

기수에서 분리된 용혈독소를 생산하는 미분류 *Vibrio* sp.의 세균학적 특징

1. *V. mimicus*와 유사한 *Vibrio* sp. D9의 세균학적 특징

김영만 · 오희경
동의대학교 식품영양학과

Bacteriological Characteristics of Unidentified *Vibrio* sp., Hemolysin Producer Isolated from Brackish Water

1. Bacteriological Characteristics of *Vibrio* sp. D9 (*V. kumkang*) Similar to *V. mimicus*

Young-Man KIM and Hee-Kyung OH
Department of Food Science and Nutrition, Dong-eui University,
Pusan 614-714, Korea

A hemolysin producing strain was isolated from Kum river estuary located in west part of Korea. In the process of identification the isolated strain was similar to *V. mimicus* but did not show characteristics of known *Vibrio* species; therefore, the strain was designated as *Vibrio* sp. D9 (*V. kumkang*) tentatively and further identification study was carried out by comparing its bacteriological characteristics. Morphologically *Vibrio* sp. D9 was a typical straight rod with a polar flagellium. Among known *Vibrio* species no identical strains were found when using automatic bacteria identification system (MicroLog™ system, release 4.0, Biolog Inc., USA) which evaluated the ability of metabolizing 95 kinds of carbon and nitrogen sources. *Vibrio* sp. D9 showed 18 and 13 different responses as compared to *V. mimicus* and *V. cholerae*, respectively. Clear hemolysis zones were observed with the strain against human and sheep blood agar plate. Hemolytic toxicity was confirmed by strong vascular permeability and fatal toxicity against mouse was also observed. Thus the strain was a pathogenic vibrio. Growth conditions for *Vibrio* sp. D9 were salinity of 0~5.0%, pH of 6.4~9.8, temperature of 15~41°C, respectively.

Key words: Unidentified *Vibrio* sp., Brackish water, Hemolysis, Pathogenic vibrio

서 론

Vibrio 속은 주로 어패류 및 인체의 질병과 관계가 있고 그 중 몇몇 종은 인체에 치명적인 병변을 유발하는 것으로 보고되고 있으며 (Anderson and Conroy, 1970; Krieg and Holt, 1984; Sinderman, 1970), 우리나라에서도 병원성 vibrio를 원인으로 한 식중독 및 패혈증 환자가 매년 발생되고 있어 국민보건 위생관리 측면에서 주목을 받고 있다 (Goo et al., 1982; KFDA, 1998; Park et al., 1991).

서해안에 인접한 금강 하구는 바닷물과 강물이 합쳐지는 지역이므로 환경 특성상 다른 지역보다 *Vibrio* 속의 검출율이 높은 것으로 알려져 있으며 (Kim et al., 1987), 이 지역에서 *Vibrio* 속의 분포를 조사하던 중 (Yang et al., 1995; Chang et al., 1995), *Vibrio* 속 세균으로 추정되는 용혈소 생산 균주가 분리되었다. 이 균은 *V. mimicus*와 유사하지만 생화학적 특성시험과 형태면에서 차이를 나타내었으므로 *V. mimicus*와 유사한 아직 분류되지 않은 *Vibrio* 속이라고 추정되어 그 세균학적 특성을 구명하였다.

재료 및 방법

시험균주의 분리
금강 하구의 기수 시료를 1% peptone water에 접종하여 증균

배양한 후 TCBS (thiosulfate-citrate-bile-sucrose, Difco Co., USA) 평판배지 상에서 *Vibrio* 속을 분리하고 Bergey's manual과 FDA의 방법에 준하여 생화학적 시험을 실시하여 시험균주 *Vibrio* sp. D9 (*V. kumkang*)를 분리하였다 (FDA, 1992; Holt et al., 1994).

형태관찰
전자현미경 JEM-1010 (Joel, JAPAN)으로 검경하고 촬영하였다.

세균자동동정기를 이용한 동정
MicroLog™ system (Release 4.0, Biolog Inc., USA)으로 다음과 같이 실시하였다.

BUGM (Biolog Inc., USA) 평판배지에 37±1°C에서 24시간 씩 2회 배양하여 계대배양한 후 37±1°C에서 16시간 배양시킨 균체를 0.85% NaCl 용액 (pH 7.0)에 현탁하여 탁도계 (21907, Biolog Inc., USA)를 이용하여 탁도가 52~59%가 되도록 조절한 후 95종의 탄소원 및 질소원 기질로 구성되어 있는 microplate에 150 µl 씩 접종하였다. 30°C 또는 37°C에서 24시간 반응시킨 후 Biolog사의 세균자동동정기로 판독하였다.

병원성 확인 시험
용혈활성은 human 및 sheep blood agar plate에 균배양액을

확신도말하고 37±1°C에서 24시간 배양한 후 생성되는 투명환으로 확인하였다. Rat에 대한 피부혈관투과항진성 시험은 Wistar계 rat (270 g)의 꼬리정맥에 5% evans blue 0.1 ml을 주사한 후 Kim (1993)의 방법에 준하여 조제한 조독소 용액을 털을 깎은 rat의 등피 중층에 0.1 ml 주사한 다음 6시간 경과 후 등피를 잘라 내피 쪽에서 혈관 내 알부민 누출에 따른 spot을 관찰하여 용혈성을 확인하였다. Mouse에 대한 치사독성 시험은 Kim (1989)의 방법에 따라 실시하였다.

항생제 감수성 시험

Vitek system (bioMerieux, France)을 사용하여 MIC법으로 실시하였다.

생육영양인자

시험균주를 BHI (brain heart infusion, Difco Co., USA) broth에 접종한 후 37±1°C에서 14시간 배양한 균액을 염분 (0~5.5%) 및 pH (4.2~10.3)를 각각 다르게 조정된 1% peptone water에 접종하여 24시간 배양한 후 각각의 증식 여부를 육안으로 측정하였으며 온도 (4~43°C)에 대한 증식 여부도 같은 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

시험균주의 일반적인 생화학적 특성

분리된 균주 *Vibrio* sp. D9는 TCBS 평판배지에서 sucrose 분해 음성의 녹색 colony를 형성하였으며 colony 형태가 *V. mimicus*와 유사하였다 (Fig. 1).

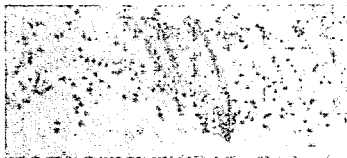


Fig. 1. Colony type of the isolated strains on the TCBS agar plate.

FDA (1992) 및 Bergey's manual (Holt et al., 1994)에 근거한 생화학적 시험 결과 (Table 1) *Vibrio* sp. D9는 oxidase 양성과 nitrate 환원성이 확인되었으며 H₂S gas는 생성하지 않았다. 또한 NaCl 0%에서도 생육이 가능하였다. 현재까지의 보고에 의하면 연구자에 따라 차이를 보이는 하나 생육에 나트륨 요구성이 없는 *Vibrio* 속으로 *V. cholerae*, *V. mimicus* 및 *V. furnissii*가 보고되어 있다. 그러나 *Vibrio* sp. D9는 sucrose 분해능에서 *V. cholerae* 및 *V. furnissii* 등과는 차이를 나타내었다 (Holt et al., 1994; FDA, 1992). 또한 생화학적 시험 결과 가장 유사하였던 *V. mimicus*와는 methyl red 반응에서 차이를 나타내었다 (Holt et al., 1994).

형태관찰

Vibrio sp. D9는 극단모의 편모를 가진 직선상의 간균이었다

Table 1. Biochemical characteristics of tested strain, *Vibrio* sp. D9

Tested items	<i>Vibrio</i> sp. D9
Gram staining	-
Oxidase	+
Nitrate reduction	+
Growth at NaCl: 0%	+
3%	+
6%	-
H ₂ S reaction	-
Urease reaction	-
Indole production	+
Citrate	+
TSI test: slant	red
butt	yellow
β-galactosidase	+
Arginine dihydrolase	-
Lysine decarboxylase	+
Ornithine decarboxylase	+
Tryptophane deaminase	-
Gelatinase	+
Methyl red	-
Voges-Proskauer	-
Glucose	+
Mannitol	+
Galactose	+
Salicin	-

(Fig. 2). 이러한 결과는 TCBS 평판배지 상의 colony 형태와 생화학적 시험에서 가장 유사하다고 여겨진 *V. mimicus*의 comma상 간균 (Davis, 1981)과는 분명히 구분되었다. 앞서 실시한 생화학적 시험에서 methyl red 반응의 차이만으로 새로운 균이라는 가정을 하기에는 무리가 있으나 이와 같은 형태적인 차이를 고려할 때 미분류된 *Vibrio* 속일 가능성이 있으므로 세균자동동정기로 정밀 실험을 실시하였다.

세균자동동정기를 이용한 동정

실험에 사용된 Biolog사의 세균 자동동정기 시스템은 95종류의 탄소원 및 질소원 기질에 대한 시험균주의 이용능을 흡광도로 측정하여 % data로 변환시킨 후 90% 이상 반응이 일어난 양성의 경우를 +, 10% 미만의 반응으로 음성인 경우를 -, 그리고 양성 과 음성의 구분이 안될 경우는 v (±, border line)로 결과를 나타내고 시스템 내에 database로 구축된 기존의 알려진 세균의 반응 결과와 비교하여 동정하는 시스템이다. Border line (±)은 비교 대상에서 제외되며 상호유사성 (similarity)이 0.5 이하이거나 편차 (distance)가 5.0 이상일 경우 동정이 안된 것으로 분석하였다.

시험균주의 동정 결과 균속의 차원에서는 다른 균속으로 판정되는 경우도 있었으나 거의가 *Vibrio* 속으로 동정되었다 (Table 2). 그러나 균종 동정을 위한 상호유사성 (similarity)은 모두 0.5 미만의 값을 보였으며 편차 (distance)도 5.0 부근 또는 그 이상의 값을 보여 시스템 내 database의 *Vibrio* 속과는 일치하는 균주가

Table 2. Identification of *Vibrio* sp. D9 using MicroLog™ system

Tested strain	Test no.	Priority	Identified genus or species%	Similarity	Distance
<i>Vibrio</i> sp. D9	1	1	<i>Salmonella</i> subspecies IC	0.34	4.98
		2	<i>Yersinia ruckeri</i>	0.29	5.04
	2	1	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.32	8.50
		2	<i>Yersinia ruckeri</i>	0.06	9.04
	3	1	<i>Vibrio cholerae</i>	0.34	4.59
		2	<i>Vibrio aestuarianus</i>	0.16	4.83
	4	1	<i>Vibrio metschnikovii</i>	0.26	12.05
		2	<i>Vibrio aestuarianus</i>	0.02	12.86
	5	1	<i>Vibrio furnissii</i>	0.34	4.83
		2	<i>Listonella anguillarum</i>	0.17	5.06
<i>V. vulnificus</i> (Control)	1	1	<i>Vibrio vulnificus</i>	0.77	2.02
	2	2	<i>Vibrio anguillarum</i>	0.04	3.04

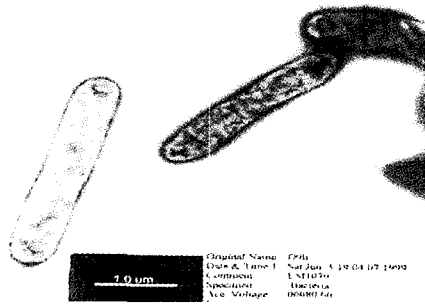


Fig. 2. Morphology of the tested strain under scanning electron microscope.

없었다. 반면 동정 system의 신뢰도를 위하여 대조구로 사용한 오까야마 대학으로부터 분양받은 *V. vulnificus*의 동정 결과 similarity 0.77, distance 2.02의 *V. vulnificus*로 동정되어 사용 시스템의 신뢰성을 나타내었다. 한편 5회의 반복 시험 결과를 Table 3과 같이 종합하고, 기본적인 생화학적 시험에서 가장 유사하였던 *V. mimicus*와 *V. cholerae*의 database와 비교하였다. *Vibrio* sp. D9의 경우 *V. mimicus*와는 N-acetyl-D-galactosamine, cellobiose, D-galactose, gentiobiose, m-inositol, D-sorbitol, α -hydroxybutyric acid, p-hydroxy phenylacetic acid, α -keto glutaric acid, bromo succinic acid, glucuronamide, L-alanyl-glycine, L-asparagine, glutamic acid, glycy-L-aspartic acid, glycy-L-glutamic acid, thymidine, glycerol 등 18종류, *V. cholerae*와는 α -D-lactose, β -methyl-D-glucoside, sucrose, citric acid, α -hydroxybutyric acid, p-hydroxy phenylacetic acid, propionic acid, glucuronamide, L-proline, D-serine, L-serine, L-threonine, glucose-6-phosphate 등 13종류의 항목에서 다른 반응을 나타내었다. *V. cholerae*에서 *V. mimicus*가 분리될 때 DNA homology에서 큰 차이를 보이긴 하였으나 생화학적 실험에서는 sucrose 분해성과 Voges-Proskauer 시험에서만 차이를 보였던 점 (Davis, 1981)을 감안할 때 *Vibrio* sp. D9는 현재까지 분

Table 3. Carbon and nitrogen utilization characteristics of *Vibrio* sp. D9

No.	Carbon and nitrogen source names	A	B	C	D	E
1	Water	-	-	-	-	-
2	α -cyclodextrin	-	+	-	-	-
3	Dextrin	+	+	+	+	+
4	Glycogen	+	+	+	+	+
5	Tween 40	+	+	+	+	±
6	Tween 80	+	+	+	+	+
7	N-acetyl-D-galactosamine	-	-	+	-	+
8	N-acetyl-D-glucosamine	+	+	+	+	+
9	Adonitol	-	-	-	-	-
10	L-arabinose	-	v	-	-	-
11	D-arabitol	-	-	-	-	-
12	Cellobiose	+	+	-	+	-
13	i-erythritol	-	-	-	-	-
14	D-fructose	+	+	+	+	+
15	L-fucose	-	v	-	-	-
16	D-galactose	-	+	+	-	+
17	Gentiobiose	+	+	-	+	-
18	α -D-glucose	+	+	+	+	+
19	m-inositol	-	-	-	+	-
20	α -D-lactose	-	v	-	15	+
21	Lactulose	-	-	-	-	-
22	Maltose	+	+	+	+	+
23	D-mannitol	-	+	+	+	+
24	D-mannose	+	+	+	+	+
25	D-melibiose	-	+	-	-	-
26	β -methyl-D-glucoside	-	v	+	-	-
27	D-psicose	+	+	+	+	+
28	D-raffinose	-	-	-	-	-
29	L-rhamnose	-	-	-	-	-
30	D-sorbitol	-	+	6	+	-
31	Sucrose	-	v	+	-	-
32	D-trehalose	+	+	+	+	+
33	Turanose	+	+	+	+	+
34	Xylitol	-	-	-	-	-
35	Methyl pyruvate	+	+	+	+	+
36	Mono-methyl succinate	-	+	+	+	+

Table 3. (continued)

No.	Carbon and nitrogen source names	A	B	C	D	E
37	Acetic acid	-	-	+	-	±
38	cis-aconitic acid	-	-	-	-	-
39	Citric acid	-	-	+	-	-
40	Formic acid	-	-	-	-	-
41	D-galactonic acid lactone	-	-	-	-	-
42	D-galaturonic acid	-	-	-	-	-
43	D-gluconic acid	47	+	+	+	+
44	D-glucosaminic acid	-	v	-	-	-
45	D-glucuronic acid	-	v	-	-	±
46	α-hydroxybutyric acid	-	v	-	-	+
47	β-hydroxybutyric acid	-	v	-	-	-
48	γ-hydroxybutyric acid	-	v	-	-	-
49	p-hydroxy phenylacetic acid	-	-	-	-	+
50	Itaconic acid	-	-	-	-	-
51	α-keto butyric acid	-	v	-	-	-
52	α-keto glutaric acid	-	v	+	-	+
53	α-keto valeric acid	-	-	-	-	-
54	D,L-lactic acid	-	+	+	+	+
55	Malonic acid	-	-	-	-	-
56	Propionic acid	-	-	+	-	-
57	Quinic acid	-	v	-	-	-
58	D-saccharic acid	-	v	-	-	-
59	Sebacic acid	-	v	-	-	-
60	Succinic acid	-	+	+	+	+
61	Bromo succinic acid	-	v	+	-	+
62	Succinamic acid	-	+	+	+	±
63	Glucuronamide	-	-	-	-	+
64	Alaninamide	-	v	-	-	-
65	D-alanine	-	+	-	-	±
66	L-alanine	-	+	+	-	±
67	L-alanyl-glycine	-	+	+	-	+
68	L-asparagine	+	+	+	-	+
69	L-aspartic acid	-	+	+	10	+
70	L-glutamic acid	-	+	+	-	+
71	Glycyl-L-aspartic acid	-	v	+	-	+
72	Glycyl-L-glutamic acid	-	-	+	-	+
73	L-histidine	-	-	6	-	-
74	Hydroxy L-proline	-	-	-	-	-
75	L-leucine	-	-	-	-	-
76	L-ornithine	-	-	-	-	-
77	L-phenylalanine	-	-	-	-	-
78	L-proline	-	v	-	10	+
79	L-pyroglutamic acid	-	-	-	-	-
80	D-serine	-	-	+	-	-
81	L-serine	-	-	+	-	-
82	L-threonine	-	v	+	-	-
83	D,L-carnitine	-	-	-	-	-
84	γ-amino butyric acid	-	-	-	-	-
85	Urocanic acid	-	-	-	-	-
86	Inosine	+	+	+	+	+
87	Uridine	48	+	+	15	+
88	Thymidine	-	+	+	-	+
89	Phenyl ethylamine	-	-	-	-	-

Table 3. (continued)

No.	Carbon and nitrogen source names	A	B	C	D	E
90	Putrescine	-	-	-	-	-
91	2-amino ethanol	-	-	-	-	-
92	2,3-butanediol	-	v	-	-	-
93	Glycerol	-	+	+	-	+
94	D,L-α-glycerol phosphate	-	v	+	-	±
95	Glucose-1-phosphate	+	v	-	-	-
96	Glucose-6-phosphate	+	+	+	-	-

A: Database of *V. vulnificus*
 B: Data of tested *V. vulnificus* (control)
 C: Database of *V. cholerae*
 D: Database of *V. mimicus*
 E: Data of tested *Vibrio* sp. D9

류되지 않은 균종일 가능성이 높을 것으로 생각된다. 분자생물학적 확인 및 독성에 관한 특성 등 추가적인 연구의 진행과 생태적인 연구가 더 세밀히 진행되어야 신중으로 인정받을 것으로 생각되므로 현재 진행된 결과를 기초자료로서 제시한다.

병원성 확인 시험

용혈성 시험 결과 human과 sheep blood agar plate에서 모두 뚜렷한 용혈환이 확인되었다 (Fig. 3). 또한 rat에 대한 피부혈관 투과항진성 시험 결과는 Fig. 4와 같으며 *Vibrio* sp. D9가 생산하는 조독소 용액에 대하여 rat skin에서 혈장 알부민 누출이 발생되었으므로 생체 피부에서도 용혈독소의 작용이 확인되었다.

한편 mouse에 대한 치사독성 시험에서는 15시간 가량 배양한 시험균주의 균액을 mouse의 복강에 주사한 결과 mouse는 대부분 4~6시간 이내에 사망하여 강한 치사 독성을 나타내었다 (Table 4). 또한 mouse는 배양액 주사 후 시간의 경과에 따라 vibrio 감염증에서 특징적으로 볼 수 있는 상당한 양의 땀 분비와 설사 증상을 나타낸 후 사망하였다.

항생제 감수성 시험

Vibrio sp. D9의 항생제 감수성 시험 결과는 Table 5에 나타내었다. Amikacin 등 16종의 시험 항생제에 대하여 감수성이 있는 것으로 나타났으며 특히 ciprofloxacin, gentamycin, ofloxacin

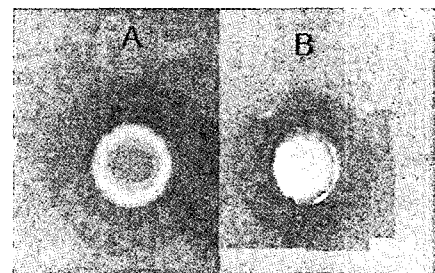


Fig. 3. Hemolysin activity of tested strain on the blood agar plate.
 A: human blood
 B: sheep blood

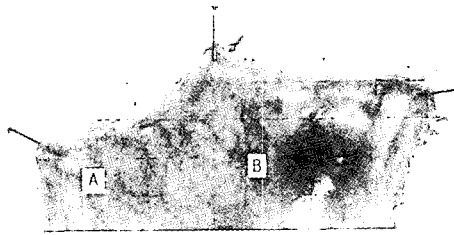


Fig. 4. Vascular permeability activity of crude exotoxin produced by tested strain on the rat skin.
A: Control (0.85% NaCl)
B: *Vibrio* sp. D9

Table 4. Lethal toxicity of the cultured fluids of the tested strain

Tested strain	Mouse weight (g)	Death time (min)	Toxicity (min/g)
<i>Vibrio</i> sp. D9	18.20	271	14.9
	18.18	273	15.0
	19.10	272	14.2
	18.90	623	33.0
	19.07	255	13.4
	Mean toxicity		

Table 5. Antibiotic susceptibility of *Vibrio* sp. D9

Antibiotics	Control (<i>V. mimicus</i>)		<i>Vibrio</i> sp. D9	
	MIC ¹⁾	Susceptibility	MIC	Susceptibility
Amikacin	<=2	S ²⁾	<=2	S
Ampicillin	2	S	2	S
Ampicillin/Sulbactam	<=4	S	<=4	S
Cefazolin	<=8	S	<=8	S
Cefotaxime	<=4	S	<=4	S
Cefotetan	<=16	S	<=16	S
Ceftazidime	<=8	S	<=8	S
Ceftriaxone	<=8	S	<=8	S
Ciprofloxacin	<=0.5	S	<=0.5	S
Gentamycin	<=0.5	S	<=0.5	S
Imipenem	<=4	S	<=4	S
Ofloxacin	<=1	S	<=1	S
Piperacillin	<=8	S	<=8	S
Ticarcillin/CA	<=16	S	<=16	S
Tobramycin	<=0.5	S	<=0.5	S
Trimeth-sulfa	<=10	S	<=10	S

MIC¹⁾: MIC (minimum inhibit concentration) value ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

S²⁾: Susceptible

및 tobramycin에 대하여는 MIC가 0.5~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하로 높은 감수성을 나타내어 대조군으로 사용된 오까야마 대학에서 분양받은 *V. mimicus*와 유사하였다.

생육영양인자

Vibrio sp. D9는 NaCl 0%에서도 증식이 가능하였고 염도 1.0%에서 최고 증식상태를 나타내었으며 5.0%까지 생육이 가능하였다 (Table 6). 또한 생육에 미치는 pH의 영향으로 *Vibrio* sp. D9는 pH 6.4에서 가장 활발히 증식하였으며 생육 가능 pH 범위는 6.4~9.8로 확인되었다 (Table 7). 알칼리성 범위에서도 생육이 가능한 결과는 *Vibrio* 속의 공통적인 특징과 일치된다.

한편 *Vibrio* sp. D9는 15~41°C의 온도 범위에서 증식이 가능하였다 (Table 8). Chang et al. (1995)은 *V. cholerae* non-O1보다 *V. mimicus*가 생육 조건이 더 제한적이라고 보고한 바 있으나 *Vibrio* sp. D9의 경우에는 *V. mimicus*보다 더 제한적인 생육범위를 나타내었다.

Table 6. Effect of salinity on the growth of *Vibrio* sp. D9

Salinity (%)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5
		+	+++	+++	++	++	+	+	+	+	±	-

-, no growth; +, growth; ++, good growth; +++, best growth

Table 7. Effect of pH on the growth of *Vibrio* sp. D9

pH	4.2	5.2	6.4	7.4	8.2	9.0	9.8	10.3
	-	-	+++	+++	++	++	+	-

Table 8. Effect of temperature on the growth of *Vibrio* sp. D9

Temperature (°C)	4	13	14	15	25	36	41	42	43
		-	-	-	+	++	++	++	-

결 론

금강 하구에서 분리한 용혈독소를 생산하는 미분류 기수성 *Vibrio* 속으로 추정되는 시험 균주 *Vibrio* sp. D9 (*V. kumkang*)의 세균학적 특징은 다음과 같다.

기본적인 생화학적 시험에서는 *V. mimicus*와 유사하였으나 methyl red 반응에서 차이를 보였으며 형태는 직선상 간균으로 역시 분명한 차이를 보였다.

95종의 탄소원 및 질소원의 이용능을 비교하는 세균자동동정기로 동정한 결과, genus level에서 *Vibrio* 속으로 동정되었으나 species는 일치하는 균종이 없었다. 그 중 가장 유사하였던 *V. mimicus*와 18종류의 항목이, *V. cholerae*와는 13종류의 항목이 다른 반응을 나타내었다.

병원성 확인 시험에서 human과 sheep blood agar plate에서 뚜렷한 용혈환을 형성하고, 조용혈독소의 rat에 대한 피부혈관투과항진성이 *in vivo* 상에서도 확인되었으며 mouse에 대한 치사독성이 확인되었다.

생육 가능한 환경 조건은 염도 0~5.0%, pH 6.4~9.8, 온도 15~41°C이었다.

이상과 같이 시험 균주 *Vibrio* sp. D9 (*V. kumkang*)는 *V. mimicus*와 유사하지만 아직 분류되지 못한 균종일 가능성이 크다.

감사의 말씀

본 연구는 동의대학교 교내 학술연구비에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Anderson, J.I.W. and D.A. Conroy. 1970. *Vibrio* disease in marine fish. In Snieszko (Editor) A symposium on disease on disease of fishes and shell fishes. Special Publication No. 5, American Fisheries Society, Washington, 266~272.
- Chang, S.H., D.J. Song, S.J. Yang, I.S. Shin and Y.M. Kim. 1995. Ecological of *Vibrio cholerae* non-O1 and *Vibrio mimicus* in estuary of Kum River, Korea. Bull. Korean Fish. Soc., 28(1), 15~22 (in Korean).
- 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* strain and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. J. clinical microbiology, 14(6), 631~639.
- Food and Drug Administration. 1992. Bacteriological analytical manual. 7th Edition. AOAC International.
- Goo, J.S., D.W. Kim, K.S. Han, J.S. Suk, M.H. Park and S.I. Kim. 1982. Lactose fermenting vibrio (*Vibrio vulnificus*) septicemia - Report of five cases. K. J. P., 16(3), 463~469 (in Korean).
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. Bergey's manual of Determinative bacteriology (9th edition). Baltimore, Williams & Wilkins Co. 260~274.
- Kim, Y.M. 1989. Lethal toxin from *Vibrio vulnificus*. J. KOREAN SOC. FOOD NUTR., 18(2), 175~180 (in Korean).
- Kim, Y.M. 1993. Purification and Characterization of hemolysin produced by *Vibrio vulnificus*. Research Journal of Dong-eui University (Natural Sciences), Vol. 20, 117~123 (in Korean).
- Kim, Y.M., H.J. Jeoung and I.S. Shin. 1997. Purification and characterization of endotoxin from *Vibrio vulnificus*. Korean J. Life Science, 7(2), 79~87 (in Korean).
- 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).
- Krieg, N.R. and J.G. Hol. 1984. Bergey's manual. Vol 1, Baltimore, Williams & Wilkins Co. 532~535.
- Park, S.D., H.S. Shon and N.J. Joh. 1991. *Vibrio vulnificus* septicemia in Korea: Clinical and epidemiologic findings in seventy patients. J. The American Academy of Dermatology. 24(3), 397~403.
- Sinderman, C.J. 1970. Principle of marine fish and shellfish. Academic Press, New York-Lodon.
- 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.
- KFDA. 1998. 식중독발생 현황 및 대책. 한국식품의약품안전청 식중독 예방대책본부 보고서.

2000년 7월 25일 접수

2000년 11월 25일 수리