

Repetitive Element-PCR (rep-PCR)을 이용한 *Vibrio parahaemolyticus*의 분자유전학적 아형 분류

충북대학교병원 진단검사의학과·분당제생병원 진단검사의학과·서울대학교 의과대학 분당병원 진단검사의학과
단국대학교 첨단과학부 미생물학과³·충북대학교 의과대학 진단검사의학과 교실

김원식·홍승복¹·이 경²·이정남³·신경섭⁴

Molecular Typing of *Vibrio parahaemolyticus* by Repetitive Element-PCR (rep-PCR)

Kim, Won Sik., Hong, Seung Bok¹., Lee, Kyung²., Lee, Jung Nam³., Shin, Kyeong Seob⁴

Dept. of Laboratory Medicine, Chungbuk National University Hospital, Cheong Ju, Korea

Dept. of Laboratory Medicine, Pundang Jesaeng General Hospital, Sung Nam,¹ Korea

Dept. of Laboratory Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Sung Nam,² Korea

Dept. of Microbiology, Dankook University, Cheonan,³ Korea

Dept. of Laboratory Medicine, Chungbuk National University College of Medicine, Cheong Ju, Korea⁴

The enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR is a recently described DNA fingerprinting technique based on amplification of repetitive element distributed in bacteria. We applied of ERIC-PCR to clinical isolates of *Vibrio parahaemolyticus* and other bacteria associated diarrhea. Twenty isolates of *V. parahaemolyticus* were used for intragenic genotyping, which were isolated from 2001 to 2002 in Chungbuk National University hospital. For interspecies genotyping, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Shigella* spp. were used. The genotyping were analyzed by ERIC-PCR. The genotyping of *V. parahaemolyticus* were grouped two major pattern (A, B) and were subdivided into 10 subtypes (A1, A2, B1-B8) by ERIC-PCR. These method distinctly differentiated bacterial species associated diarrhea. Those results show that ERIC-PCR can be reliable and efficient method for genotyping of *V. parahaemolyticus* and bacteria associated diarrhea.

Key Words : *Vibrio parahaemolyticus*, Genotyping, ERIC-PCR, Diarrhea

I. 서 론

*Vibrio parahaemolyticus*는 호염성 그람음성 세균으로 근해의 해수나 해산물에 서식하며, 인체 감염은 주로 부

적절하게 조리한 해산물의 섭취로 위장관염을 일으킨다 (권 등, 2000; 김 등, 2001). 현재 범 세계적으로 *V. parahaemolyticus* new O3:K6가 유행하고 있으며, 이미 국내에서도 이 혈청형의 *V. parahaemolyticus*가 몇 년 전 부터 유행하고 있다(Okuda 등, 1997; Matsumoto 등 2000; 금 등, 2002; Nasu 등, 2000). 역학적 조사를 위해서는 항 생제 감수성 검사, 혈청형 검사, 독소검사 등 표현형에 의

교신저자 : 김원식, (우)361-711 충북 청주시 흥덕구 개신동 62
Tel : 043-269-6249
E-mail : wshik7025@hanmail.net

한 분류가 많이 사용되었으나(Okuda 등, 1997; 금 등, 2002), 분별력 및 재현성을 포함한 여러 가지 제한점이 있어 최근에는 분자역학적 방법이 많이 이용되고 있다(Marshall 등, 1999; Wong 등, 1999; Wong과 Lin, 2001). 분자역학적 방법 중 PFGE 및 ribotyping 등은 기기, 시간 및 노동력 등의 문제로 인해 임상 검사실에서 적용이 제한될 수 있어, 장비 및 기술적 제한이 적은 PCR을 이용한 방법이 최근에 이용되고 있다(Marshall 등, 1999; Wong과 Lin, 2001). 국내에서도 금 등(금 등, 2002)은 Infrequent restriction site(IRS)-PCR을 이용한 *V. parahaemolyticus*의 유전자형을 분석하였다. 분자유전학적 분류에 PCR을 이용하는 방법에는 random amplified polymorphic DNA, repetitive-element PCR(rep-PCR) 등(Madico 등, 1995; Hulton 등, 1991; Stem 등, 1984; Wood 등, 1992)도 있는데, 이들 방법은 IRS-PCR 보다 좀더 간편하고 실용적이다. 따라서 저자들은 *V. parahaemolyticus*의 분자유전학적 분류에 rep-PCR 중 enterobacterial repetitive intergenic consensus(ERIC)-PCR을 적용하여 보았다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

2001년부터 충북대학교 병원 미생물 검사실에서 동정된 *V. parahaemolyticus* 20 균주를 아형분류에 이용하였으며, 설사 질환을 일으키는 다양한 *Vibrio* spp. 및 장내세균을 균종간(intergenic) 분류에 이용하였다. 균종간 분류에 이용된 장내세균에는 *V. vulnificus*(임상분리주), *V. alginolyticus* ATCC 11749, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802, *E. coli* ATCC 43890(verotoxin 1), *E. coli* ATCC 43889(verotoxin 2), *E. coli* ATCC 51435(verotoxin varinant), *Salmonella*. Typhi(임상분리주), *Salomonella* group B, D(임상분리주), *Shigella dysenteriae* 및 *Shigella sonnei*(임상분리주) 등을 포함하였다.

2. 연구방법

1) 환자 정보 조사

*V. parahemolyticus*가 분리된 환자의 균 분리일, 진단명, 병동 등의 임상정보를 진료기록을 통하여 조사하였다.

2) 균의 동정 및 감수성 검사

(1) 균의 동정

균의 동정을 위해 설사를 주소로 내원한 환자의 대변을 MacConkey agar, SS agar, thiosulfate citrate bile salt agar (TCBS) 배지에 접종 후 37°C에서 하룻밤 동안 배양한 후 TCBS 선택배지에서 초록색 집락을 선택하였다. Oxidase 검사에서 양성을 보이고, 0% NaCl에서 자라지 않으며 6% NaCl에서 자란 균을 Vitek system (bio-Merieux, Inc., Hazelwood, France)으로 최종 확인하였다.

(2) 항균제 감수성 검사

항균제 감수성 검사는 디스크 확산법을 이용하였으며, 사용한 항균제는 tetracycline, ampicillin, ciprofloxacin 등이었다. 디스크 확산법은 NCCLS guideline(NCCLS, 2000)에 따라 시행하였으며 약술하면 다음과 같다. 하룻밤 동안 배양한 집락을 0.45% NaCl에 풀어 McFarland 0.5관에 맞추고 Mueller Hinton 배지에 접종하였다. 이어서 항균제 디스크를 올려놓은 다음 37°C에서 16-18시간 배양한 후 억제대 직경을 재었다.

3) 분자유전학적 아형 분류

(1) DNA의 추출

DNA의 추출은 상품화된 키트(Bioneer, AccuePrep[®] Genomic DNA extraction kit)를 사용하여 제조사의 설명서대로 시행하였으며, 추출된 DNA는 PCR이 이용할 때까지 -20°C에 보관하였다.

(2) 분자유전학적 아형 분류

시발체는 기존문헌(Wong과 Lin, 2001)을 참고하여 바이오니아(Bioneer, Korea)에 주문 제작하였으며, 염기서열은 ERIC-1; 5'-GTGAATCCCCAGGAGCTTACAT-3', ERIC-2; 5'-AAGTA- AGTGACTGGGGTGAGCG-3'이다. PCR 반응액은 dNTP 200 μM, MgCl₂ 2 mM, primer 100 pmol, Taq DNA polymerase (Bioneer, Korea) 0.5 U, genomic DNA 100 ng 및 반응 완충액(10 mM Tris HCl, 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂)에 총 부피가 25 μL되게 증류수를 첨가하였다. DNA 증폭은 PTC-200 Thermal Cycler(MJ Research, Germany)를 이용하였으며, PCR 조건은 처음 94°C에서 5분간 변성 후, 94°C 1분, 52°C 1분, 72°C 1분을 1주기로 40 주기를 시행한 후 72°C에서 5분간 연장 반응을 시켰다. 증폭된 PCR 산물은 2% agarose gel에서 100V로 45분간 전기영동 후 UV-transilluminator를 통하여 관찰한 후 사진을 찍었다.

III. 결 과

2001년 9월부터 2002년 10월까지 총 20 균주의 *V. parahaemolyticus*가 분리되었으며, 이들 균주의 항균제 감수성 검사는 ampicillin에 내성, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole 및 ciprofloxacin에 감수성으로, 모두 동일하였다(Table 1). *V. parahaemolyticus*가 분리된 시기는 이 균의 특성 상 8월에서 10월 사이에 집중되어 있었다.

ERIC-PCR에 의한 아형분류는 증폭된 DNA band의 수와 band의 위치에 따라 3개 이상의 차이가 있을 경우 A, B, C, D, E, F, G, H, I형으로 대별하였으며, DNA band의 차이가 1-2개 인 경우 1, 2, 3, 4 등으로 세분하였다. *V.*

*parahaemolyticus*는 100 bp에서 800 bp 사이에서 증폭된 DNA band를 보였으며, 증폭된 band는 5-10개 사이였다 (Fig. 1). 2001년에 분리된 4균주는 모두 A형(A1형:3 균주, A2형: 1 균주)이었으며 2002년 분리된 16 균주와 차이를 보였다. 그리고 이들 균주는 모두 유사한 시기에 분리된 균주였다. 2002년 분리된 16균주는 모두 B형이었으며 대부분 1-2개의 band만 차이를 보여 유사한 균주로 판단되었다. 이들 균주는 8개의 아형으로 분류되었는데(B1형: 2 균주, B2형: 1 균주, B3형: 3 균주, B4형: 1 균주, B5형: 3 균주, B6형: 2 균주, B7형: 2 균주, B8형: 1 균주) 대부분 같은 날에 분리된 균주는 동일한 아형을 보였다. 동시에 시행한 *V. vulnificus* 2 균주(임상 분리 균주), *V. alginolyticus* 1균주(ATCC 11749)는 *V. parahaemolyticus*

Table 1. Data summary for 20 *V. parahaemolyticus* and 12 isolates associated diarrhea

Case No.	Microorganism	isolated Day (Y-M-D)	Antibiogram (A/T/SXT/CIP)*	Pattern of ERIC-PCR
1	<i>V. parahaemolyticus</i>	01-09-09	R/S/S/S	A1
2	<i>V. parahaemolyticus</i>	01-09-10	R/S/S/S	A2
3	<i>V. parahaemolyticus</i>	01-09-10	R/S/S/S	A1
4	<i>V. parahaemolyticus</i>	01-09-10	R/S/S/S	A1
5	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-08-20	R/S/S/S	B1
6	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-08-25	R/S/S/S	B1
7	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-08-27	R/S/S/S	B1
8	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-01	R/S/S/S	B2
9	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-02	R/S/S/S	B3
10	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-02	R/S/S/S	B3
11	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-02	R/S/S/S	B3
12	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-06	R/S/S/S	B4
13	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-11	R/S/S/S	B5
14	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-12	R/S/S/S	B6
15	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-13	R/S/S/S	B7
16	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-14	R/S/S/S	B8
17	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-19	R/S/S/S	B5
18	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-23	R/S/S/S	B6
19	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-09-25	R/S/S/S	B7
20	<i>V. parahaemolyticus</i>	02-10-07	R/S/S/S	B5
21	<i>V. vulnificus</i>	Clinical isolate		C
22	<i>V. vulnificus</i>	Clinical isolate		D
23	<i>V. alginolyticus</i>	ATCC 11749		E
24	<i>V. parahaemolyticus</i>	ATCC 17802		B9
25	<i>E. coli</i> O157	ATCC 43890		F
26	<i>E. coli</i> O157	ATCC 43889		F
27	<i>E. coli</i> O157	ATCC 51435		G
28	<i>Salmonella typhi</i>	Clinical isolate		H
29	<i>Salmonella</i> group D	Clinical isolate		I
30	<i>Salmonella</i> group B	Clinical isolate		I
31	<i>Shigella dysenteriae</i>	Clinical isolate		I
32	<i>Shigella sonnei</i>	Clinical isolate		I

*A, ampicillin; T, tetracycline; SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; CIP, ciprofloxacin; R, resistant, S, susceptible

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

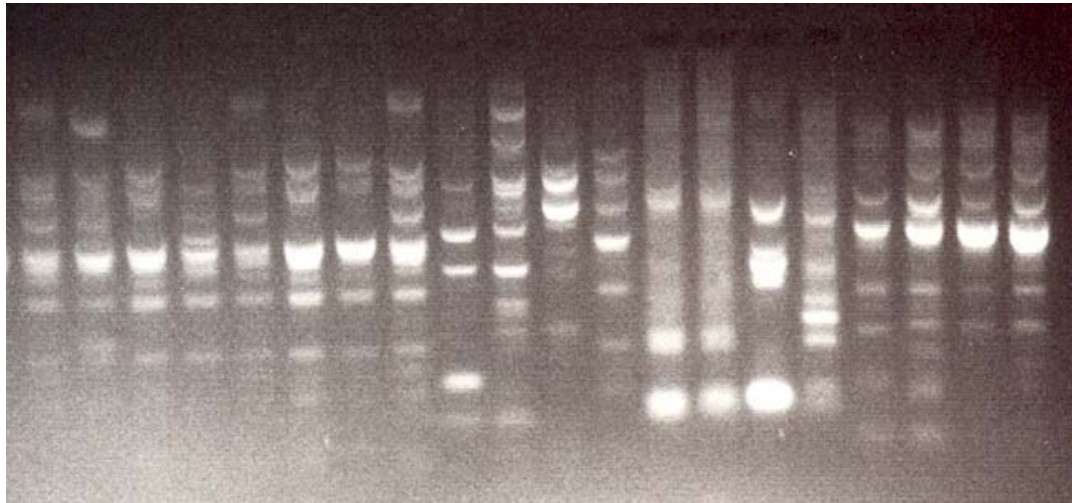


Fig. 1. ERIC-PCR based DNA fingerprinting for 20 strains of *V. parahaemolyticus* and 12 strains of bacteria associated diarrhea. Lanes 1-8, clinical isolates of *V. parahaemolyticus*; lanes 9-10, *V. vulnificus* (clinical isolates); lane 11, *V. alginolyticus* ATCC 11749; lane 12, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802; lane 13, *E. coli* O157 ATCC 43890; lane 14, *E. coli* O157 ATCC 43889; lane 15, *E. coli* O157 ATCC 51435; lane 16, *S. typhi*, lane 17, *Salmonella* group D; lane 18, *Salmonella* group B; lane 19, *S. dysenteriae*; lane 20, *S. sonnei*.

와 3개 이상의 band 차이를 보여 *Vibrio* 균종간의 구분은 명확하였는데 이들 균주들은 *V. parahaemolyticus*와 서로 다른 위치에 증폭 band를 보여주었다. *V. parahaemolyticus* ATCC 17802는 환자에서 분리된 균주와 뚜렷한 차이를 보였으나 균종간의 차이보다는 적었다 3개의 *E. coli* O157 균주는 *Vibrio* species와 명확한 band의 위치에 차이를 보였는데 2개의 균은 동일한 아형을 보였으나 하나의 아형은 명확한 차이를 보였다. *Salmonella* 및 *Shigella*는 *S. typhi*만 명확한 차이를 보였으나, *Salmonella* group B, D, *S. dysenteriae* 및 *S. sonnei*는 동일한 아형을 보였다(Table 1, Fig. 1).

IV. 고 찰

*V. parahaemolyticus*는 호염성 그람음성 세균으로 부적절하게 조리한 해산물의 섭취로 위장관염을 일으킨다(권 등, 2000; 김 등, 2001). *V. parahaemolyticus*는 아시아뿐만 아니라 전 세계의 해안지방에서 설사 질환의 중요한 원인균으로 알려져 있으며(김 등, 2001; Marano 등, 2000; Okuda 등, 1997; Chowdhury 등, 2000), 설사기전은 아직 완전히 규명되지는 않았으나 thermostable direct hemolysin(TDH)이나 TDH-related hemolysin(TRH)이 밀

접한 관계를 갖고 있는 것으로 알려져 있다(김 등, 2001; Okuda 등, 1997).

*V. parahaemolyticus*의 역학적 분류는 현재까지 혈청형을 주로 이용하였으나 혈청형에 의한 분류는 한계가 있으므로 최근 분자역학적 방법이 자주 이용되고 있다(Marshall 등, 1997; Wong 등, 2001; Wong과 Lin, 2001). 분자역학적 방법 중 pulsed field gel electrophoresis (PFGE)를 이용한 *V. parahaemolyticus*의 아형분류에서 30종 이상의 형별을 보고하여 우수한 방법으로 알려져 있다(Wong 등, 2001). 그러나 PFGE는 기술상 많은 양의 어려움이 있으며, 시간이 많이 소요되고, 특별한 기기가 필요하여 일반 검사실에서는 사용하기 곤란하다(Maslow와 Mulligan, 1996). 따라서 최근에는 PCR 방법을 이용한 아형 분류가 시도되고 있는데, 국내에서 김 등(2002)은 IRS-PCR로 *V. parahaemolyticus*의 아형을 분류하여 우수한 분별력 및 재현성을 보였다고 보고하였다. 그러나 이 방법도 PCR 방법에 제한 효소를 첨가하는 단계가 필요하다. 저자는 단지 PCR 방법만으로 아형분류를 시행하여 일반 검사실에서 쉽게 접근할 수 있는 ERIC-PCR을 *V. parahaemolyticus*의 아형 분류에 이용하여 보았다. ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus)은 장내세균 및 다양한 세균의 염색체의 서로 다른 위치에 존재하는 repetitive element이다(Halton 등, 1991). 이들 repeti-

tive element는 균종에 따라 서로 다른 위치, 반복되는 수가 다르므로 이들을 증폭하면 균종 및 균주 간에 아형을 분리할 수 있다. ERIC-PCR을 이용한 아형분류는 *V. parahaemolyticus* 뿐만 아니라, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* 등 다양한 원내감염에도 이용되고 있다(신, 2003; Oh 등, 2003).

본 연구에서 시행한 ERIC-PCR을 이용한 *V. parahaemolyticus*의 아형 분류에서 2001년 분리된 4균주 모두 A형으로 유사하였다. 4균주 중 1 균주 만이 나머지 3균주와 1개의 band에 차이를 보여 A2형으로 분류되었지만 ERIC-PCR에서 하나의 band 차이는 매우 유사한 균주를 의미한다. 실제로 균주는 유사한 시기(1일 차이)에 분리되었으며 이들은 지역적으로 유사하여 동일 균주로 사료되었다. 그리고 이들 균주는 2002년에 분리된 16 균주와 다른 아형을 보였다. 2002년 분리된 16균주는 sub 아형으로 B1형에서 B8으로 나뉘었지만 매우 유사한 균주의 가능성을 시사하였다. 또한 이들 sub 아형까지 동일한 균주는 같은 날에 분리된 균주 사이에 많아 sub 아형까지 동일하다면 동일한 균주로 간주해도 될 것이다. 아마도 같은 날에 분리되어 동일한 아형을 보인 경우 동일한 해산물을 섭취하였을 가능성이 높다. 균주간의 아형(intregenic) 뿐 아니라 균종 간(intergenic)에 아형을 분류하고자 *V. vulnificus* 및 *V. alginolyticus*도 동시에 아형분류를 하였는데, 이들은 *V. parahaemolyticus*와 명확한 차이를 보였다. 그리고 같은 균종 사이에서는 공통되는 band를 갖고 있었다. 이는 ERIC-PCR이 균종 간의 구분에에도 이용될 수 있음을 시사한다. 2 균주의 *V. vulnificus*의 아형도 명확한 차이를 보여 균주 수는 부족하지만 이들 균의 아형분류도 우수할 것으로 사료된다. *Vibrio* 균종 외에 *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* 등이 설사의 주요 원인균인데, 이들 균은 계절 및 지역에 국한되지 않고 설사를 일으켜 이들 균의 아형분류 및 *Vibrio* spp.와의 차이를 보기 위해 ERIC-PCR을 시행하였다. 3개의 *E. coli* O157:H7 (Verotoxin 1, 2, variant toxin)는 *Vibrio* spp.와 명확한 차이를 보였으며, 이들 3균 중 2개의 균은 동일한 아형을 보였다(verotoxin 1, 2 생성균). *Salmonella* 및 *Shigella* spp. 중 *S. typhi* 만이 다른 아형을 보였으나 *Salmonella* group B, D, *S. dysenteriae*, *S. sonnei* 등은 동일한 아형을 보였다. 그리고 *Vibrio* spp. 이외의 설사를 일으키는 균은 *Vibrio* spp. 및 이들 균종 간 명확한 차이를 보여 설사의 원인균을 검출하는 데에도 도움을 줄 것으로 사료된다.

PCR 방법을 이용한 아형분류는 PFGE보다 재현성이 떨어지는 것이 큰 단점인데, 특히 RAPD와 같이 짧은 시발체를 사용하는 경우가 낮은 재현성을 보인다고 알려져 있다. 그러나 ERIC-PCR은 시발체의 길이가 RAPD보다 길어 보다 재현성이 우수하다고 알려져 있으며, 같은 실험실내에서 시행할 경우는 동일한 기기 및 방법을 이용하므로 재현성에는 큰 문제가 없을 것으로 사료되어 본 연구에서는 재현성 실험을 하지 않았다.

V. 결 론

ERIC-PCR은 *V. parahaemolyticus*의 아형분류에 우수하였으며, 쉽고, 특별한 장비가 필요 없어 임상 검사실에서 유용하게 이용될 수 있을 것이다. 또한 설사를 일으키는 균의 균종 간 분류는 보다 명확하여 균종 간의 구별에도 유용하게 사용될 수 있을 것이라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Chowdhury NR, Chakraborty S, Ramamurthy T, Nishibuchi M, Yamasaki S, Takeda Y, et al. Molecular evidence of clonal *Vibrio parahaemolyticus* pandemic strains. *Emerg Infect Dis* 6:631-6, 2000
2. Hulton CS, Higgins CF, Sharp PM. ERIC sequences: a novel family of repetitive element in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Mol Microbiol* 5:825-34, 1991
3. Madico G, Akopyants NS, Berg DE. Arbitrarily primed PCR DNA fingerprinting of *Escherichia coli* O157:H7 strains by using templates from boiled cultures. *J Clin Microbiol* 33:1534-6, 1995
4. Marano NN, Daniels NA, Easton AN, McShan A, Ray B, Wells JG, et al. A survey of stool culturing practices for *Vibrio* species at clinical laboratories in Gulf States. *J Clin Microbiol* 38:2267-70, 2000
5. Marshall S, Clark CG, Wang G, Mulvey M, Kelly MT, Johnson WM. Comparison of molecular methods for typing *Vibrio parahaemolyticus*. *J Clin Microbiol* 37: 2473-8, 1999
6. Maslow J, Mulligan ME. Epidemiologic typing

- systems. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 17:595-604, 1996
7. Matsumoto C, Okuda J, Ishibashi M, Iwanaga M, Garg P, Rammamurthy T, et al. Pandemic spread of an O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and toxRS sequence analyses. *J Clin Microbiol* 38:578-85, 2000
 8. Nasu H, Iida T, Sugahara T, Yamaichi Y, Park YS, Yokoyama K, et al. A filamentous phage associated with recent pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 strains. *J Clin Microbiol* 38:2156-61, 2000
 9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standards. Wayne: NCCLS, M2-A8, 2000
 10. Oh EJ, Lee S, Park YJ, Park JJ, Park K, Kim SI, et al. Prevalence of metallo- β -lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in a Korean University hospital and comparison of screening methods for detecting metallo- β -lactamase. *J Microbiological Methods* 54:411-8, 2003
 11. Okuda J, Ishibashi M, Hayakawa E, Nishino T, Takeda Y, Mukhopadhyay AK, et al. Emergence of a unique O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan. *J Clin Microbiol* 35:3150-5, 1997
 12. Okuda J, Ishibashi M, Abbott SL, Janda JM, Nishibuchi M. Analysis of the thermostable direct hemolysin (tdh) gene and the tdh-related haemolysin (trh) gene in urease-positive strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated on the West Coast of the United States. *J Clin Microbiol* 35:1965-71, 1997
 13. Power EGM. RAPD typing in microbiology-a technical review. *J Hosp Infect* 34:247-65, 1996
 14. Stern MJ, Ames GF, Smith NH, Robinson EC, Higgins CF. Repetitive extragenic palindromic sequences: a major comparison of the bacterial genome. *Cell* 37: 1015-26, 1984
 15. Wong HC, Lu KT, Pan TM, Lee CL, Shih DYC. Subspecies typing of *Vibrio parahaemolyticus* by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 34:1535-9, 1999
 16. Wong HC, Lin CH. Evaluation of Typing of *Vibrio parahaemolyticus* by Three PCR Methods Using specific primers. *J Clin Microbiol* 39:4233-40, 2001
 17. Woods CR Jr, Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Analysis of relationships among isolates of *Citrobacter diversus* by using DNA fingerprinting generated by repetitive sequence-based primers in the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30: 2921-9, 1992
 18. 권성열, 엄희섭, 오윤주, 조병관, 이동, 박원경. 인천에서 발생한 *Vibrio parahaemolyticus* 장염 유행의 크기 추정. *감염* 32:100-7, 2000
 19. 금동극, 강정옥, 최태열. 최근 한국에서 *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6의 유행적 출현. *대한임상병리학회지* 22:246-52, 2002
 20. 금동극, 강정옥, 최태열. Infrequent Restriction Site 중합효소연쇄반응을 이용한 *Vibrio parahaemolyticus*의 유전자형. *대한임상미생물학회지* 5(2):119-123, 2002
 21. 금동극, 최태열. 군특이 중합효소연쇄반응을 이용한 *Vibrio parahaemolyticus* New O3:K6의 검출. *대한임상병리학회지* 22:109-13, 2002
 22. 김우진, 서일해, 금동극, 최태열. 중합효소연쇄반응을 이용한 *Vibrio parahaemolyticus*의 tdh 및 trh 유전자 검출. *대한임상병리학회지* 21:355-9, 2001
 23. 신경섭. RAPD, ERIC-PCR 및 REP-PCR을 이용한 *Serratia marcescens*의 분자역학적 조사. *대한진단검사의학회지* 23:119-25, 2003