

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

2. *Vibrio mimicus*와 유사한 *Vibrio* sp. E10의 세균학적 특징

김영만⁺ · 유홍식* · 오희경
동의대학교 식품영양학과, *(주)워터비전

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

2. Bacteriological Characteristics of *Vibrio* sp. E10 Similar to *Vibrio mimicus*

Young-Man KIM⁺, Hong-Sik YU* and Hee-Kyung OH

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

*Watervision Co., Busan 609-310, Korea

A hemolysin producing bacterial strain which belong to *Vibrio* species was isolated from the Kum River estuary. In the process of identification, the strain did not show characteristics of known *Vibrio* species; thus, the strain was designated as *Vibrio* sp. E10 (*V. kunsan*) tentatively and further identification study was carried out by comparing its bacteriological characteristics. Morphologically *Vibrio* sp. E10 was comma shaped rod with a polar flagellium. Clear hemolysis zones were observed with the strain against human and sheep blood agar. Hemolytic toxicity was confirmed by strong vascular permeability and fatal toxicity against mouse was also observed. Therefore the strain was a pathogenic vibrio. Growth conditions for *Vibrio* sp. E10 were ranged salinity of 0~4.5%, pH of 6.2~9.2, temperature of 14~42°C, respectively. 16S rDNA partial sequence of *Vibrio* sp. E10 showed 99% homology with dozens of *V. cholerae* species including *V. cholerae* El Tor N16961 and *V. mimicus* ATCC 33653T. This strain belonged to Proteobacteria; gamma subdivision; *Vibrionaceae*; *Vibrio*. But, 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. E10 showed 18 and 11 different responses as compared to *V. mimicus* and *V. cholerae*, respectively.

Key words: Unidentified *Vibrio* sp., Brackish water, Hemolysis, Pathogenic vibrio, 16S rDNA.

서 론

*Vibrio*속은 현재 알려진 약 44종 중 병원성이 있는 것은 12종이 보고되고 있다 (Holt et al., 1994; 本田 등, 1991; 赤羽, 1989). 특히 *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* 및 *V. vulnificus* 등은 생선회 등 수산식품의 섭취를 통한 급성 장염의 원인이 되므로 식품위생 관리 및 병리학적으로 관심의 대상이 되고 있으며 (Food Research Institute, 1994; Holt et al., 1994; Janda et al., 1988) 우리나라에서 병원성 vibrio를 원인으로 한 식중독 및 패혈증 환자가 매년 발생되고 있어 국민보건 관리 측면에서 주목을 받고 있다 (Goo et al., 1982; Park et al., 1991; KFDA, 1998).

금강 하구는 *Vibrio*속의 좋은 서식환경으로 알려져 있다 (Kim et al., 1987). 저자들이 이 지역에서 *Vibrio*속의 분포를 조사하던 중 (Chang et al., 1995; Yang et al., 1995) *Vibrio*속 세균일 것으로 추정이 되면서 용혈독소를 생산하는 균주가 분리되었다. 이 균주는 생화학적 특성상 기본적인 것은 *V. mimicus*와 유사하였으나 세부적인 측면에서 차이를 보였으므로 아직 분류되지 않은 *Vibrio*속이라고 추정되어 형태, 병원성 및 세균학적 특성과 16S rDNA 염기서열을 조사한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시험균주의 분리

금강 하구의 기수 시료를 1% peptone water에 접종하여 증균 배양한 후 TCBS 평판배지 상에서 분리하고 Bergey's manual (Holt et al., 1994)과 미국 FDA (Food and Drug Administration, 1992)의 방법에 준하여 기본적인 생화학적 시험을 실시하여 기존의 *Vibrio*속과 다른 균주를 선택하였다.

형태관찰

JEM-1010 (Joel, JAPAN)으로 검경하고 촬영하였다.

병원성 확인 시험

용혈활성은 human 및 sheep blood agar plate에 균배양액을 희석하고 37±1°C에서 24시간 배양 후 투명 환을 확인하였다. Rat에 대한 피부혈관투과항진성 시험은 Wistar계 rat (270 g)의 꼬리정맥에 5% Evans blue 0.1 mL 주사한 후 Kim (1993)의 방법에 준하여 조제한 조독소 용액을 rat의 털을 깎고 등피 중층에 0.1 mL 주사한 다음 6시간 경과 후 등피를 잘라 내피 쪽에서 혈관 내 알부민 누출에 따른 spot 관찰로 용혈성을 확인하였다. Mouse에 대한 치사독성 시험은 Kim (1989)과 같은 방법에 따라

⁺ Corresponding author: ymkim@dongeui.ac.kr

실시하였다.

생육영양인자

시험균주를 BHI (Brain heart infusion, Difco Co., USA) broth에 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 14시간 배양한 균액을 염분 및 pH를 각각 다르게 조정한 1% peptone water에 접종하여 24시간 배양한 후 각각의 증식 여부를 육안으로 측정하였으며 온도에 대한 증식여부도 같은 방법으로 측정하였다.

16S rDNA 염기서열 분석과 검색

균주를 LB broth (Luria-Bertani broth, 10 g of Tryptic digest of casein (Tryptopane); 5 mg of Yeast extract; 10 g of NaCl; pre-adjusted to pH 7.0)에서 35°C , 18시간 동안 증균 배양한 후 Bio-ner사의 AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit (K-3032)를 사용하여 DNA를 추출하였다.

PCR 반응은 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Cetus)를 사용했으며, primer는 6F (5'GRAGTTTGATCMTGGC; corresponding to position 6 to 23 of *Escherichia coli* 16S rDNA)와 1492R (5'GGTTACCTTGTTACGACTT; corresponding to position 1474 to 1492 of *Escherichia coli* 16S rDNA)을 사용하였다.

염기서열 분석은 ABI 310 Automatic Sequencer (Perkin Elmer)와 Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer)를 사용하여 실시하였고, 확보된 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information)에서 제공하는 World Wide Web Blast DNA database search service를 이용하여 검색하였다.

세균자동동정기를 이용한 동정

분리균의 동정은 미국 Biolog사의 세균 자동동정기 (Micro Log™ system, Release 4.0)로 실시하였다.

결과 및 고찰

시험균주의 일반특성

분리된 시험 균주는 TCBS 평판배지에서 직경 1~2 mm 가량의 녹색 집락을 형성하여 *V. vulnificus*와 유사하였으며 집락의 크기가 작은 *V. mimicus*와는 차이가 있었다. 미국 FDA (Food and Drug Administration, 1992) 및 Bergey's manual (Holt et al., 1994)에 근거한 생화학적 시험 결과 (Table 1), 시험균주는 oxidase 양성, nitrate 환원성 및 H_2S 음성이었으며 NaCl 0%에서도 생육이 가능하였다. 생육에 나트륨 요구성이 없는 *Vibrio*속으로는 현재까지 *V. cholerae*, *V. mimicus* 및 *V. furnissii*가 보고 되어 있으나 (Food and Drug Administration, 1992; Holt et al., 1994) 시험균주는 생화학적 반응에서 열거한 균과 차이를 나타내었으며, 집락형태가 유사했던 *V. vulnificus*는 NaCl 0%에서는 생육이 불가능하므로 기존의 알려진 것과는 일치하는 균종이 없었다. 생화학적 시험 결과 가장 유사하였던 균주는 *V. mimicus*이었으나

Table 1. Biochemical characteristics of *Vibrio* sp. E10

| Tested items | <i>Vibrio</i> sp. E10 |
|-------------------------------|-----------------------|
| Gram staining | - |
| Oxidase | + |
| Nitrate reduction | + |
| Growth at NaCl: 0% | + |
| 3% | + |
| 6% | - |
| H_2S reaction | - |
| Urease reaction | - |
| Indole production | + |
| Citrate | + |
| TSI test: slant | red |
| butt | yellow |
| β -galactosidase | + |
| Arginine dehydrolase | - |
| Lysine decarboxylase | + |
| Ornithine decarboxylase | + |
| Tryptophane deaminase | - |
| Gelatine hydrolase | + |
| Methyl red | - |
| Voges-Proskauer | - |
| Glucose | + |
| Mannitol | + |
| Galactose | + |
| Salicin | - |

methyl red 반응에서 차이를 보였으며 TCBS 평판배지 상에서도 형태적 차이를 나타낸 점으로 볼 때 분리균주는 아직 분류되지 않은 *Vibrio*속일 가능성을 추정하여 *Vibrio* sp. E10 (*V. kunsan*)이라고 가정하고 실험하였다.

형태관찰

시험균주는 극단모를 가진 콤팩상 간균이었으며 (Fig. 1) *V. mimicus*와 유사하였다 (Davis et al., 1981).

병원성 확인 시험

Vibrio sp. E10은 human 및 sheep blood agar 상에서 뚜렷한 용혈환을 형성하였으며 (Fig. 2), 균주의 조독소 용액이 rat skin

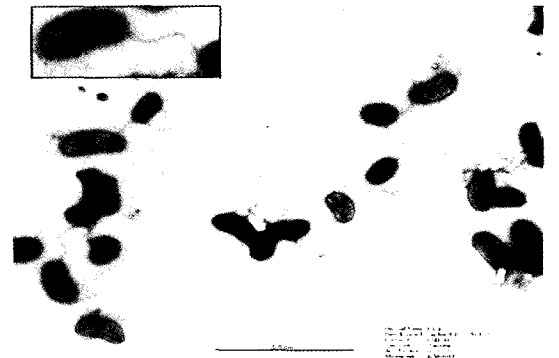


Fig. 1. Morphology of the tested strain under scanning electron microscope.

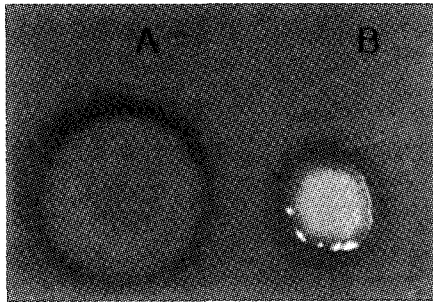


Fig. 2. Hemolysin activity of *Vibrio* sp. E10 on the blood agar plate. A, human blood; B, sheep blood.

에서 혈장 알부민을 누출시켜 피부혈관투과항진작용이 확인되었다 (Fig. 3). 또한 균배양액을 복강 투여 받은 mouse가 땀과 설사 증상을 보이며 대부분 4~6시간 이내에 사망하여 균주 배양액은 강한 치사독성을 나타내었다 (Table 2).

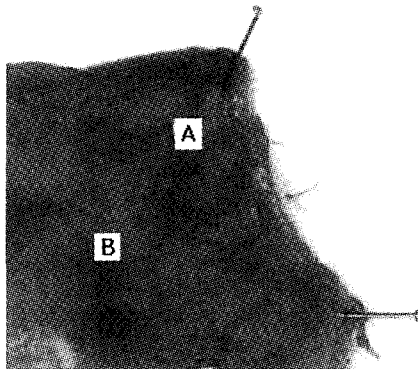


Fig. 3. Vascular permeability activity of crude exotoxin produced by tested strain on the rat skin. A, Control (0.85% NaCl); B, *Vibrio* sp. E10.

Table 2. Lethal toxicity of the cultured fluids of *Vibrio* sp. E10

| Tested strain | Mouse weight (g) | Death time (min) | Toxicity (min/g) |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>Vibrio</i> sp. E10 | 19.09 | 254 | 13.3 |
| | 19.49 | 255 | 13.1 |
| | 18.23 | ND | . |
| | 18.47 | 268 | 14.5 |
| | 18.33 | 249 | 13.6 |
| Mean toxicity | | | 13.33 |

ND: No death within 24 hrs.

생육영향인자

Vibrio sp. E10은 염도 0.5~1.0%를 최적조건으로 하여 4.5%까지 생육 가능하였다 (Table 3). 또한 pH 8.6에서 가장 활발하게 증식하였으며 생육 가능한 범위는 pH 6.2~9.2였으며 (Table 4) 알칼리성 범위에서 좋은 생육을 보여 *Vibrio*속의 공통적인 특징을 나타내었다 (Kim, 1996; Kim, 1994). 생육 가능한 온도는 14°C에서 42°C이었다 (Table 5).

Table 3. Effect of salinity on the growth of *Vibrio* sp. E10

| 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 4. Effect of pH on the growth of *Vibrio* sp. E10

| pH | 4.1 | 5.2 | 6.2 | 7.1 | 8.0 | 8.6 | 9.2 | 9.6 |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | - | - | + | + | ++ | +++ | + | - |

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

Table 5. Effect of temperature on the growth of *Vibrio* sp. E10

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

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

16S rDNA 염기서열

Vibrio sp. E10의 16S rDNA 염기서열은 Heidelberg et al. (2000)에 의해 보고된 *V. cholerae* El Tor N16961를 비롯한 10여종의 *V. cholerae*와 *V. mimicus* ATCC 33653T의 염기서열과 99%의 상동성을 보여 동일한 그룹 (Proteobacteria; gamma subdivision; *Vibrionaceae*; *Vibrio*)에 속하는 유사 종으로 판명되었다 (Fig. 4).

세균자동동정기를 이용한 동정

생화학적 시험에서 일치하는 균종이 없었던 시험균주 *Vibrio* sp. E10의 분류학적 위치를 파악하고자 세균 자동동정기를 이용한 동정을 실시하였다.

실험에 사용된 미국 Biolog사의 세균 자동동정기 시스템은 시험균주의 탄소원 및 질소원 기질 95종류에 대한 이용능력을 흡광도로 측정하고 이 값을 % data로 변환하여 +, -, v 등으로 나타낸 후 시스템 내에 database로 구축된 기존의 알려진 균의 반응결과와 비교하는 동정시스템이다. 이 때 상호유사성 (similarity)이 0.5 이하이거나 편차 (distance)가 5.0 이상일 경우 동정이 안된 것으로 분석하였다.

동정 결과 균 속의 차원에서는 거의가 *Vibrio*속으로 동정되었다 (Table 6). 그러나 균종 동정을 위한 상호유사성 (similarity)은 모두 0.5 미만의 값을 보였고 편차 (distance)도 거의 5.0 이상이었으므로 시스템 내 database의 *Vibrio*속과는 일치하는 균주가 없었다. 반면 대조군으로 사용한 일본 오까야마 대학으로부터 분양받은 *V. vulnificus*의 동정결과 similarity 0.77, distance 2.02의 *V. vulnificus*로 동정되어 사용 시스템의 신뢰성을 나타내었다. 한편 두 균주에 대한 5회의 시험 결과를 Table 7과 같이 종합하고 기본적인 생화학적 시험에서 유사하였던 *V. mimicus* 및 *V. cholerae*를

gi|9657351|gb|AE004341.1|AE004341
Vibrio cholerae chromosome I, section 249 of 251 of the complete chromosome
 Length = 11102
 Score = 1138 bits (574), Expect = 0.0
 Identities = 583/586 (99%)
 Strand = Plus / Minus

```

Query: 1   ggccaggcctaacacatgcaagtcgagcggcagcacagaggaacttgttccttgggtggcg 60
Sbjct: 7824 ggccaggcctaacacatgcaagtcgagcggcagcacagaggaacttgttccttgggtggcg 7765

Query: 61   agcggcggacgggtgagtaatgcctgggaaattgcccggtagagggggataaccattgga 120
Sbjct: 7764 agcggcggacgggtgagtaatgcctgggaaattgcccggtagagggggataaccattgga 7705

Query: 121  aacgatggctaataaccgataacctcgttaagagcaaagcaggggaccttagggccttgg 180
Sbjct: 7704 aacgatggctaataaccgataacctcgttaagagcaaagcaggggaccttagggccttgg 7645

Query: 181  ctaccggatatgccaggtgggattagctagttggtgaggttaagggtcaccaaggcgac 240
Sbjct: 7644 ctaccggatatgccaggtgggattagctagttggtgaggttaagggtcaccaaggcgac 7585

Query: 241  gatccctagctggtctgagaggatgatcagccacactggaactgagacacgggtccagact 300
Sbjct: 7584 gatccctagctggtctgagaggatgatcagccacactggaactgagacacgggtccagact 7525

Query: 301  cctacgggaggcagcagtggggaatatgcaaatgggcgcaagcctgatgcagccatgc 360
Sbjct: 7524 cctacgggaggcagcagtggggaatatgcaaatgggcgcaagcctgatgcagccatgc 7465

Query: 361  cgctgtatgaagaaggccttcgggttgtaaagtactttcagtagggaggaaggtggtta 420
Sbjct: 7464 cgctgtatgaagaaggccttcgggttgtaaagtactttcagtagggaggaaggtggtta 7405

Query: 421  agttaataccttaatcatttgacgttacctacagaagaagcaccggctaactccgtgcca 480
Sbjct: 7404 agttaataccttaatcatttgacgttacctacagaagaagcaccggctaactccgtgcca 7345

Query: 481  gcagcccggttaatacggagggtgcaagcgttaatcggaattactgggcgtaaagcgcat 540
Sbjct: 7344 gcagcccggttaatacggagggtgcaagcgttaatcggaattactgggcgtaaagcgcat 7285

Query: 541  gcaggtggtttgttaagtcagatgtgaaagccctgggctcaaccta 586
Sbjct: 7284 gcaggtggtttgttaagtcagatgtgaaagccctgggctcaaccta 7239

```

Fig. 4. 16S rDNA sequence homology between *Vibrio* sp. E10 and *V. cholerae* El Tor N16961.

비교하면, *V. mimicus*와는 tween 40, cellobiose, gentiobiose, inositol, β -methyl-D-glucoside, D-sorbitol, α -hydroxybutyric acid, succinamic acid, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, L-asparagine, L-glutamic acid, glycyL-L-aspartic acid, glycyL-L-glutamic acid, thymidine, glycerol, D,L- α -glycerol phosphate 등 18종류의 항목이, *V. cholerae*와는 tween 40, N-acetyl-D-galactosamine, α -D-lactose, sucrose, acetic acid, citric acid, α -hydroxybutyric acid, succinamic acid, D-alanine, L-proline, glucose-6-phosphate 등 11종

류의 항목이 다른 반응을 나타내었다. *V. cholerae*에서 *V. mimicus*가 새로운 종으로 독립 명명될 때 유전적 상동성에서는 큰 차이를 보였으나 생화학적 시험에서는 sucrose 분해성과 Voges-Proskauer 시험 등 2항목에서만 차이를 보였던 점 (Davis et al., 1981)을 감안하면 시험균주는 *V. mimicus*와 유사하지만 현재까지 분류되지 않은 다른 균종일 가능성이 높을 것으로 생각된다. 또한 분자생물학적 확인, 독성에 관한 특성 및 생태적인 특성이 더 세밀히 구명되어야 할 것으로 생각되므로 생화학적 차이를 분류의 기초 자

Table 6. Identification of *Vibrio* sp. E10 using MicroLog™ system

| Tested strain | Test no. | Priority | Identified genus or species | Sim ¹⁾ | Dist ²⁾ |
|----------------------------------|----------|----------|--|-------------------|--------------------|
| <i>Vibrio</i> sp. E10 | 1 | 1 | <i>Vibrio natriegens</i> | 0.07 | 17.44 |
| | | 2 | <i>Aeromonas</i> Media-like DNA group 5A | 0.05 | 17.53 |
| | 2 | 1 | <i>Vibrio mimicus</i> | 0.49 | 6.01 |
| | | 2 | <i>Yersinia ruckeri</i> | 0.11 | 6.49 |
| | 3 | 1 | <i>Vibrio fluvialis</i> | 0.53 | 7.34 |
| | | 2 | <i>Vibrio metschnikovii</i> | 0.00 | 9.18 |
| | 4 | 1 | <i>Vibrio furnissii</i> | 0.47 | 8.36 |
| | | 2 | <i>Vibrio metschnikovii</i> | 0.00 | 9.91 |
| | 5 | 1 | <i>Vibrio metschnikovii</i> | 0.64 | 3.85 |
| | | 2 | <i>Vibrio furnissii</i> | 0.04 | 4.80 |
| Control (<i>V. vulnificus</i>) | 1 | 1 | <i>Vibrio vulnificus</i> | 0.77 | 2.02 |
| | | 2 | <i>Vibrio anguillarum</i> | 0.04 | 3.04 |

Sim¹⁾, Similarity; Dist²⁾, Distance.

Table 7. Carbon and nitrogen utilization characteristics of tested strains

| No. | Carbon and nitrogen source names | C | D | A | B | E |
|-----|----------------------------------|---|---|---|----|-------|
| 1 | water | - | - | - | - | - |
| 2 | β -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 | - | + | + | - | \pm |
| 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 | - | - | - | - | - |

A, Database of *V. vulnificus*; B, Data of tested *V. vulnificus*; C, Database of *V. cholerae*; D, Database of *V. mimicus*; E, Data of tested *Vibrio* sp. E10.

Table 7. (continued)

| No. | Carbon and nitrogen source names | C | D | A | B | E |
|-----|----------------------------------|---|---|---|----|-------|
| 29 | L-rhamnose | - | - | - | - | - |
| 30 | D-sorbitol | - | + | 6 | + | - |
| 31 | sucrose | - | v | + | - | - |
| 32 | D-trehalose | + | + | + | + | + |
| 33 | turannose | + | + | + | + | + |
| 34 | xylitol | - | - | - | - | - |
| 35 | methyl pyruvate | + | + | + | + | + |
| 36 | mono-methyl succinate | - | + | + | + | + |
| 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 | 4 | + | + | + | + |
| 44 | D-glucosaminic acid | - | v | - | - | \mp |
| 45 | D-glucuronic acid | - | v | - | - | \pm |
| 46 | α -hydroxybutyric acid | - | v | - | - | + |
| 47 | β -hydroxybutyric acid | - | v | - | - | \mp |
| 48 | γ -hydroxybutyric acid | - | v | - | - | \mp |
| 49 | p-hydroxy phenylacetic acid | - | - | - | - | - |
| 50 | itaconic acid | - | - | - | - | - |
| 51 | α -ketobutyric acid | - | v | - | - | - |
| 52 | α -ketoglutaric acid | - | v | + | - | \pm |
| 53 | α -keto valeric acid | - | - | - | - | - |
| 54 | D,L-lactic acid | - | + | + | + | + |
| 55 | malonic acid | - | - | - | - | \mp |
| 56 | propionic acid | - | - | + | - | \mp |
| 57 | quinic acid | - | v | - | - | \mp |
| 58 | D-saccharic acid | - | v | - | - | \mp |
| 59 | sebamic acid | - | v | - | - | \mp |
| 60 | succinic acid | - | + | + | + | + |
| 61 | bromosuccinic acid | - | v | + | - | \pm |
| 62 | succinamic acid | - | + | + | + | - |
| 63 | glucuronamide | - | - | - | - | \pm |
| 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 | - | \mp |
| 74 | hydroxy-L-proline | - | - | - | - | - |
| 75 | L-leucine | - | - | - | - | - |
| 76 | L-ornithine | - | - | - | - | - |
| 77 | L-phenylalanine | - | - | - | - | - |
| 78 | L-proline | - | v | - | 10 | + |
| 79 | L-pyroglytamic acid | - | - | - | - | \mp |
| 80 | D-serine | - | - | + | - | \mp |
| 81 | L-serine | - | - | + | - | \mp |

A, Database of *V. vulnificus*; B, Data of tested *V. vulnificus*; C, Database of *V. cholerae*; D, Database of *V. mimicus*; E, Data of tested *Vibrio* sp. E10.

Table 7. (continued)

| No. | Carbon and nitrogen source names | C | D | A | B | E |
|-----|-----------------------------------|----|---|---|----|---|
| 82 | L-threonine | - | v | + | - | + |
| 83 | D,L-carnitine | - | - | - | - | - |
| 84 | γ -aminobutyric acid | - | - | - | - | - |
| 85 | urocanic acid | - | - | - | - | - |
| 86 | inosine | + | + | + | + | + |
| 87 | uridine | 48 | + | + | 15 | + |
| 88 | thymidine | - | + | + | - | + |
| 89 | phenyl ethylamine | - | - | - | - | - |
| 90 | putrescine | - | - | - | - | + |
| 91 | 2-aminoethanol | - | - | - | - | + |
| 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*; C, Database of *V. cholerae*; D, Database of *V. mimicus*; E, Data of tested *Vibrio* sp. E10.

료로서 제시하는 바이다.

요 약

금강 하구에서 분리한 용혈독소를 생산하는 *V. mimicus*와 유사하지만 분류되지 않은 기수성 *Vibrio*속으로 추정되는 균주 *Vibrio* sp. E10 (*V. kunsan*)의 세균학적 특징은 다음과 같다.

기본적인 생화학적 시험과 전자현미경 상의 형태에서는 *V. mimicus*와 유사하였지만 TCBS 배지 상의 colony 형태는 *V. vulnificus*와 유사하였으므로 *V. mimicus*와는 차이를 보였다. Human과 sheep blood agar에서의 뚜렷한 용혈환과 rat에 피부혈관투과항진 작용으로 용혈독성이 있었으며, mouse에 대한 치사독성이 있었으므로 병원성이 확인되었다.

생육 가능한 환경 조건은 염도 0~4.5%, pH 6.2~9.2, 온도 14~42°C이었다.

Vibrio sp. E10의 16S rDNA 염기서열은 10여종의 *V. cholerae*와 1종의 *Vibrio mimicus*의 염기서열과 99%의 상동성을 보여 유사종으로 판명되었다.

그러나 세균 자동동정기를 이용한 동정 결과, genus는 *Vibrio*속으로 동정되었으나 species는 일치하는 균종이 없었다. 알려진 *Vibrio*속 중에서 유사성이 높았던 *V. mimicus*와 비교해 볼 때 18종류의 항목이, *V. cholerae*와는 11종류의 항목이 다른 반응을 나타내어 미분류 균종으로 확인되었다.

참 고 문 헌

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, 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 typical *Vibrio cholerae* strain and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. Journal of Clinical Microbiology, 14, 631~639.
- Food and Drug Administration. 1992. Bacteriological Analytical Manual. 7th ed. AOAC International, Arlington, pp. 111~140.
- Food Research Institute. 1994. Food Safety 1994. Marcel Dekker, Inc., New-York, pp. 411~420.
- 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, 463~469 (in Korean).
- Heidelberg, J.F., J.A. Eisen, W.C. Nelson, R.A. Clayton, M.L. Gwinn, R.J. Dodson, D.H. Haft, E.K. Hickey, J.D. Peterson, L. Umayam, S.R. Gill, K.E. Nelson, T.D. Read, H. Tettelin, D. Richardson, M. D. Ermolaeva, J. Vamathevan, S. Bass, H. Qin, I. Dragoi, P. Sellers, L. McDonald, T. Utterback, R.D. Fleishmann, W.C. Nierman and O. White. 2000. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. Nature, 406, 477~483.
- 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 ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore, pp. 260~274.
- Janda, J.M., C. Powers, R.G. Bryant and S.L. Abbott. 1988. Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. Clinical Microbiology Reviews, 1, 245~267.
- Kim, S.H. 1996. Characteristics of *Vibrio cholerae* non-O1 FM-3 Isolated from Environmental Sea water and its Hemolysin. Pukyong National University, pp. 10~30 (in Korean).
- Kim, S.M. 1994. Studies on Bacterial Characteristics and Lethal Cold Stress of Pathogenic *Vibrio mimicus*. Pukyong National University, pp. 22~25 (in Korean).
- Kim, Y.M. 1989. Lethal toxin from *Vibrio vulnificus*. J. Korean Soc. Food Nutr., 18, 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), 20, 117~123 (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, 591~600 (in Korean).
- Park, S.D., H.S. Shon and N.J. Joh. 1991. *Vibrio vulnificus* septicemia in Korea: Clinical and epidemiologic findings in seventy patients. The American Academy of Dermatology, 24, 397~403.
- 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, 53~59 (in Korean).
- KFDA. 1998. 식중독발생 현황 및 대책. 한국식품의약품안전청 식중독 예방대책본부보고서, pp. 5~10.
- 本田武司, 山本耕一郎, 飯田哲也. 1991. ビブリオ屬菌の毒素, 遺伝子, 病原性. Medical Immunology, 21, 313~323.
- 赤羽莊資. 1989. 腸炎ビブリオ, その他のビブリオ. 食品と微生物, 6, 53~65.

2002년 8월 21일 접수

2002년 10월 28일 수리