에도 불구하고 *V. vulnificus*의 생태에 대한 연구 자료는 부족한 실정이다. 그러므로 수산식품으로 인한 식중독 사고 예방과 그 위생 대책을 수립하는데 필요한 자료로서 이 균의 생태를 정확히 파악하여 패혈증에 관한 적절한 대책을 세운다면 국민 보건 향상에 기여할 것으로 기대된다. 따라서, 본 연구에서는 *V. vulnificus*의 생존에 크게 영향을 미칠 것으로 추측되는 염도와 수온의 변화에 따른 균의 생존력을 TCBS 평판배지와 선택성이 없는 BHI 평판배지를 이용하여 비교 검토 하였다.

재료 및 방법

1. 실험에 사용한 균주

*Vibrio*패혈증으로 사망한 환자에서 분리한 균주로 인제대학교 부속 백병원 병리실험실에서 분양 받아 사용하였다.

2. 실험에 사용한 물

실험에 사용한 담수는 낙동강 하류의 물금 취수장에서, 해수는 경상남도 기장군 앞 바다에서 채수하여 사용하였다.

담수, 기수 및 해수는 사용전 membrane filter (0.8 μ m pore size)로 여과하여 TCBS (Thiosulfate citrate bile salt sucrose, Difco Co., USA) 평판배지에서 녹색 colony와 BHI (Brain heart infusion broth) 평판배지에서 전형적인 유백색 colony가 나오지 않는 것을 확인한 후 실험에 사용하였다.

실험에 사용한 담수와 해수에 대한 수질검사는 음용수의 수질기준 등에 관한 규칙의 음용수 수질검사 방법 (식품위생관계법규, 1995)에 준하여 실시하였고, 담수는 3급수, 해수는 2급수 수준이었다.

기수는 여과한 담수와 해수를 염도 1%가 되도록 섞어서 사용하였다. 그리고 각각의 control로는 증류수와 1과 3% NaCl 용액을 멸균하여 사용하였다.

3. 실험에 사용한 뱀

실험에 사용한 뱀은 1993년 3월 26일부터 1994년 2월 24일 사이에 금강하구에서 채취한 뱀 중에서 *V. vulnificus*가 검출되었던 것을 선정하여 뱀과 기수의 비율을 1 : 3 으로 섞어서 멸균하여 사용하였다.

4. 수온, 염도 및 pH 측정

수온과 염도는 temperature-salinity-conductivity meter (YSI Co., SCT-33, USA)로 측정하였고, pH는 pH Boy-C1 (Shindengen Co., SU-08, Japan)으로 측정하였다.

5. 염도와 수온의 변화에 따른 균수 변화 측정

*V. vulnificus*를 BHI broth에 배양한 후 대수증식기 중기의 균을 원심 분리하여 균체를 모아 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.5, 1% NaCl)로 2회 세정한 다음 PBS 90 ml에 현탁하였다.

이 현탁액을 원시료로 하여 희석 단계 10^{-2} 까지 희석한 후 이것을 여과한 담수 (0% NaCl), 기수 (1% NaCl) 및 해수 (3% NaCl)와 각각의 control인 증류수, 1과 3% NaCl 용액 그리고 뱀 용액에 최초 균수를 약 10^5 CFU/ml 접종하여 4, 15 및 25°C에 저장하면서 시간에 따른 균수의 변화를 측정하였다.

균수의 측정은 10배수로 단계별 희석한 후 TCBS 평판배지와 BHI 평판배지를 이용하여 표면도말법으로 측정하였다.

6. 손상된 *V. vulnificus*에 대한 염의 영향

담수 속에서 손상된 *V. vulnificus*에 있어서 염의 첨가로 인한 회복 여부를 알아 보기 위하여 *V. vulnificus* 배양액을 원심분리한 후 PBS로 2회 세정하여 모은 균체를 membrane filter로 여과한 담수에 최초 균수를 10^5 CFU/ml 정도 접종하여 실온에 방치하면서 2시간 간격으로 TCBS와 BHI 평판배지에 표면도말하여 균수 변화를 측정하였다.

균수 측정 결과를 토대로 BHI 평판배지에서는 균이 검출 되었으나 TCBS 평판배지에서는 균이 검출되지 않았던 시료를 다시 원심 분리하여 균을 회수하였다. 이렇게 회수한 균을 1과 3% NaCl 용액에 접종한 후 TCBS와 BHI 평판배지에 표면도말하여 균수 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 균의 생존력에 대한 염도와 수온의 영향

1) 담수에서 수온의 변화에 따른 균수 변화

*V. vulnificus*의 최초 균수가 약 10^5 CFU/ml되도록 접종하여 4, 15 및 25°C에서 시간에 따른 균수의 변화를 측정한 결과는 Fig. 1, 2, 3과 같다.

4°C에서는 TCBS 평판배지로 측정된 결과 담수와 control인 증류수에 균을 접종한 후 30분만에 검출되지 않았으나, BHI 한천 평판 배지에서는 증류수에서 2시간 동안,

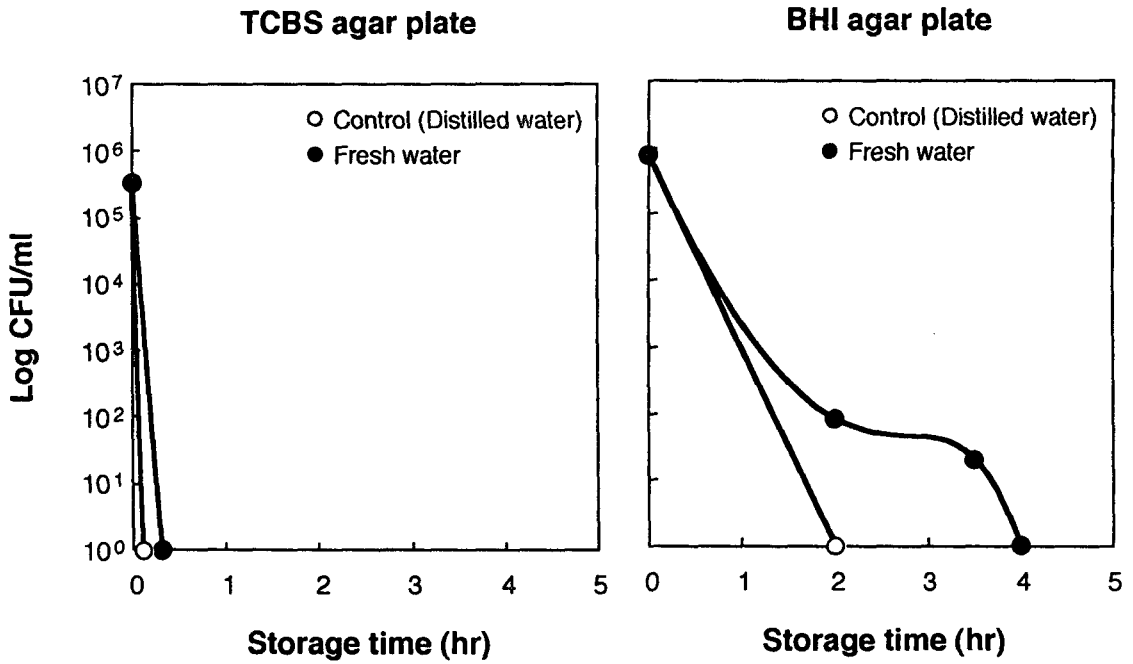


Fig. 1. Survival of *V. vulnificus* in fresh water stored at 4°C.

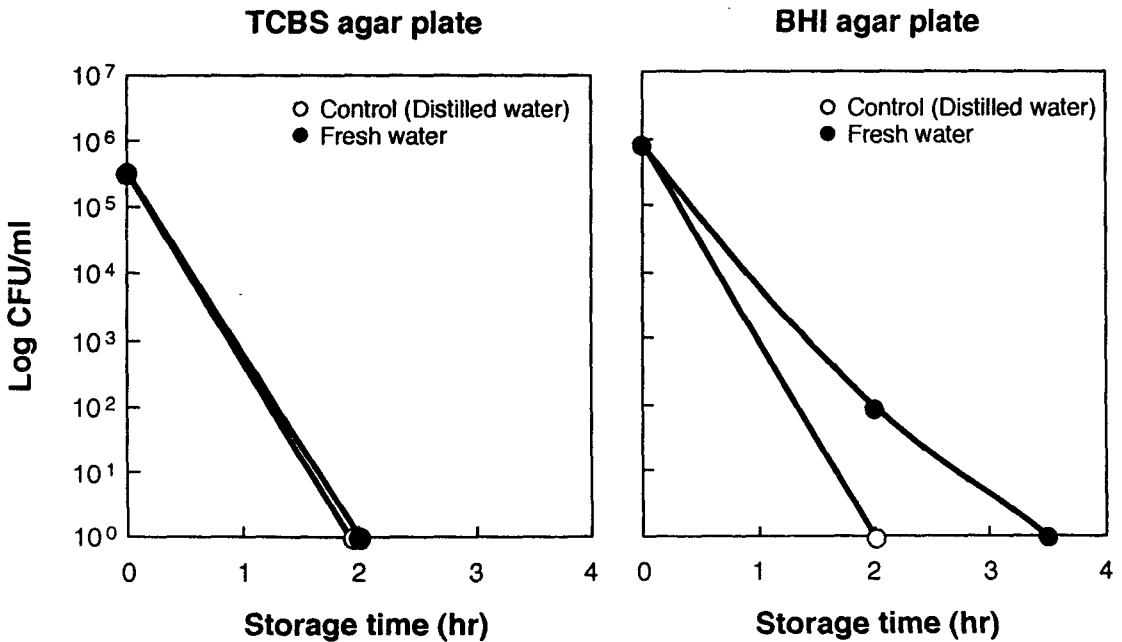


Fig. 2. Survival of *V. vulnificus* in fresh water stored at 15°C.

담수에서 4시간 동안 균이 생존한 것으로 나타났다 (Fig. 1).

15°C에서는 TCBS 평판배지로 측정된 결과 담수와 control에서 2시간 후부터 균이 검출되지 않았고 BHI 평판

배지에서는 담수의 경우 저장 2시간 경과 후에 4 log cycle 정도 감소하여 3시간 30분 후, control에서는 2시간 후에 균이 검출되지 않았다 (Fig. 2).

28°C에서 TCBS 평판배지로 측정된 결과는 4°C의 실

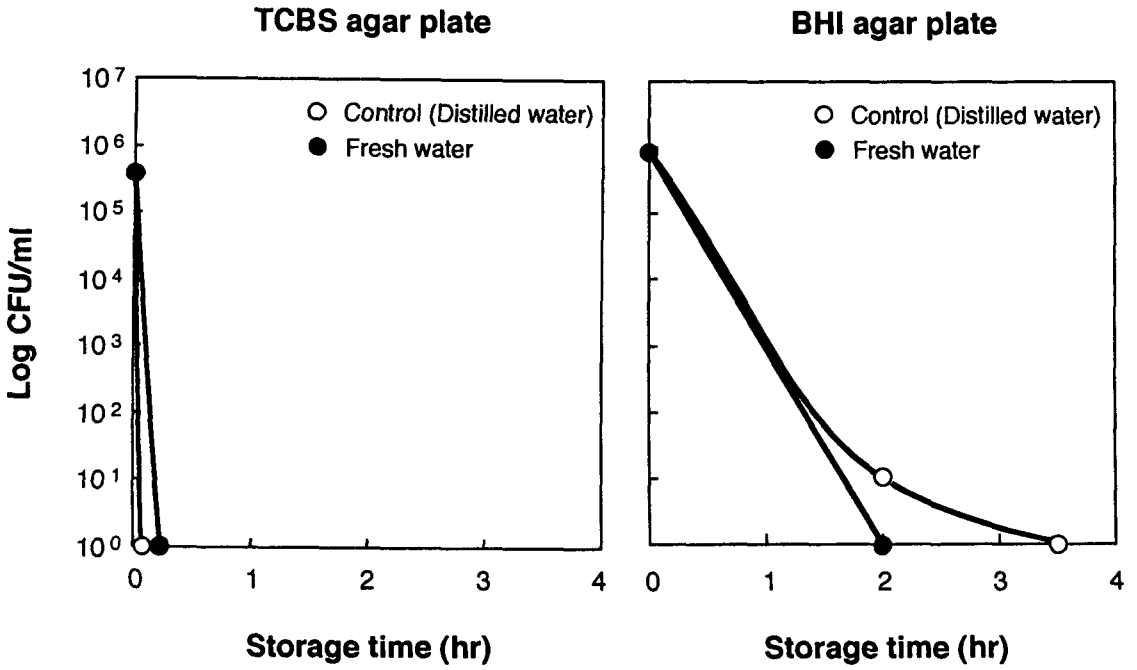


Fig. 3. Survival of *V. vulnificus* in fresh water stored at 25°C.

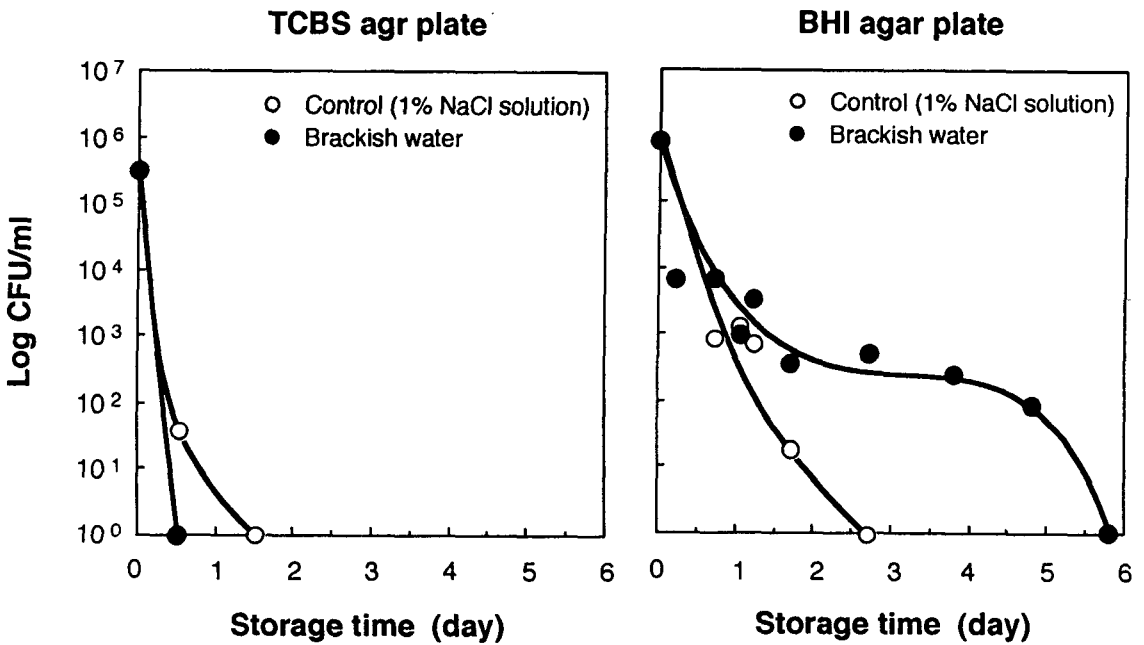


Fig. 4. Survival of *V. vulnificus* in brackish water stored at 4°C.

험결과와 같았고 BHI 평판배지로 측정된 결과 담수에서 2시간, control에서는 3시간 30분까지 균이 검출되어 4°C, 15°C와는 달리 control인 증류수에서 생존시간이 길었다 (Fig. 3).

이상의 결과로 볼 때 *V. vulnificus*는 담수에서 그 적응력이 매우 약할 뿐만 아니라 균체는 손상을 받는 것으로 추정되며 이러한 결과는 O'Neill et al. (1992)이 강 상류의 담수 지역에서 *V. vulnificus*가 검출되지 않았다고 하

는 보고와 염이 없는 deionized water에서는 lysis에 의해 균의 생존이 불가능하다는 Kaspar et al. (1993)의 보고와도 같은 경향을 나타내는 것이다. 그리고 염이 없는 담수 속에서 *V. vulnificus*는 빠르게 불활성화되기 때문에 온

도 변화에 따른 생존력의 비교는 의미가 없을 것으로 사료된다.

2) 기수에서 수온의 변화에 따른 균수 변화
기수와 control에 최초균수를 약 10^5 CFU/ml 접종하여

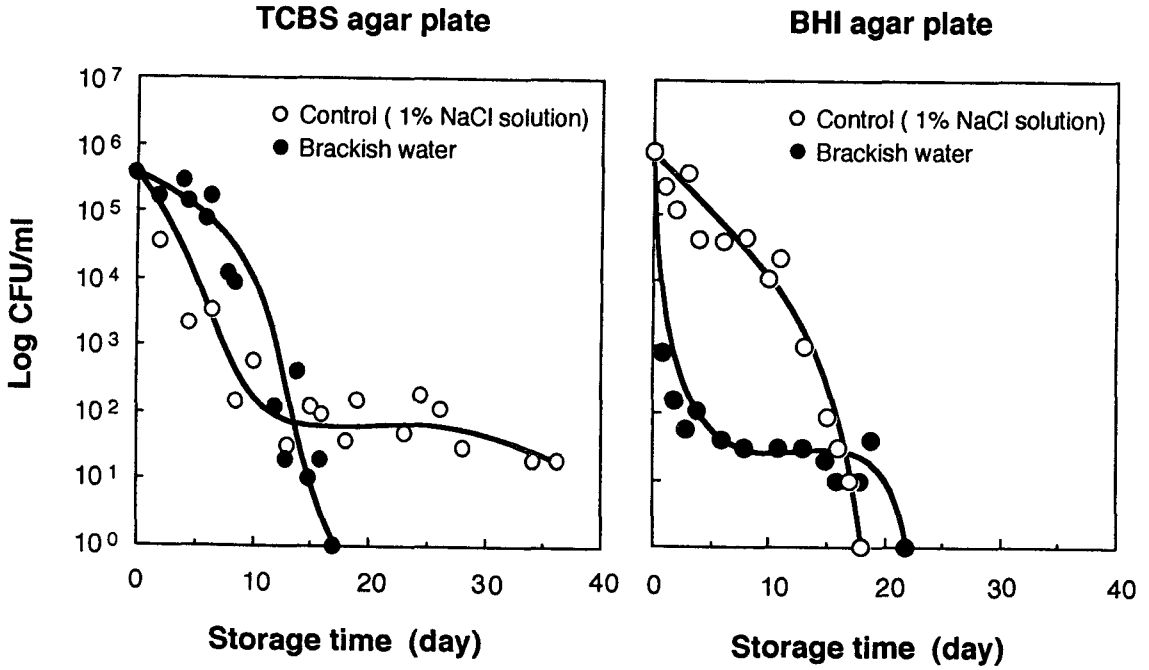


Fig. 5. Survival of *V. vulnificus* in brackish water stored at 15°C.

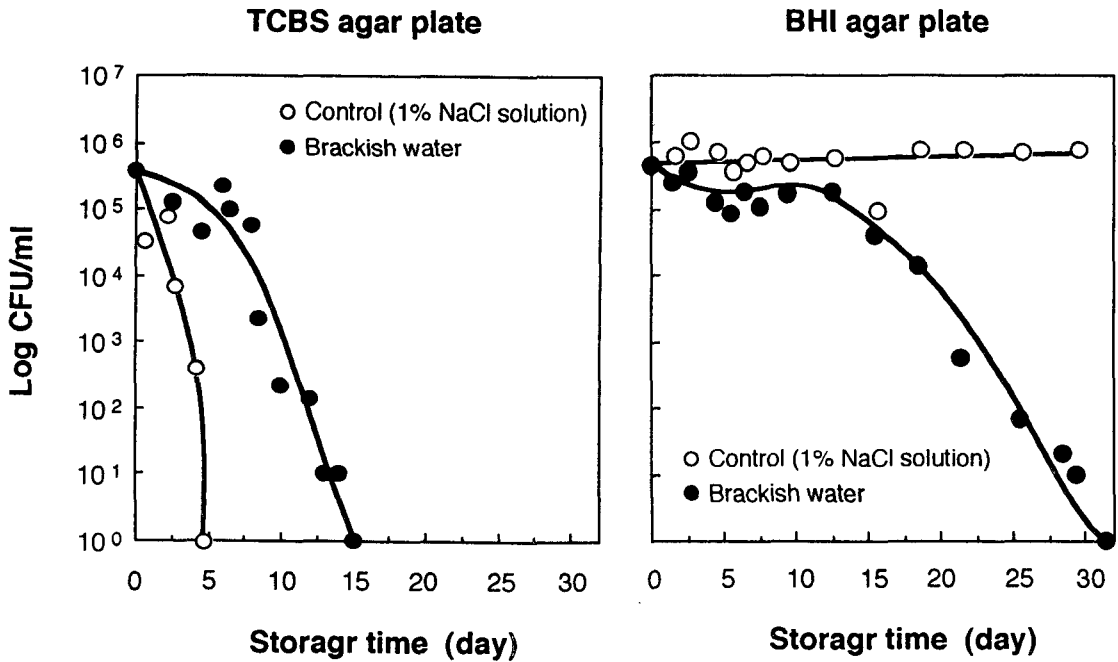


Fig. 6. Survival of *V. vulnificus* in brackish water stored at 25°C.

4, 15 및 25°C에서 저장하면서 시간에 따른 균수 변화를 측정하는 결과는 Fig. 4, 5, 6에 나타내었다.

control에서는 36시간 동안 균이 생존한 것으로 나타났고, BHI 평판배지로 균수를 측정하는 결과 6일간, control에서는 3일간 생존하였다 (Fig. 4).

4°C에서 TCBS 평판배지로 측정하는 결과 12시간 동안,

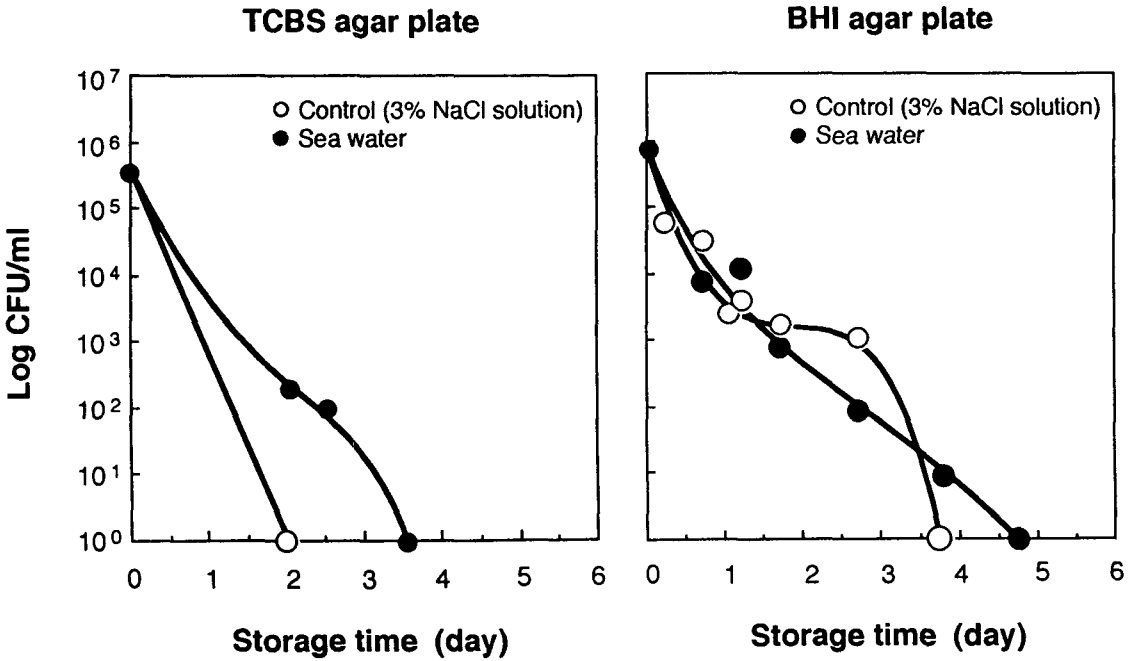


Fig. 7. Survival of *V. vulnificus* in sea water stored at 4°C.

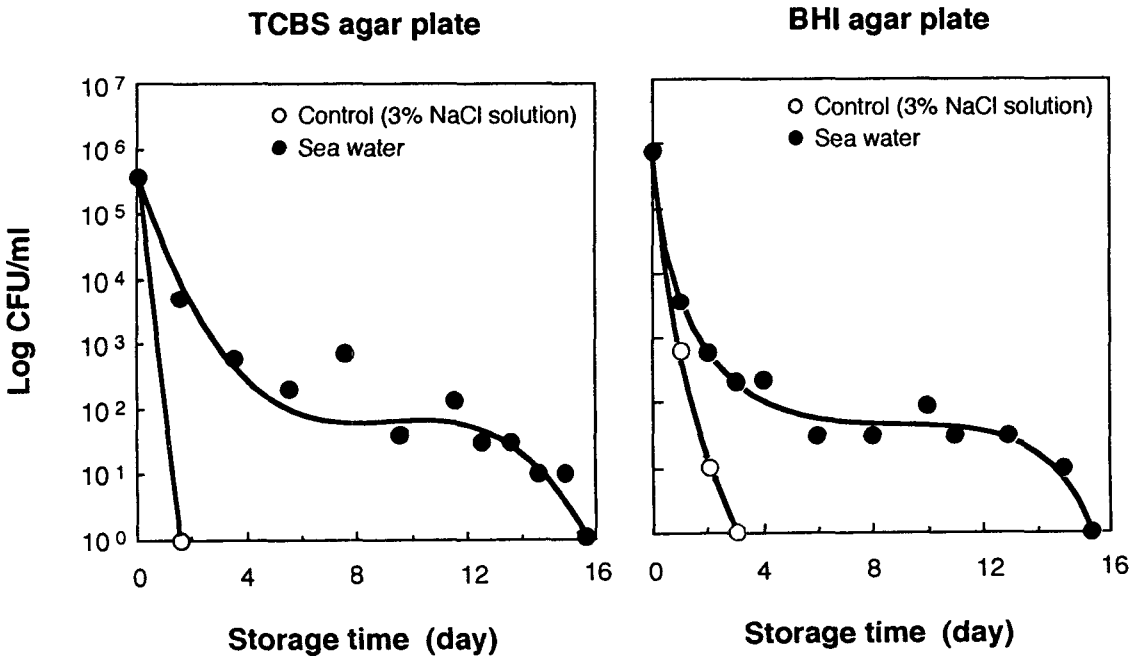


Fig. 8. Survival of *V. vulnificus* in sea water stored at 15°C.

15°C에서 TCBS 평판배지로 측정된 결과, 20일에 균이 검출되지 않은 반면 control에서는 35일 경과 후에도 20 CFU/ml 정도 균이 생존한 것으로 나타나 control에서 균의 저항력이나 안정성이 높은 것으로 사료되어진다. 그러나 BHI 평판배지로 측정된 결과는 22일간, control에서는 18일간 균이 생존하여 TCBS 평판배지로 균수를 측정된 결과와는 차이가 있었다. 또한 TCBS 평판배지로 이 부분을 재 검토한 결과, 실험할 때마다 결과의 편차가 크게 나타난 것으로 볼 때 균의 생존기간은 수질조건의 미세한 변화에도 영향을 받는 것으로 추정되며 약 20일간은 생존이 가능하다고 사료된다 (Fig. 5).

25°C에서 TCBS 평판배지로 측정된 결과 15일간, control에서는 5일간 균이 생존한 것으로 나타났고 BHI 평판배지로 균수를 측정된 결과 15일 이전까지 높은 잔존율을 나타내었으나 15일을 기점으로 감소하기 시작하여 30일 경과 후 균이 검출되지 않은 반면에 control에서는 30일까지도 높은 잔존율을 나타내었다 (Fig. 6).

이상 기수에서는 담수에서보다 균의 생존기간이 길었고 잔존균수도 높았으며, 담수와는 달리 온도가 높을수록 균의 적응력도 높아서 온도에 따른 영향이 큰 것으로 나타났다. 그리고 온도가 높을수록 기수보다 control에서 균의 안정성이 높은 것으로 나타났다.

3) 해수에서 수온의 변화에 따른 균수 변화

해수와 control에 최초 균수를 약 10⁶ CFU/ml 접종하여 4, 15 및 25°C에서 저장하면서 시간에 따른 균수 변화를 살펴본 결과는 Fig. 7, 8, 9와 같다.

4°C에서 TCBS 평판배지로 측정된 결과 3.5일에 control에서는 2일 후에 균이 검출되지 않았으나 BHI 평판배지에서는 5일간, control은 4일간 균이 생존하였다 (Fig. 7).

15°C에서 TCBS 평판배지로 측정된 결과 16일 동안 균이 생존한 반면에 control에서는 2일만에 균이 검출되지 않는 것으로 나타나 균의 생존기간에 큰 차이가 있었다.

BHI 평판배지로 측정된 결과 16일 동안 균이 생존하였고, control에서는 3일간 균이 생존한 것으로 나타났다 (Fig. 8).

25°C에서 TCBS 평판배지로 측정된 결과 22일간, control에서는 43일간 균이 생존하였고 BHI 평판배지로 균수를 결과 14일간 균이 생존한 반면 control에서는 36일 경과 후에도 높은 생존율을 나타내었는데, 이것은 기수 25°C에서의 결과와 비슷한 경향을 나타내는 것이었다 (Fig. 6). 그리고 control에서 균의 생존기간이 더 길었다 (Fig. 9).

해수에 있어서도 기수의 경우와 마찬가지로 담수에서

보다 균의 생존기간이 길었고 온도 별로는 25°C에서 가장 적응력이 높은 것으로 나타났으며 control에서 생존기간이 더 길고 균의 안정성이 높은 것으로 나타났다.

이상의 결과들을 종합하면 *V. vulnificus*는 염분이 전혀 없는 담수에서는 생존이 불가능하고 15°C에서는 해수보다 기수에서 생존기간이 길고 균의 감소 비율도 느린 반면 25°C에서는 그 차이를 구별하기 어렵다.

온도 별로는 25°C에서 균의 생존기간이 가장 길었고 온도가 낮을수록 적응력이 약한 것으로 나타났다.

이러한 결과들은 자연 환경에 있어서 *V. vulnificus*의 검출율이 24°C~26°C의 수온대에서 가장 높다는 보고 (Oliver et al., 1982 ; Tamplin et al., 1982 ; Tamplin et al., 1983 ; Kaysner et al., 1987)와 *V. vulnificus*검출의 최적 온도 범위는 14°C~21°C이고, 최적 염도는 1%이며 (Kaspar and Tamplin, 1993) 저온에서는 균의 손상으로 적응력이 약하다는 보고와 같은 경향이었다 (Weichart et al., 1992 ; Wolf and Oliver, 1992). 그리고 기수와 해수의 control에서 더 높은 생존율을 나타내는 것으로 보아 기수와 해수 속에는 균의 생육을 저해시키는 인자가 있을 것으로 추측되며 15°C에서 보다 25°C에서 그 경향이 뚜렷하게 나타났다.

*V. vulnificus*의 생존기간은 담수, 기수 및 해수 그리고 온도 별로 차이는 있으나 물 속에서 어떤 형태로든지 손상을 받아 증식되기는 어려우며, 많은 양의 균이 오염되었다 하더라도 시간이 경과하면 소멸될 것으로 사료된다. 그러나 적절한 염도와 온도 조건 하에서 유기물질이 첨가될 경우에 균이 증식되는 것으로 사료되어지며 자연상태에서 기후의 변화와 특히 강수량의 변화가 이 균의 증감에 큰 영향을 줄 수 있을 것으로 추측 된다. 그리고 control과 자연수 사이에 생존율의 차이가 크게 나타나는 것으로 볼 때 염도 이외의 수질 성분의 변화가 균의 생존에 미치는 요인에 대한 심도 있는 연구가 요구된다.

TCBS와 BHI 평판배지로 생존기간에 따른 균수 변화를 측정된 결과 차이가 있는 것으로 나타났는데, 물리화학적 요인에 의해 손상된 상태의 균은 선택성이 강한 TCBS 평판배지에서는 검출되지 않는다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 oxgall, sodium citrate와 같은 *V. vulnificus*의 생육을 억제하는 물질이 첨가되어 집락 형성능이 좋지 않기 때문에 TCBS 평판배지를 이용한 표면도말법으로 균수를 측정하는 것은 문제가 있을 것으로 사료되어지며, 이러한 문제점의 해결을 위해서는 새로운 배지의 개발 (Nilsson et al., 1991 ; Oliver et al., 1992 ; Miceli et al., 1993)이 필요하다.

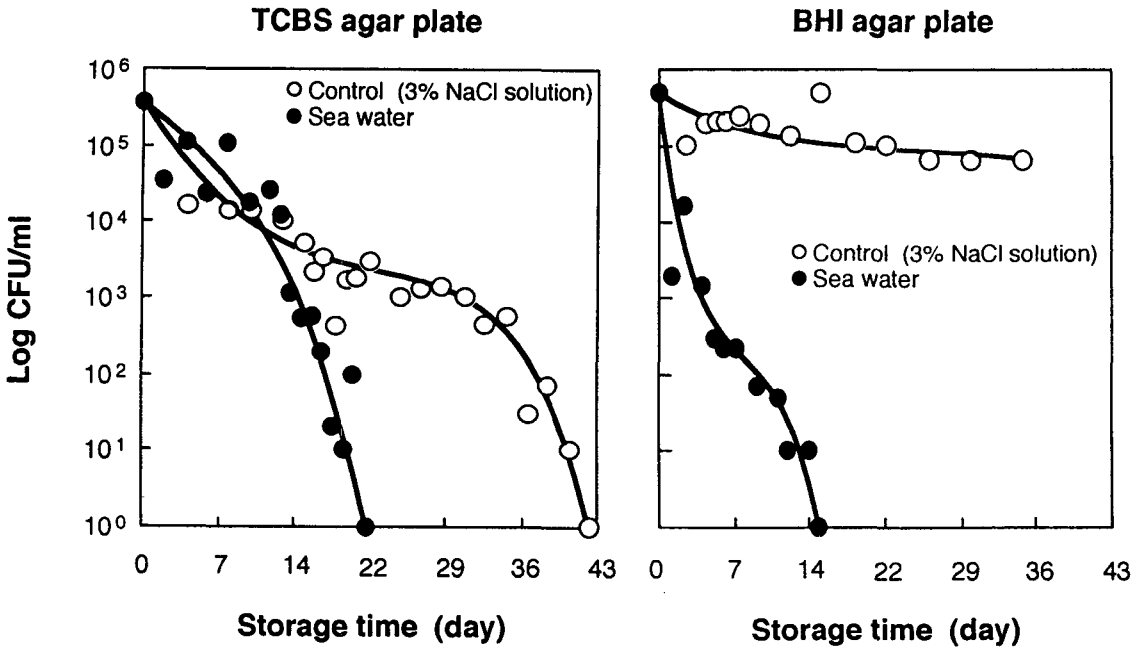


Fig. 9. Survival of *V. vulnificus* in sea water stored at 25°C.

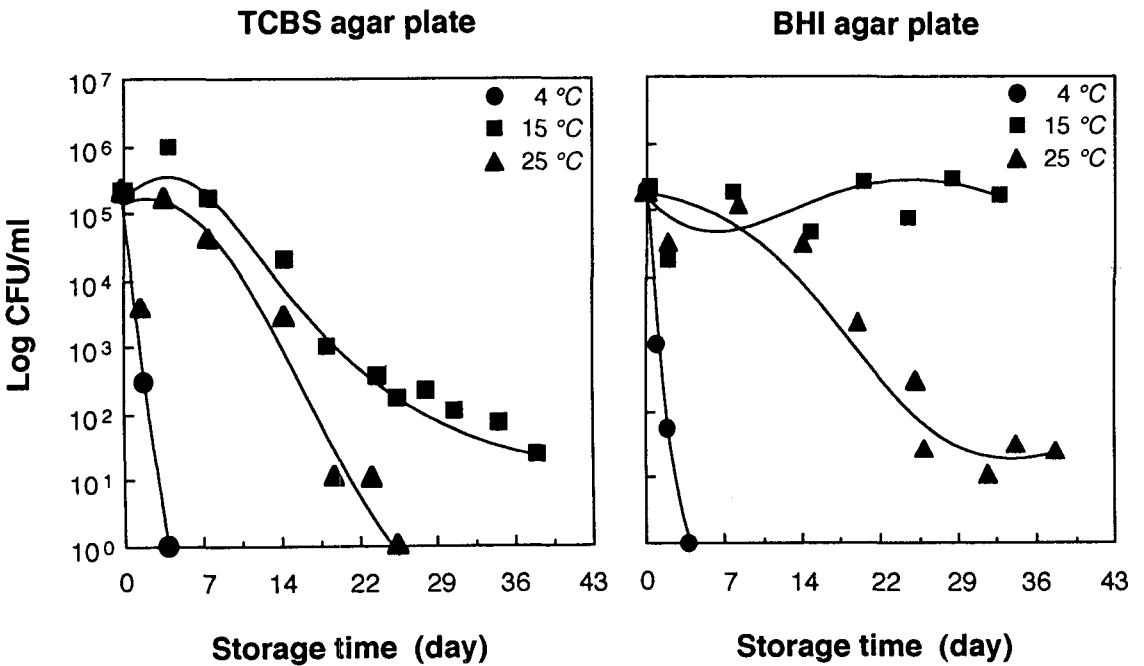


Fig. 10. Effects of temperature on the survival of *V. vulnificus* in bottom deposit stored at 4, 15 and 25°C.

4) 펄 용액에서 수온의 변화에 따른 균수 변화
 평균한 펄과 여과한 기수를 1:3의 비율로 섞은 펄 용

액에 최초균수를 10⁵ CFU/ml 정도로 접종하여 4, 15 및
 25°C에서 시간에 따른 균수 변화를 살펴본 결과는 Fig.

Table 1. The recovery level of *V. vulnificus* damaged in fresh water

Storage time (hr)	TCBS agar plate/ml		BHI agar plate/ml	
	1% NaCl	3% NaCl	1% NaCl	3% NaCl
2	1.7×10^3	8.6×10^2	$>3.0 \times 10^3$	1.7×10^3
4	5.6×10^3	8.5×10^2	$>3.0 \times 10^3$	1.5×10^3
6	$>3.0 \times 10^3$	1.8×10^3	$>3.0 \times 10^3$	3.0×10^3
12	$>3.0 \times 10^3$	$>3.0 \times 10^3$	$>3.0 \times 10^3$	$>3.0 \times 10^3$
20	$>3.0 \times 10^3$	$>3.0 \times 10^3$	$>3.0 \times 10^3$	$>3.0 \times 10^3$

10과 같다.

4°C에서 TCBS 평판배지로 균수를 측정된 결과 4일 경과 후에, 25°C에서는 25일 경과 후에 균이 검출되지 않았으나 15°C에서는 40일 경과 후에도 20 CFU/ml 정도 균이 잔존하였다.

BHI 평판배지로 측정된 결과 4°C에서는 4일 경과 후에 균이 검출되지 않았고 25°C에서는 35일 경과 후에 30 CFU/ml 정도 잔존하였으며 15°C에서는 35일 경과 후에도 거의 감소하지 않은 것으로 나타났다.

뿔 용액에서는 15°C에서 균의 생존기간이 가장 길었고 균수의 감소 비율은 느렸으므로 균의 안정성은 높은 것으로 나타났다.

뿔 용액에서 *V. vulnificus*의 저온 저항성은 기수나 해수보다 강하며 균수의 감소속도는 현저히 느리고 생존기간은 길어지는 경향이 뚜렷하였다.

이러한 결과들은 뿔이 유기물질의 경우와 같이 *V. vulnificus*의 생존에 유익하다는 사실을 나타내는 것이라고 사료된다.

2. 손상된 *V. vulnificus*에 대한 염의 영향

담수에 접종한 후 2시간 경과시에 BHI 평판배지에서는 균이 검출되었으나 TCBS 평판배지에서는 균이 검출되지 않는 것으로 보아 담수 속의 균은 살아있으나 손상에 의하여 선택성이 강한 TCBS 평판배지에서는 검출되지 않는 것으로 사료되었다. 따라서 손상된 균의 회복 정도를 보기 위하여 담수에 균을 약 10^5 CFU/ml 접종한 후 2시간 동안 방치시킨 뒤 원심 분리하여 회수한 균을 1과 3% NaCl 용액에 다시 투여한 결과 BHI 평판배지에서 뿐만 아니라, 균이 검출되지 않았던 TCBS 평판배지에서도 10^3 CFU/ml 정도 균이 검출되었다 (Table 1).

이상의 결과로 담수에 의하여 손상된 균은 수질 조건의 변화 특히 염의 첨가에 의하여 회복이 가능하다는 것을 알 수 있었다.

염도와 수온의 변화가 *V. vulnificus*의 생존에 미치는 영향을 파악하기 위하여 담수, 기수 및 해수에서 *V. vulnificus*의 적응력을 TCBS와 BHI 평판배지를 이용하여 비교 검토하였으며, 담수 속에서 손상된 *V. vulnificus*의 회복에 대한 실험 결과는 다음과 같다.

1. 염도와 온도는 *V. vulnificus*의 생존에 중요한 영향을 미치는 환경인자였다.

2. 담수에서 *V. vulnificus*는 온도에 관계없이 생존하지 못하였고 기수와 해수에서는 온도가 높을수록 생존기간이 길었으며, 해수보다 기수에서 균의 안정성이 높게 나타났다.

3. 뿔 용액에서 수온의 변화에 따른 *V. vulnificus*의 안정성은 15°C, 25°C 및 4°C의 순으로 기수의 경우보다도 비교적 높게 나타났으며 생존기간도 더 길었다.

4. 담수 처리에 의하여 손상된 *V. vulnificus*는 염의 첨가에 의하여 빠르게 회복되는 것으로 나타났다.

감사의 말씀

이 논문은 동의대학교 자체 학술연구조성비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Blake, P. A., R. E. Weaver and D. G. Hollis. 1980. Diseases of human (other than cholera) caused by *Vibriosis*. *Ann. Rev. Microbiol.* 34, 341~367.

Chang, D. S., I. S. Shin, S. T. Choi and Y. M. Kim. 1986. Distribution and bacteriological Characteristics of *Vibrio vulnificus*. *Bull. Korean Fish. Soc.* 19 (2), 118~126 (in Korean).

Chang, D. S., Y. M. Kim, W. Y. Park, H. K. Seong, H. S. Yu, S. M. Kim and Y. M. Kim. 1993. Study on pollution of fish products by *Vibrio* sp. *The Natinal Fish. Univ. of Pusan. Lab. of Food Microbiology.* p.1~11, 30~36 (in Korean).

Kaspar, C. W. and M. L. Tamplin. 1993. Effects of tempera-

결 론

- ture and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2425~2429.
- Kaysner, C. A., C. Abeyta, Jr., M. M. Wekell, A. DePaola, Jr., R. F. Stott and J. M. Leitch. 1987. Virulent strains of *Vibrio vulnificus* isolated from estuaries of the United States west coast. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1349~1351.
- Kelly, M. T. 1982. Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckae) vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 820~824.
- Kelly, M. T. and A. Dinuzzo. 1982. Uptake and clearance of *Vibrio vulnificus* from Gulf Coast environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (6), 1548~1549.
- Kim, Y. M., I. S. Shin and D. S. Chang. 1987. Distribution of *Vibrio vulnificus* the coast of South Korea. *Bull. Korean Fish. Soc.* 20 (6), 591~600 (in Korean).
- Kim, Y. M. 1989. Lethal toxin from *Vibrio vulnificus*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 18 (2), 175~180 (in Korean).
- Mertens, A., J. Nagler, W. Hansen and E. Gepts-Friedenreich. 1979. Halophilic, lactose-positive *Vibrio* in a case of fatal septicemia. *J. Clin. Microbiol.* 9, 233~235.
- Miceli, C. A., W. D. Watkins and S. R. Rippey. 1993. Direct plating procedure for enumerating *Vibrio vulnificus* in oysters (*Crassostrea virginica*). *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (11), 3519~3524.
- Nilsson, L., J. D. Oliver, and S. Kjelleberg. 1991. Resuscitation of *Vibrio vulnificus* from the viable but nonculturable state. *J. Bacteriol.* 173, 5054~5059.
- 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. 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. Environ. Microbiol.* 45, 985~998.
- Oliver, J. D., K. Guthrie, J. Preyer, A. Wright, L. M. Simpson, R. Siebeling and J. G. Morris, JR. 1992. Use of colistin-polymixin B-cellose agar for isolation of *Vibrio vulnificus* from the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (2), 737~739.
- O'Neill, K. R., S. H. Jones and D. J. Grimes. 1992. Seasonal incidence of *Vibrio vulnificus* in the Great Bay Estuary of New Hampshire and Maine. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3257~3262.
- Tamplin, M. L., G. E. Rodrick, N. J. Blake and T. Cuba. 1982. Isolation and characterization of *Vibrio vulnificus* from two Florida estuaries. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 1466-1470.
- Tamplin, M. L., G. E. Rodrick, N. J. Blake, D. A., P. Bundy, and L. Alexander. 1983. Public health aspects of halophilic Vibrios in Jamaica. *West Indian Med. J.* 32, 147~151.
- Tison, D. L. and M. T. Kelly. 1984. *Vibrio* species of medical importance. *Digan. Microbiol. Infect. Dis.* 2, 263~276.
- Tison, D. L. and M. T. Kelly. 1986. Virulence of *Vibrio vulnificus* strains from marine environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1004~1006.
- Weichart, D., J. D. Oliver, and S. Kjelleberg. 1992. Low temperature induced nonculturability and killing of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 100, 205~210.
- Wolf, P. W., and J. D. Oliver. 1992. Temperature effects on the viable but nonculturable state of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 101, 33~39.
- Yang, S. J., H. S. Kim, J. Y. Kwon, S. H. Chang and Y. M. Kim. 1995. Ecological characteristics of *Vibrio vulnificus* in estuary of Kum river. *J. Fd Hyg. Safety* 10 (2), 53~59 (in Korean).
- 식품위생관계법규. 1995. 지구문화사. 음용수의 수질기준. pp. 180~181

1996년 8월 21일 접수

1997년 5월 6일 수리