

한국에서 분리된 *Vibrio cholerae* non-O1의 혈청형의 분포

성희경

인제대학교 의생명공학대학 임상병리학과

The Distribution of Serogroup of *Vibrio cholerae* non-O1 Isolated in Korea. Seong, Hee Kyung, Department of Medical Laboratory Science, Inje University, Kimhae Kyungnam 621-749, Korea – The studies were carried out to identification of biochemical characteristics and serogroup of 55 *Vibrio cholerae* non-O1 isolated from sea waters and shellfish from Apr., 1996 to Nov., 1996 in Korea coastal, and clinical sources from 1984 to 1996 in Korea hospitals. The results were as followed: *V. cholerae* non-O1 isolated 21 (10%) of 206 samples and the distribution in Kusan area was highest (16%) compared with those of other area, and its were not isolated during low water temperature of 13-18°C. Of 55 strains, a strain was delayed sucrose utilization for 48hr in the biochemical characteristics. Fifty five *V. cholerae* non-O1 were differentiated 15 types by serogroup test and O14 of sea waters were 76% of highest followed by 14 clinical sources were O8.

Key Word: *Vibrio cholerae* non-O1, distribution, serogroup.

Vibrio cholerae(*V. cholerae*)는 cholera 또는 유사 질환으로 남아시아와 인도 대륙에서 유행하다가 19세기 초인 1817년에서 부터 1961년에서 현재까지의 일곱 번째 세계적인 대유행시기 중에서 1817년에 첫 번째 대유행으로 무역통로를 따라서 세계도처에 전파되어 관심을 끌기 시작했다. 이들 질환에 대한 본격적인 관심은 1883년 Robert Koch가 cholera의 병독인자로 *V. cholerae*균을 동정했을 때부터다. 그러나 진단미생물학적 기술의 급속한 진전으로 cholera환자로부터 분리된 *V. cholerae*균과는 다른 형이 자연계에서 종종 발견함을 인식해 왔다[15]. 1935년 Gardner와 Vektraman은 다른 여러 연구자들의 연구들을 종합하여 O항원에 대한 혈청에 응집하는데 기인한 *V. cholerae*에 대한 윤곽을 잡게 되었다[5, 11, 16, 22]. 그 후 cholera를 가진 사람으로부터 분리된 전형 *V. cholerae*는 O group 1(O1)에 놓고 다른 분리주들을 nonagglutinating 또는 noncholera vibrios로 설정하였다. 초기에 많은 연구자들의 첫 관심은 정형인 O group 1과 비정형 균주와의 구별이 명확하게 가능할 것 인가였다. 또 초기 몇몇 저자들은 비응집 분리주들을 paracholera 또는 유사임상 증후군으로 그 가능성을 언급하여 증세가 유사한 *V. mimicus* 등도 여기에 포함시켰던 적도 있었다. 현재는 155종류의 O항원에 대한 serovar가 알려져 있다[3,8]. *V. cholerae* O1은 1960년대 까지만 해도 생물형인 classical형은 사람에게 치명적으로 심한 설사를 일으키는 균으로 알려져 왔으나 인도네시아의 Sulawesi섬에서 1937년경 풍토병으로 알려진 생물

형인 El-Tor형이 1961년에 일곱 번째의 세계적 유행기에 이미 classical형에서 병원성이 조금 약하게 바뀌어 아시아, 아프리카와 남미등지에 유행하였다. 최근에는 O1이외 즉 *V. cholerae* non-O1에서도 cholera 독소가 검출되는 균이 있어 이들도 *V. cholerae* O1과 유사한 질병 증세를 나타내고 있는 것으로 계속 보고 되어 오던 중 1992년 10월 인도의 마두라스에서 집단 설사 증세를 나타내었던 *V. cholerae* O139도 cholera toxin을 생산하여 *V. cholerae* O1과 같은 증세를 나타낸 것을 보고하고 있고[7,9] 근년에는 인도, 방글라데쉬, 네팔, 파키스탄, 태국, 말레이시아 및 중국 등에서 유행하고 있으며[1, 12, 15, 30] 미국, 영국, 독일, 에스파니아, 싱가포르, 일본 및 한국에서도 이 세균의 분리 보고가 되고 있다[4, 15, 19, 27]. 그러나 *V. cholerae* non-O1의 혈청형의 분포에 관한 연구로는 Dalsgaard 등의 Peru에서 분리된 임상검체와 Ramamurthy 등의 인도에서 분리된 균주를 대상으로 보고하고 있고[8, 12, 26] 한국에서는 정 등이 보고한 임상분리주의 O24, O35와 O139 이외는 보고한 예가 없다[2, 3]. 그러므로 이들에 대한 국민보건의 차원에서 조기 방역을 위하여 역학 조사 및 전염 예방 등의 문제가 대두되고 있으므로 우리나라 전해역과 각 지역에서 *V. cholerae*의 년중 분리빈도와 분포정도를 미리 파악하는 것이 여전히 요구된다 할 수 있다.

본 연구에서는 1996년 6월부터 동년 11월까지 동해, 남해 및 서해안 일대의 표면 해수와 어패류의 환경분리주와 1984년 부터 1996년 8월까지 서울 및 부산소재대학병원에서 환자로부터 분리된 임상분리주인 *V. cholerae* non-O1을 대상으로 생화학적 특성 및 혈청형을 분석하여 한국에서 *V. cholerae* non-O1에 대한 생화학적 특성 및 혈청형 분포를 파악함으로써 역학적인 기초자료로 제공하고자 한다.

*Corresponding author
Tel. 02-950-1230, 1235, Fax: 02-950-1244
E-mail: Hkseong02@yahoo.co.kr

재료 및 방법

실험재료

1996년 4월부터 11월까지 군산, 통영, 포항 및 부산 지역에서 206개 채수한 해수는 Table 1과 같이 월 1회를 원칙으로 하였으며 수온이 높은 7월에서 9월 사이에는 총 3회 채수하였다.

지역별로 채수취지점을 살펴보면 군산 지역에서는 해망동 어시장, 공단지역 10곳에서 채수하였다. 통영지역에서는 서호 시장과 중앙시장의 활어 소매점의 용수와 서호만내 충무호텔 앞 해역과 패류양식장 부근에서 채수하였다. 그리고 플랑크톤은 서호만 충무호텔앞 해역과 패류양식장 부근에서 채수하였다. 포항근처에서는 죽도 어시장 부근과 북부 해수욕장 부근에서 채수하였다. 부산지역에서는 민락동, 남천동, 자갈치 어시장의 활어 소매점의 용수와 이 지역 연안의 해수를 채수하였다.

채수할 때의 환경인자는 Table 2와 같았으며 Table 3과 같이 206개의 해수 및 어패류로부터 21개에서 *V. cholerae*로 분리한 41주와 1984년부터 1996년까지 부산 및 서울소재대학병원에서 보관중인 임상분리 14주와 표준균주 *V. cholerae* non-O1 ATCC 25872를 대상으로 하였다.

Table 1. Number of samples examined.

Stations	Number of samples								
	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Total
Kunsan	6	6	7	9	12	13	2	2	57
Tongyoung	8	8	9	4	6	6	3	3	47
Pohang	7	7	7	7	9	9	2	2	50
Busan	6	6	6	4	10	10	5	5	52
Total	27	27	29	24	37	38	12	12	206

Table 2. Environment data for sea water examined.

Stations	Salinity (‰)	pH	Temp. (°C)
Kunsan	22.4~30.7	7.3~8.0	15.0~26.5
Tongyoung	29.9~33.9	7.4~8.1	13.0~26.0
Busan	27.9~33.3	7.7~8.0	14.0~27.3
Pohang	31.6~36.3	7.8~8.1	14.0~26.0

Table 3. Detection rate of pathogenic *Vibrio cholerae* from sea water.

Isolated species	Kunsan			Tongyoung			Pohang			Busan		
	S	I	%	S	I	%	S	I	%	S	I	%
<i>V. cholerae</i> non-O1	57	9	16	47	3	6	50	5	10	52	4	8
<i>V. cholerae</i> O1	57	0	0	47	0	0	50	0	0	52	0	0

S: number of tested samples; I: number of isolated samples.

실험방법

시료채수, 분리 및 생화학적 특성 - 시료해수의 온도는 채수 즉시 봉상온도계로 측정하였으며, pH는 실험실로 수송한 후 digital pH meter(Suntex sp-7)로 측정하였고 염분농도는 salinometer(Tsurumi Seiki sm-2000)로 측정하였다.

해수는 1000 ml과 100 ml를 각각 membrane filter(Ψ 0.45 μm, Milipore)에 여과한 후 여과지를 peptone수(1% NaCl, 1% peptone)에 넣어 37±0.5°C에서 18시간 증균하였고 10 ml 접종은 2배 농도의 peptone수를 사용하였다.

균주의 선택은 증균 후 TCBS(Thiosulfate citrate bile sucrose) agar(Difco, Co)에 37 ml±0.5°C에서 18시간 획선 배양하여 녹색의 모든 집단과 황색의 집락 중 직경이 1-1.5 mm, 표면이 평활한 것을 선택하였으며 기타 실험 항목과 방법은 미국 식품약품관리청(FDA)의 방법에 준하였다.

Conventional method는 MacFaddin(1984)에 준하였고[10, 13, 19, 20] commercial kit는 rapid ID 32E(bioMerieux sa, France)를 사용하였으며 결과는 ATB system reader로 판독하였다.

혈청형검사 - 혈청형은 시판되는 cholerae진단용 혈청(Denka Seiken) 및 일본 국립예방 위생연구소에서 제조된 *Vibrio cholerae* 항혈청(O1-O155)을 사용해서 균을 100°C에서 1시간 가열한 사균을 항원으로 하여 slide응집반응을 실시하였다[22, 28, 29].

결과 및 고찰

생화학적 성상

분리된 *V. cholerae* non-O1의 생리생화학적 성상은 0%의 NaCl농도에서 모두 자라고, oxidase와 DNase의 생성과 Muller법에 의한 lysine 및 ornithine의 이용능은 참고치 99%와 거의 일치하였다. 반면, ATB에 의한 mannitol의 반응은 참고치 79% 보다 100%로 일치하지 않았으나 conventional법의 99%와는 거의 일치하였다. Table 5에서 동정 system인 Rapid ID ATB 32E로 각 code의 분포 양상은 0240116603이 33%, 02401166603이 38.6%, 6240116403이 17.5%, 그리고 42401166403이 10.5%로 나타나 90%이상의 유사도로 *V. cholerae*를 동정할 수 있었다[13, 17, 18, 20, 24]. 그러나 한 균주가 *V. mimicus*로 동정이 되어 sucrose이용능을 conventional 방법으로 확인 해 본 결과 48시간 후 양성 반응이 확인되었고 혈청학적 방법으로 확인해 본 결과 O36으로 동정되었다[6]. *V. cholerae*의 분리를 위하여 통상적으로 TCBS를 사용하여 선택적으로 분리하고 감별은 sucrose 이용능으로 하는데 이러한 sucrose의 이용속도가 늦은 균주로 인하여 *V. cholerae*가 아닌 것으로 추정하여 분리가 떨어지는 원인이 될 수 있다[6, 20, 21]. 더구나 본 연구에서도 임상분리주가 설사환자의 분변에서 검출되지는 않고 혈액에서만 검출된 까닭은 분변으로 *Vibrio* 속을 분리할 때 일반적

Table 4. Monthly change of detection rate of pathogenic *Vibrio cholerae* from sea water.

Isolated species	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Total(%)
<i>V. cholerae</i> non-O1	0a/27b	0/27	1/29	3/24	8/37	9/38	0/12	0/12	21/206 (10)
<i>V. cholerae</i> O1	0/27	0/27	0/29	0/24	0/37	0/38	0/12	0/12	0/206(0)

a, number of positive samples; b, number of tested samples.

Table 5. Biochemical characteristics of the isolated *V. cholerae* non-O1.

Reaction of substrates	Reference data (%)	Results of reaction(%)	
		Environmental	Patient
Oxidase	100	41 ^a /41 ^b (100)	14/14(100)
Indole	100	41/41(100)	14/14(100)
Urease	0	0/41(100)	0/14(0)
Decarboxylation:			
Lysine	20	10/41(27)	3/14(21)
Ornithine	10	22/41(54)	7/14(50)
Arginine (Möller)	0	2/41(5)	1/14(7)
Lysine (Möller)	99	40/41(98)	14/14(100)
Ornithine (Möller)	99	39/41(95)	14/14(100)
Fermentation	100	41/41(100)	14/14(100)
Esculine	0	0/41(0)	0/14(0)
Assimilation:			
Arabinose	0	0/41(0)	0/14(0)
Adonitol	0	0/41(0)	0/14(0)
Rhamnose	0	0/41(0)	0/14(0)
Raffinose	0	0/41(0)	0/14(0)
Mannitol	79	41/41(100)	14/14(100)
Sorbitol	0	0/41(0)	0/14(0)
Cellobiose	0	0/41(0)	0/14(0)
Melibiose	0	0/41(0)	0/14(0)
Glucuronate	6	1/41(2)	0/14(0)
Mannose	60	3/41(7)	0/14(0)
Maltose	100	41/41(100)	14/14(100)
Sucrose	100	41/41(100)	13/14(93)
Trehalose	82	41/41(100)	14/14(100)
Malonate	0	2/41(5)	0/14(0)
Palatinose	0	0/41(0)	0/14(0)
Tetrathionate reductase	0	0/41(0)	0/14(0)
Phenylalanine deaminase	0	10/41(24)	0/14(0)
5-Ketogluconate	0	0/41(0)	0/14(0)
Galacturonate	0	0/41(0)	0/14(0)
Coumarate	94	41/41(100)	14/14(100)
O-Nitrophenyl-N-Acetyl-β-D-Galactopyranoside	100	41/41(100)	14/14(100)
P-Nitrophenylβ-D-Galactopyranoside	97	41/41(100)	14/14(100)
Colistin	100	41/41(100)	14/14(100)
α-Galactosidase	0	0/41(0)	0/14(0)
Indoxylphosphate	0	0/41(0)	0/14(0)
DNase	100	41/41(100)	14/14(100)
Growth in 0% NaCl	100	41/41(100)	14/14(100)
1% NaCl	100	41/41(100)	14/14(100)
2% NaCl	100	41/41(100)	14/14(100)

^a number of positive samples; ^b number of tested samples.

Table 6. Serotypes of *V. cholerae* non-O1 submitted to this study.

Source Serotype	Environmental Sources		Patient blood	Total
	Sea water	Shellfish		
O2	1	·	3	4
O5	·	·	1	1
O6	1	·	·	1
O8	·	·	5	5
O9	1	·	·	1
O10	1	·	2	3
O14	28	·	·	28
O26	·	·	2	2
O27	2	1	·	3
O36	1	·	·	1
O37	·	1	·	1
O39	1	·	1	2
O45	·	1	·	1
O69	1	·	·	1
O81	·	1	·	1
Total	37	4	14	55

으로 TCBS를 사용한 결과라 할 수 있으며 반면 혈액배양에서는 혈액배지나 초코렛배지 등의 증균용배지를 사용하기 때문에 이를 더욱 뒷받침하고 있다.

따라서 앞으로 분변이나 환경 속의 수계 등에서 *Vibrio* 속을 분리하기 위하여 TCBS만의 사용은 분리률에 상당한 영향을 미칠 수 있으므로 억제력이 약한 Hektoen-Enteric이나 MacConkey배지 등과 함께 사용하는 편이 분리률을 높일 수 있을 것으로 사료되었다.

혈청형

자연계 및 임상에서 분리된 총 55균주의 *V. cholerae* non-O1을 대상으로 Table 6과 같이 혈청학적 검사를 하였다[14, 23, 25]. 55개 시료에서 15개의 혈청형으로 감별이 가능하였고 환경분리균주 O14가 전체의 41균주 중에서 28균인 68.3%로 가장 많이 검출되었으며 환자분리 균주는 전체의 14균주 중에서 O8이 5균주인 35.7%로 가장 많이 검출되었다. 환경분리와 환자분리균주에서 공통적으로 검출되었던 형은 O2, O10과 O39였고, 환경분리에서만 검출된 것은 O6, O9, O14, O27, O36, O37, O45, O69그리고 O81이며 환자

에서만 검출된 것은 O5, O8과 O26이 검출되었다. 환자에서 분리된 *V. cholerae* non-O1은 모두 혈액 배양에서 검출되었다. 이는 Dalsgaard 등[8]이 페루의 리마지역에서 환자검체를 대상으로 혈청형을 조사한 결과인 O12가 58군주 중 대부분을 차지하고 있는 것과는 많은 대조를 이루고 있고 공통적으로 검출되는 것은 O2와 O10이며 그 외는 전혀 다른 혈청형 분포를 나타내었으며 특히 페루의 리마에서 분리된 것은 감별이 되지 않는 것도 있어서 역학적으로 상당한 의미를 부여하고 있다. 또한 인도에서 Ramamurthy 등[26]의 연구에서는 O5, O7, O8, O11, O14, O26, O34, O39, O97로 우리의 O5, O8, O26, O39와 일치하였다. 상기의 결과에서 O5, O8과 O26이 환자분리군주에서만 검출된 것은 오염된 수산물에 반드시 cholera의 발병원인 제공식품으로 언급하기는 어려우며 O2, O10와 O39가 환자와 해수에서 공통적으로 검출되기는 하였으나 기저질환이 있는 사람이 일반 미생물에 기회적으로 감염이 되듯이 오염된 수산물을 섭취시 감염 가능성이 높다는 것 이외는 상당히 설득력이 낮았다. O2와 O10인 경우 남미지역 페루에서와 같은 형이 검출된 것은 우리나라 고유의 토착균인지 아니면 동남아 등에서 유입된 균인지는 좀더 연구조사가 필요하였다[4, 18]. 현재까지 우리 나라에서는 정 등[2]의 O24와 정 등[3]의 O35와 O139가 환자에서 검출되었다는 보고이외에는 연구가 전무한 상태다. 더구나 본 연구의 환경에서 분리된 O37이 1968년에 수단에서 유행을 한 사실과 최근 인도의 환자로부터 분리보고가 되고 있어 이 지역으로 출입하는 선박이나 여행객에 의한 일시적인 검출인지 아니면 이미 한국해역에 토착되어 있는지는 알 수 없지만 만약 토착되어 있다거나 오염이 되었다면 앞으로 좀 더 광범위한 역학적인 검토와 보건 위생학적으로 상당한 관심의 대상 군주로 관리되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

우리나라 연안해역의 해수나 어패류에서 *V. cholerae* non-O1의 분포를 밝힘과 동시에 1996년 4월부터 동년 11월까지 분리된 환경분리주와 1984년부터 1996년까지 서울 및 부산 소재 각 대학병원에서 환자로부터 분리된 총 55군주를 대상으로 생화학적 특성과 혈청형을 분석하였다.

V. cholerae non-O1은 한국의 연안에서 206검체중 21검체(10%)에서 분리되었으나 *V. cholerae* O1 및 O139는 검출되지 않았다. 지역별로는 군산에서 16%로 검출률이 제일 높았다.

환경이나 환자에서 분리된 *V. cholerae* non-O1 55군주에 대한 혈청형 분석결과 15종류의 혈청형이 검출되었는데 환경분리주 12종류, 환자분리주에서는 6종류이었다. 그런데 환경분리주에서는 O14가 68.3%(28/41)이었고, 환자분리주에서는 O8이 약 36%(5/14)로 많았고 그 다음으로 O2와 O10

등의 순이었다. 그리고 O2, O10와 O39는 환경 및 환자분리주에서 동시에 검출되었다.

REFERENCES

1. 이영옥, 박일규, 윤규식, 김신규, 김대근, 최태열. 1989. *Vibrio cholerae* non O1 과 *Vibrio vulnificus* 의 동시감염에 의한 패혈증 1예. 임상병리와 정도관리. **11**: 111-115.
2. 정운섭, 이삼열, 이상인, 정재복, 전재윤, 시마다. 1991. *Vibrio cholerae* serogroup non-O1에 의한 간경변 환자의 패혈증 3 예. 감염. **23**: 117-123.
3. 정태화, 이복권, 김호훈. 1995. 地球村 콜레라 流行의 歷史와 우리나라의 現況. 임상병리검사과학회지. **27**: 7-19.
4. 勢戶和子, 小林一寛, 赤阪進, 牧野正道. 1990. 感染症誌. **64**: 1330-1336.
5. Amato, K., S. Shimodori, T. Imito, S. Mike, and A. Umeda. 1987. Effects of chitin and its soluble derivatives on survival of *V. cholerae* O1 at low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 603-605.
6. Ansaruzzaman, M., M. Rahman, A. K. M. G. Kibriya, N. A. Bhuiyan, M. S. Islam, and M. J. Albert. 1995. Isolation of sucrose late-fermenting and nonfermenting variants of *Vibrio cholerae* O139 Bengal: Implications for diagnosis of cholera. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 1339-1340.
7. Bryant, T. N., J. V. Lee, P. A. West, and R. R. Colwell. 1986. Numerical classification of species of *Vibrio* and related genera. *J. Appl. Bacteriol.* **61**: 437-467.
8. Dalsgaard, A., M. J. Albert, D. N. Taylor, T. Shimada, R. Meza, O. Serichantalergs, and P. Echeverria. 1995. Characterization of *Vibrio cholerae* non-O1 serogroups obtained from an outbreak of diarrhea in Lima, Peru. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 2715-2722.
9. Dhamodaran, S., S. Ananthan, and P. Kuganatham. 1995. A retrospective analysis of the Madras epidemic of non-O1 *Vibrio cholerae* new serogroup O139 Bengal. *Indian J. Med. Res.* **101**: 94-97.
10. Farmer III, J. J. 1922. The family *Vibrionaceae*. P. 2938-2951. In Balows, A., H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, and K-H. Schleifer(ed.), *The prokaryotes*. Springer-Varlag press., New York.
11. Gardner, A. D. and V. K. Vekatraman. 1935. The antigen of the cholera group of vibrios. *J. Hyg.* **35**: 262-282.
12. Gomber, S., M. Mathur, and P. P. Sharma. 1995. Diarrhoeal outbreak of *Vibrio cholerae* O139 from north India. *Acta Paediatr.* **84**: 206-207.
13. Hansen, G. H, and R. Sorheim. 1991. Improved method for phenotypical characterization of marine bacteria. *J. Microbiol. Methods.* **13**: 231-341.
14. Kaya, S., Y. Araki, and E. Ito. 1989. The structure of the O-polysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa* IID 1009 (ATCC 27535). *J. Biochem.* **105**: 35-38.
15. Kenyon, J. E., D. R. Piexoto, B. Austin, and D. C. Gillies. 1984. Seasonal variation in number of *V. cholerae*(non-O1) isolated from California coastal waters. *Appl. Environ. Micro-*

- biol. **47**: 1243-4245.
16. Kondo, S., Y. Haishima, and K. Hisatsune. 1990. Analysis of the 2-keto-3-deoxyoctonate(KDO) region of lipopolysaccharides isolated from non-O1 *Vibrio cholerae* O5R. *FEMS Microbiol. Lett.* **56**: 155-158.
 17. Krieg, N. R. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. vol. 1. P 516-550. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
 18. Lapage, S. P., S. Bascomb, W. R. Willcox, and M. A. Curtis. 1973. Identification of bacteria by computer: general aspects and perspectives. *J. Gen. Microbiol.* **77**: 273-290.
 19. Lefkowitz, A., G. S. Fout, G. Losonsky, S. S. Wasserman, E. Istael, and J. G. Morris. 1992. A serosurvey of pathogens associated with shellfish: Prevalence of antibodies to *Vibrio* species and Norwalk virus in the Chesapeake bay region. *Am. J. Epidem.* **135**: 369-380.
 20. MacFaddin, J. F. 1984. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Williams & Wilkins, 2nd ed., Baltimore, America..
 21. Nair, G. B., S. Misra, R. K. Bhadra, and S. C. Pal. 1987. Evaluation of the multitest medium for rapid presumptive identification of *Vibrio cholerae* from environmental sources. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 1203-1205.
 22. Orskov, F., I. Orskov, A. Sutton, R. Schneerson, W. Lin, W. Egan, G. E. Hoff, and J. B. Robbins. 1979. From variation in *Escherichia coli* K1: determined by O-acetylation of the capsular polysaccharide. *J. Exp. Med.* **149**: 669-685.
 23. Preston, L. M., Q. Xu, J. A. Johnson, A. Joseph, D. R. Maneval, K. Husain, G. P. Reddy, C. A. Bush, and J. G. Morris. 1995. Preliminary structure determination of the capsular polysaccharide of *Vibrio cholerae* O139 Bengal A11837. *J. Bacteriol.* **177**: 835-838.
 24. Qadri, F., A. Chowdhury, J. Hossain, K. Chowdhury, T. Azim, T. Shimada, K. M. Nasirul Islam, R. B. Sack, and M. J. Albert. 1994. Development and evaluation of rapid monoclonal antibody-based coagglutination test for direct detection of *Vibrio cholerae* O139 synonym Bengal in stool samples. *J. Clin. Microbiol.* **32**: 1589-1590.
 25. Ramamurthy, T., A. Pal, S. C. Pal, and G. B. Nair. 1992. Taxonomical implications of the emergence of high frequency of occurrence of 2,4-diamino-6, 7-diisopropylpteridine-resistant strains of *Vibrio cholerae* from clinical cases of cholera in Calcutta, India. **30**: 742-743.
 26. Ramamurthy, T., P. K. Bag, A. Pal, S. K. Bhattacharya, M. K. Bhattacharya, T. Shimada, T. Takeda, T. Karasawa, H. Kurazono, Y. Takeda, and G. B. Nair. 1993. Virulence patterns of *Vibrio cholerae* non-O1 strains isolated from hospitalised patients with acute diarrhoea in Calcutta, India. *J. Med. Microbiol.* **39**: 310-317.
 27. Rhodes, J. B., H. L. Smith Jr., and J. E. Ogg. 1986. Isolation of non-O1 *V. cholerae* serovar from surface water in Western Colorado. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**: 1216-1219.
 28. Shimada, T. and R. Sakazaki, 1977. Additional serovas and inter-O antigenic relationships of *Vibrio cholerae*. *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, **30**: 275-277.
 29. Smith, H. L. JR. 1979. Serotyping of non-cholera Vibrios. *J. Clin. Microbiol.*, **10**: 85-90.
 30. Venkateswaran, K., T. Takai, I. M. Navarro, H. Nakano, H. Hashimoto, and R. Siebeling. 1989. Ecology of *V. cholerae* non-O1 and *Salmonella* spp. and role of zooplankton in their seasonal distribution in Fukuyama coastal waters. *Japan. Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 1591-1598.

(Received Aug. 19, 2002/Accepted Jan. 30, 2003)