

서해안에서 분리한 암피실린 내성 비브리오속 세균의 특성

이한웅 · 임숙경¹ · 김말남*

상명대학교 생물학과, ¹국립수의과학검역원 세균과

Characteristics of Ampicillin-Resistant *Vibrio* spp. Isolated from a West Coastal Area of Korean Peninsula

Han Woong LEE, Suk Kyung LIM¹ and Mal Nam KIM*

Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

¹National veterinary research and quarantine service, MAF, Anyang 430-824, Korea

Thirty-eight *Vibrio* spp. were isolated from the sea waters harvested from the 22 stations located on the west coast of the Korean peninsula in September 2006. The isolates consisted of *V. parahaemolyticus* (n=21), *V. alginolyticus* (n=16) and *V. cholerae* non-01 (n=1), among which 35 isolates displayed resistance against two of the tested antibiotics. Among the 38 isolates, 18 isolates exhibited multi-drug resistance against more than four 4 antibiotics. In particular, minimum inhibitory concentration (MIC)₅₀ and MIC₉₀ of ampicillin-resistant isolates were as high as 2,048 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 4,096 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ respectively. β -lactamase production was examined to analyze the ampicillin-resistance. Some *Vibrio* spp. isolates produced β -lactamase, however antibiotics resistance pattern and β -lactamase production were not clearly related to each other. A genetic relationship between resistance and gene expression was confirmed in the ampicillin-resistant isolates.

Key words: *Vibrio* spp., Ampicillin-resistance, β -Lactamase, Class 1 integron gene

서 론

비브리오속 세균에 의한 해산물의 오염은 수산업에 피해를 줄 뿐만 아니라 사람에게도 식중독을 일으키므로 공중보건학적으로 중요하다 (Su and Liu, 2007). 세계적으로 이러한 병원성 비브리오속 세균의 분리가 점차 높아지고 있는 것은 수산업의 발달, 해안지역의 관광객의 증가 및 해산물 가공공장의 증가 등으로 인하여 각종 오염물질이 해안으로 유입됨으로서 연안 해양환경의 오염이 가속화되기 때문이다. 우리나라의 경우 해산물을 많이 섭취하고 또 생선회 등 어패류를 생식하는 식습관 상 비브리오속 세균에 의한 감염 위험성은 매우 크다고 할 수 있다.

항생제는 사람에서는 주로 감염성세균의 치료를 위해 도입되었지만 가축에서는 질병치료뿐만 질병예방, 성장촉진 목적으로도 사용되어 왔다. 특히 해상 양식장의 경우 질병의 치료를 위한 직접 투여 뿐만 아니라 질병예방 및 성장촉진을 위하여 간접적으로 사료에 첨가하는 등 수산용 항생제가 광범위하게 사용되어 주변 환경에까지 영향을 미칠 수 있다 (Vaseeharan et al., 2005). 또한 생활하수 혹은 축산폐수 등에 존재하는 육지 유래 항생제 내성균이 강이나 하천을 통하여 해양환경으로 유입되어 이를 통한 해양 병원성세균으로의 내성전이 문제도 야기되고 있다 (Mudryk, 2005). 이러한 문제가 대두되면서 최근 해양생태계의 병원성 비브리오속 세균의 분포 및 항생제 내성 양상에 대한 연구의 중요성이 대두되

고 있다.

최근에는 임상에서 질병 치료용으로 사용되는 ampicillin에 대한 비브리오속 세균의 내성율이 전세계적으로 자연내성에 가까울 정도로 증가하고 있는 추세이다 (손 등, 2005). Ampicillin을 포함한 β -lactam계 항생제의 내성 획득은 β -lactamase 생성 유전자와 관련이 있다. β -lactamase 생성 유전자의 다양성으로 인하여 그 기작이 정확하게 알려져 있지 않은 상태이다.

본 연구에서는 패류양식업이 활발하며, 지표수의 유입으로 유기물 함유량이 높을 것으로 예상되는 우리나라 서해안 연안 22개소의 해수에서 비브리오속 세균의 분포를 조사하고, 이들의 항생제 감수성을 조사하여 항생제 내성률을 분석하였으며, ampicillin 내성균에서 β -lactamase의 산생 여부 및 Class 1 integron 유전자를 조사하였다. 또한 RAPD PCR을 실시하여 분리균 간의 유전적 유연관계를 분석하였다.

재료 및 방법

해수 시료 채취

2006년 9월 경기도 8개소, 충청도 10개소 및 전라도 4개소의 총 22개 지역 (Fig. 1)에서 연안 해수시료를 채취하였다.

비브리오속 세균의 분리 및 동정

Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2004)에 따라 해수시료를 여과하여 Alkaline Peptone Water (APW)에서 증균배양 후 Thiosulfate Citrate Bile Salt (TCBS) 평판배지에서 배양하여

*Corresponding author: mnkim@smu.ac.kr

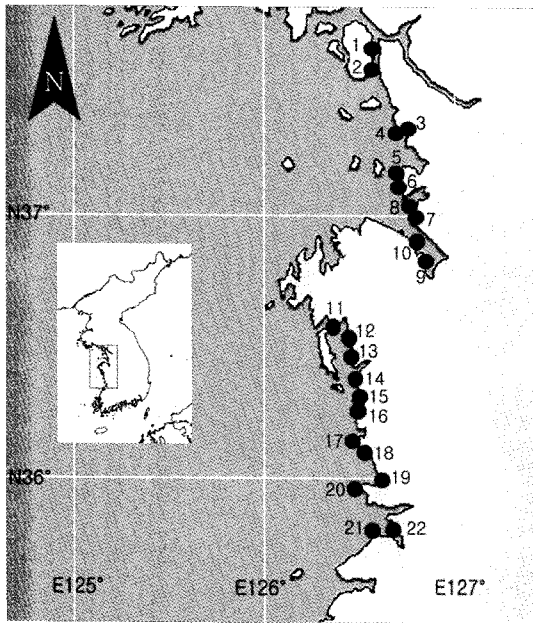


Fig. 1. Sampling stations in the West coastal area of Korean peninsula in September, 2006.

선별하고 genomic DNA를 추출하였다. *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 및 *V. cholerae*는 Panicker et al. (2004)의 방법에 따라 중 특이 primer를 이용하여 multiplex PCR하여 동정하였고, *V. fluvialis*는 Lee et al. (2002)의 방법에 따라 16S-23S rDNA Intergenic Spacer Region (IGS) 염기서열을 분석하여 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 BLAST N program으로 Genbank에 등록되어 있는 염기서열과 비교·분석하여 동정하였다. 실험결과의 신뢰도 확보를 위하여 한국미생물보존센터 (KCCM)에서 분양받은 비브리오속 세균의 표준균주를 함께 실험하여 결과를 비교하였다.

항생제 감수성 검사

항생제 감수성 검사 방법은 Kirby-Bauer disk diffusion법 (1966)으로 검사하였으며 항생제 disk는 Becton Dickinson (BBL Sensi-Disk)에서 구입하여 사용하였다. 사용한 항생제 disk는 ampicillin (10 µg/disk), gentamicin (10 µg/disk), amoxicillin/clavulanic acid (20/10 µg/disk), cephalothin (30 µg/disk), cefoxitin (30 µg/disk), ceftizoxime (30 µg/disk), ciprofloxacin (5 µg/disk), trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg/disk) 및 chloramphenicol (30 µg/disk) 이었다. 각각의 시료로부터 1개의 집락을 선택하여 항생제 감수성 검사에 사용하였다. 확인된 비브리오균은 Mueller-Hinton (MH) Broth (Becton Dickinson)에 접종하여 37°C에서 1일 배양하여 0.5 McFarland 농도로 조정된 후 MH agar (Becton Dickinson)에 도말하였다. 도말이 완료된 배지 위에 검사 항생제 disk를 떨어뜨린 후 37°C에서 16-18시간 배양하여 판독하였다. 판독 기준은 Criteria Laboratory Standard Institute (CLSI, 2007) 기준에 따랐으며, 표준균주는 *E. coli* ATCC 25922를 사용하였다.

β-lactamase 산생능 조사

Ampicillin 내성 비브리오속 세균의 β-lactamase 산생능과 내성 양상의 연관성을 알기 위하여 nitrocefin test sensi disk (BBL)를 사용하여 색깔 변화에 따라 β-lactamase 생성 여부를 판별하였다.

Class 1 integron 유전자 검출

비브리오속 세균을 포함한 그람음성세균에서 다양한 항생제 내성 유전자를 encoding하여 항생제 다제내성을 유발하는 원인이 된다고 보고된 class 1 integron 보유 유무를 조사하기 위하여 Ceccarelli et al. (2006)에서 제시된 그람음성 장내세균의 class 1 integron을 target으로 하는 Int F: 5'-GGCATCCAAG-CAGCAAG-3'와 Int B: 5'-AAGCAGACTTGACCTGA-3'를 사용하여 PCR을 통해 확인하였다. 반응 혼합액은 bacterial genomic DNA 50 ng, primer (25 pmol/mL) 0.2 µL, dNTP mixture 4 µL, 10X PCR buffer 5 µL, MgCl₂ 3 µL, LA Taq DNA polymerase (TAKARA) 0.2 µL에 멸균증류수를 첨가하여 최종 부피를 50 µL로 맞추고, GeneAmp® PCR system (Applied biosystem 9400)으로 증폭하고 PCR 산물을 전기영동으로 아가로스겔 상에서 확인하였다.

RAPD PCR을 이용한 분자유전학적 유사도 분석

RAPD PCR은 Melian et al. (2003)의 방법에 따라 실시하였다. Ampicillin 내성주의 genomic DNA를 추출하여 높은 재현성을 나타낸다고 보고된 M13 primer (5'-GAAACAGCTAT-GACCATG-3')를 사용하여 RAPD PCR을 수행하였고, 2회 반복하여 재현성을 확인하였다. 또한 Band를 통한 절편 양상 분석은 BioNumerics (Applied Math, Belgium) 프로그램에서 Unweighted Pair Group Method of Average linkage (UPGMA)법을 토대로 하는 dendrogram을 작성하고 cluster를 구성하였다.

결과 및 고찰

비브리오속 세균의 분리 및 동정

서해 연안 22개소에서 분리된 비브리오속 세균의 동정 결과를 Table 1에 제시하였다. 가장 많은 분리율을 나타낸 종은 *V. parahaemolyticus*로서 22개 조사정점 중 충청도의 1개 정점 (정점 14)을 제외한 모든 조사 정점에서 21주가 검출되었다. *V. cholerae*의 경우 전라북도 (정점 19)에서 1주가 검출되었으나 비 전염성 *V. cholerae* non-01으로 판명되었다. *V. alginolyticus*는 16개소에서 16주가 분리되었으나, *V. vulnificus*와 *V. fluvialis*는 본 조사 지역에서 전혀 검출되지 않았다. 본 연구에서 비브리오속 세균 군집의 종조성은 *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* 및 *V. cholerae* non-01의 3종으로 구성되어 있었으며, *V. alginolyticus*와 *V. parahaemolyticus*가 우점종으로 분석되었다. *V. alginolyticus*는 양식 해산물에 질병을 유발하며, 인체에 감염되어 중이염 등의 질병을 유발한다고 보고되어 있으며 (Son et al., 2005) *V. parahaemolyticus*는 세균성 식중독을 유발하며 미국 FDA에서 제시하는 해산물의 위생판정 기준

Table 1. Distribution of *Vibrio* spp. in the West coastal area of Korean peninsula

Sampling sites	Number of isolates				
	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. cholerae</i> non-01	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. fluvialis</i>
Gyeonggi-do	5	8	0	0	0
Chungcheongnam-do	8	9	0	0	0
Jeollabuk-do	3	4	1	0	0

Table 2. Antimicrobial susceptibility of *Vibrio* spp. isolated from the West coastal area of Korean peninsula

Antimicrobial agents	Ratio of resistance, % (No. of resistant strains/No. of tested strains)			
	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. cholerae</i> non-01	Total
Ampicillin	100 (16/16)	100 (21/21)	0 (0/1)	97.4 (37/38)
Amoxicillin/clavulanic acid	0 (0/16)	4.8 (1/21)	0 (0/1)	2.6 (1/38)
Cephalothin	100 (16/16)	85.7 (18/21)	0 (0/1)	89.5 (34/38)
Cefoxitin	56.3 (9/16)	38.1 (8/21)	0 (0/1)	44.7 (17/38)
Amikacin	87.5 (14/16)	81.0 (17/21)	0 (0/1)	81.6 (31/38)
Gentamicin	31.3 (5/16)	9.5 (2/21)	0 (0/1)	18.4 (7/38)
Oxytetracycline	0 (0/16)	0 (0/21)	0 (0/1)	0 (0/38)
Chloramphenicol	0 (0/16)	0 (0/21)	0 (0/1)	0 (0/38)
Ceftizoxime	0 (0/16)	0 (0/21)	0 (0/1)	0 (0/38)
Ciprofloxacin	0 (0/16)	0 (0/21)	0 (0/1)	0 (0/38)
Sulfamethoxazole/trimethoprim	0 (0/16)	0 (0/21)	0 (0/1)	0 (0/38)

에 포함되어 있다 (FDA, 2005).

항생제 감수성 검사

디스크확산법에 의한 항생제 감수성 결과를 Table 2에 제시하였다. 본 연구에서 분리된 *V. parahaemolyticus* 21주, *V. alginolyticus* 16주, 및 *V. cholerae* non-1 1주 (Table 1) 중에서 35주가 2가지 이상의 항생제에 내성을 보였다. 또한 38주 중 18주가 4가지 이상의 항생제에 다제내성을 나타내었다.

β -lactam계 항생제인 ampicillin과 cephalothin의 내성이 각각 전체 균주의 97.4%와 89.5%로 높게 조사되었으며, aminoglycoside계 항생제인 amikacin에 내성을 갖는 균주도 81.6%로 조사되었다. 그리고 일부 균주에서는 cefoxitin (44.7%), gentamicin (18.4%) 및 amoxicillin/clavulanic acid (2.6%)에 대해서도 내성을 나타내었다. Gentamicin과 amoxicillin/clavulanic acid의 경우 CLSI (2007)의 내성 판별 기준에 따라 분류하였을 때 중간 내성 (intermediate resistance)으로 판별된 균주가 약 50% 이상을 차지하여 본 조사지역에서 이들 항생제의 내성변화 추이를 주의 깊게 관찰하는 것이 필요할 것으로 사료된다. 그 외 chloramphenicol, ciprofloxacin, ceftizoxime sulfamethoxazole/trimethoprim 및 oxytetracycline에 대해서는 모두 감수성을 나타내었다.

조사지역별 비브리오속 세균의 항생제 내성패턴은 상대적으로 조사정점이 많고 육지에서 유입되는 강과 호소가 많은 충청남도에서 가장 높은 내성도를 나타내었다. 균종별로는 전 조사정점에서 *V. alginolyticus*의 내성율이 *V. parahaemolyticus* 보다 높게 나타났다. Son et al. (2003)은 동해안 해수에서 분리한 16주의 *V. parahaemolyticus*를 대상으로 항생제 감수성 측정결과 ampicillin과 cephalothin에 높은 내성을 보인다고 보고하였으며, Son et al. (2005)은 남해안 어류양

식장에서 분리한 ampicillin과 amikacin에 높은 내성을 가지는 *V. parahaemolyticus*와 *V. alginolyticus*를 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 제시한 바 있다. 반면 Zanetti et al. (2001)의 경우 해수에서 분리한 *V. parahaemolyticus*와 *V. alginolyticus*가 높은 항생제 내성을 나타내 본 연구 결과와 유사하였으나 cephalothin에는 거의 내성이 나타나지 않았다고 보고하였다. 또한 Vaseeharan et al. (2005)은 양식장 해수에서 분리한 비브리오속 세균에서 oxytetracycline, ampicillin의 내성을 보고하여 같은 균종이라도 분리 지역이나 분리원 마다 나타내는 항생제 내성에 차이를 나타내는 것으로 사료된다. 본 연구에서는 축산 및 수산업에서 광범위하게 사용하는 oxytetracycline의 내성율은 낮게 조사되었는데 이는 서해안 지역의 경우 가두리 양식장 등의 집약적 양식업 보다는 갯벌을 이용한 축제식 양식업이 주를 이루어 가축이나 수산으로부터의 영향은 거의 받지 않는 것으로 사료된다. 그러나 임상에서 질병의 치료용 항생제로 많이 사용하는 amikacin, gentamicin, amoxicillin/clavulanic acid의 내성율이 비교적 높게 조사되어 해산물을 통한 이들 내성균이 인체에 감염시 적절한 치료제 부재로 이어질 수 있다.

Ampicillin의 MIC₅₀과 MIC₉₀ 조사결과 이미 보고된 바와 같이 본 조사에서 분리된 비브리오속 세균에서도 다른 항생제에 비해 월등히 높은 내성도를 나타내어 MIC₅₀과 MIC₉₀이 각각 2,048 μ g/mL과 4,096 μ g/mL를 나타내었다. Italy의 진주담치에서 분리한 *V. alginolyticus*가 모두 ampicillin에 고도 내성을 나타내었다 (Ripabelli et al., 2003)고 보고하였는데 이는 본 연구의 결과와 일치하며, Petroni et al. (2002)는 Argentina 환경시료에서 분리된 *V. cholerae*의 ampicillin MIC가 1,024 μ g/mL 이상으로 고도내성을 나타내었다고 보고한 바 있다. 이에 본 연구에서 분리된 비브리오속 세균의 ampicillin 내성

도 자연내성에 가까울 정도로 고도내성을 보유하는 것으로 사료된다.

Ampicillin 내성 비브리오속 세균의 특성

β-Lactamase 산생능 및 *β*-lactamase 유전자 조사

β-Lactamase의 산생은 nitrocefin test를 통하여 조사하였다. 그 결과 38균주 중 12 (31.6%)균주만이 *β*-lactamase를 산생하는 것으로 조사되었다 (Table 3). *β*-lactamase 산생에 관여하는 TEM type, SHV type 및 CTX-M type의 *β*-lactamase 유전자를 target으로 하여 PCR을 수행하였으나 38주 모두에서 3가지

유전자에 대한 특이적인 target band의 형성은 없었다. Melano et al. (2002)는 해양환경에서 분리한 ampicillin 내성 *V. cholerae* non-01과 non-0139 중 57%에서만 *β*-lactamase를 생성하였다고 보고하였으며, Zanetti et al. (2001)은 LaMaddalena and Tavolara islands의 해수에서 분리한 비브리오속 세균의 nitrocefin test 결과 ampicillin 내성을 나타내는 균주 중 일부에서만 *β*-lactamase 활성이 검출되었다고 보고하였으며, *β*-lactamase gene을 target으로 한 PCR 결과에서는 *β*-lactamase 생성 gene이 검출되지 않았다고 보고하여 본 연구의 결과와

Table 3. Characterization of ampicillin-resistant *Vibrio* spp.

Sampling site	Sampling station	Isolated strains	MIC of ampicillin (μ g/mL)	Production of <i>β</i> -lactamase	Class 1 integron	
Gyeonggi-do	1	<i>V. alginolyticus</i> G-1-1	1,024	-	+	
		<i>V. parahaemolyticus</i> G-1-2	4,096	-	+	
	2	<i>V. parahaemolyticus</i> G-2-1	1,024	-	+	
		3	<i>V. parahaemolyticus</i> G-3-1	512	-	+
	<i>V. alginolyticus</i> G-3-2		4,096	-	+	
	4	<i>V. parahaemolyticus</i> G-4-1	4,096	+	+	
		5	<i>V. parahaemolyticus</i> G-5-1	4,096	-	+
	6		<i>V. parahaemolyticus</i> G-6-1	512	-	-
		<i>V. alginolyticus</i> G-6-2	512	+	+	
	7	<i>V. parahaemolyticus</i> G-7-1	4,096	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> G-7-2	2,048	-	+	
	8	<i>V. parahaemolyticus</i> G-8-1	1,024	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> G-8-2	4,096	-	+	
	Chungcheongnam-do	9	<i>V. parahaemolyticus</i> C-1-1	2,048	-	+
			<i>V. alginolyticus</i> C-1-2	2,048	-	+
		10	<i>V. parahaemolyticus</i> C-2-1	512	+	+
<i>V. alginolyticus</i> C-2-2			512	+	+	
11		<i>V. parahaemolyticus</i> C-3-1	4,096	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> C-3-2	4,096	-	+	
12		<i>V. parahaemolyticus</i> C-4-1	2,048	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> C-4-2	4,096	+	-	
13		<i>V. parahaemolyticus</i> C-5-1	32	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> C-5-2	4,096	+	+	
14		<i>V. alginolyticus</i> C-6-1	4,096	+	+	
		15	<i>V. parahaemolyticus</i> C-7-1	4,096	-	+
16			<i>V. parahaemolyticus</i> C-8-1	2,048	+	+
		<i>V. alginolyticus</i> C-8-2	1,024	-	+	
17		<i>V. parahaemolyticus</i> C-9-1	2,048	-	-	
		<i>V. alginolyticus</i> C-9-2	4,096	+	+	
18		<i>V. parahaemolyticus</i> C-10-1	512	-	+	
		19	<i>V. parahaemolyticus</i> J-1-1	1,024	-	+
20	<i>V. parahaemolyticus</i> J-2-1		512	-	-	
	<i>V. alginolyticus</i> J-2-2		$\geq 8,196$	+	+	
Jeollabuk-do	21	<i>V. parahaemolyticus</i> J-3-1	1,024	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> J-3-2	2,048	+	+	
	22	<i>V. parahaemolyticus</i> J-4-1	1,024	-	+	
		<i>V. alginolyticus</i> J-4-2	4,096	+	+	

+, detected; -, not detected.

일치하였다. β -lactamase에 대한 내성기전은 여러 가지가 있으며 주된 원인은 β -lactamase 산생에 의한 항생제의 불활성화 때문으로 보고되어 있다 (Petroni et al., 2002). 그러나 그람 음성세균의 경우 세포외막에 porin 채널의 투과성의 변화로 인한 내성의 획득이나 세포막에 PBP (Penicillin binding protein)의 결합으로 인하여 β -lactamase 항생제에 대한 친화력 감소에 의해서도 발생할 수 있다고 보고되고 있다 (Melano et al., 2002).

그람음성세균에서 β -lactamase 유전자는 integron과 같은 chromosomal gene structure나 plasmid 내에 존재한다고 보고되어 있으며, β -lactamase 유전자의 구조적 위치에 따라 효소 활성의 유무가 결정된다고 보고되어 있다 (Teo et al., 2000). 따라서 본 연구에서 조사된 ampicillin 내성 비브리오속 세균에서 균주별로 β -lactamase 산생능에 차이가 나타난 것은 세균이 지니고 있는 β -lactamase 유전자가 비활성 부위에 존재하여 발현이 되지 않거나 또는 β -lactamase 산생 이외의 다른 내성 기전이 복합적으로 작용할 수 있다고 판단되므로 추후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Class 1 integron 유전자 검출

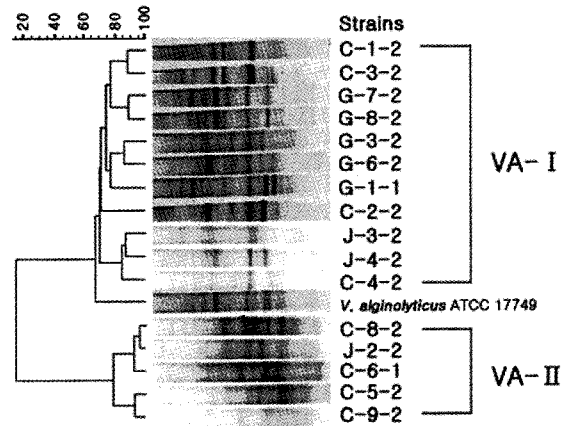
서해안 22개소에서 분리된 비브리오속 세균의 class I integron cassette 검출 결과를 Table 2에 제시하였다. PCR 결과 *V. cholerae* non-01 YSV-32를 제외한 *V. parahaemolyticus*와 *V. alginolyticus*에서 다양한 크기의 class 1 integron cassette이 검출되었으며 밴드의 크기는 750 bp에서 10 kb 이상으로 확인되었다.

그람음성세균에서 항생제 다제내성 유전자를 encoding하고 있는 integron은 세균 염색체 상에서 이동성을 가진 DNA 단편인 transposon을 통하여 유전자의 한 복제단위에서 다른 복제단위로 이동되고, 접합을 통하여 동종 및 이종 세균으로 확산될 수 있다고 알려져 있다 (Rowe-Magnus and Mazzel, 2002). Table 3에 제시한 바와 같이 본 연구에서 분리된 ampicillin 내성 비브리오속 세균에서도 다양한 class I integron을 보유하고 있는 것으로 조사되었으며, 이러한 class I integron 등에 존재하는 다양한 항생제 내성 유전자가 plasmid DNA 같은 mobile element를 통해 다른 비브리오속 세균들에게 전달될 수 있을 것으로 사료된다. Ceccarelli et al. (2006)의 조사에서도 Angola의 임상 시료와 해양시료로부터 분리한 항생제 다제내성 *V. cholerae*와 *V. parahaemolyticus*에서 ampicillin을 포함한 다양한 항생제 내성 유전자를 보유한 integron의 검출을 확인하여 integron에 encoding된 다양한 항생제 내성 유전자가 비브리오속 세균의 다제내성을 유발하는 주요한 원인이라고 보고하였다.

RAPD-PCR을 통한 유전적 상관성 분석

본 연구에서 분리된 우점종 비브리오속 세균인 *V. alginolyticus*와 *V. parahaemolyticus*에 대한 RAPD PCR을 각각 수행한 결과를 Fig. 2에 제시하였다. PCR 밴드패턴 분석결과 *V. alginolyticus*의 경우 약 350 bp에서 8 kb, *V. parahaemolyticus*

(a) *V. alginolyticus*



(b) *V. parahaemolyticus*

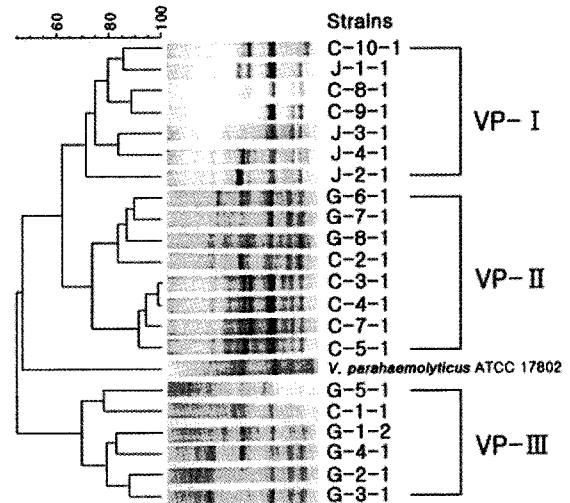


Fig. 2. Dendrogram illustrating the clustering of RAPD PCR patterns of (a) *V. alginolyticus*, (b) *V. parahaemolyticus*.

의 경우 약 600 bp에서 10 kb의 크기를 갖는 것으로 조사되었다. UPGMA분석 결과를 토대로 유사도에 따라 cluster 패턴을 분석한 결과 *V. alginolyticus*의 경우 2개의 cluster (VA-I, VA-II)로 구분되었고 *V. parahaemolyticus*의 경우 3가지 cluster (VP-I, VP-II, VP-III)로 구분되어 분리 지역별 유사도가 높게 조사되었다.

참고 문헌

Bauer, A.W., M.M. Kirby, J.C. Sherris and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45, 493-496.
 Ceccarelli, D., A.M. Salvia, J. Sami and P. Cappuccinelli. 2006. New cluster of plasmid-located class I integrons in *Vibrio cholerae* 01 and a *df*A15 cassette-containing integron in *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Angola. Antimicrob. Agents Chemother., 50, 2493-

- 2499.
- Clinical Laboratory Standard Institute. 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 7th informational supplement. M100-S17, Wayne, PA.
- Food and Drug Administration (FDA). 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. U.S. Food and Drug Administration, Washington DC.
- Lee, S.K.Y., H.Z. Wang, S.H.W. Law, R.S.S. Wu and R.Y.C. Kong. 2002. Analysis of the 16S-23S rDNA intergenic spacers (IGSs) of marine vibriosis for species-specific signature DNA sequences. Mar. Pollut. Bull., 44, 412-420.
- Melano, R., A. Petroni, A. Garutti, H.A. Saka, L. Mange, F. Pasteran, M. Rapoport, A. Rossi and M. Galas. 2002. New carbenicillin-hydrolyzing β -lactamase (CARB-7) from *Vibrio cholerae* non-01, non-0139 strains encoded by the VCR region of the *V. cholerae* genome. Antimicrob. Agents Chemother., 46, 2162-2168.
- Melian, L., A.P. Deborah and R.S. John. 2003. Intraspecific diversity of *Vibrio vulnificus* in Galveston Bay Water and oysters as determined by RAPD PCR. Appl. Environ. Microbiol., 69, 3170-3175.
- Mudryk, Z.J. 2005. Occurrence and distribution antibiotic resistance of heterotrophic bacteria isolated from a marine beach. Mar. Pollut. Bull., 50, 80-86.
- Panicker, G., R.C. Douglas, J.K. Melissa and A.K. Bej. 2004. Detection of pathogenic *Vibrio* spp. in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarrays. Appl. Environ. Microbiol., 70, 7436-7444.
- Petroni, A., A. Corso, R. Melano, M.L. Cacace, A.M. Bru, A. Rossi and M. Galas. 2002. Plasmidic extended-spectrum β -lactamase in *Vibrio cholerae* 01 E1 tor isolates in Argentina. Antimicro. Agents Chemother., 46, 1462-1468.
- Rowe-Magnus, D.A. and D. Mazel. 2002. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. Int. J. Med. Microbiol., 292, 115-125
- Ripabelli, G., M.L. Sammarco, J. McLauchlin and I. Fanelli. 2003. Molecular characterisation and antimicrobial resistance of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio alginolyticus* isolated from mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Syst. Appl. Microbiol., 26, 119-126.
- Son, K.T., E.G. Oh, T.S. Lee, H.J. Lee, P.H. Kim and J.H. Kim. 2005. Antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* from farms on the southern coast of Korea. J. Kor. Fish Soc., 38, 365-371.
- Son, J.C., S.W. Park and K.J. Min. 2003. Environmental and antimicrobial characteristics of *Vibrio* spp. isolated from fish, shellfish, seawater and brackish water samples in Gyeongbuk eastern coast. Kor. J. Env. Hlth., 29, 94-102.
- Su, Y.C. and C. Liu. 2007. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. Food Microbiol., 24, 549-558.
- Teo, J.W.P., A. Suwanto and C.L. Poh. 2000. Novel β -lactamase genes from two environmental isolates of *Vibrio harveyi*. Antimicrob. Agents Chemother., 44, 1309-1314.
- Vaseeharan, B., P. Ramasamy, T. Murugan and J.C. Chen. 2005. In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. Int. J. Antimicrob. Agents, 26, 285-291.
- Zanetti, S., T. Spanu, A. Deriu, L. Romano, L.A. Sechi and G. Fadda. 2001. In vitro susceptibility of *Vibrio* spp. isolated from the environment. Int. J. Antimicrob. Agents, 17, 407-409.

2008년 11월 17일 접수
2009년 2월 10일 수리