

해수에서 분리한 장염비브리오의 항생제 내성 및 암피실린 내성 유전자의 동정

이근우·박권삼*

군산대학교 식품생명공학과

Antibiotic-Resistance Profiles and the Identification of the Ampicillin-Resistance Gene of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Seawater

Kuen-Woo Lee and Kwon-Sam Park*

Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University,
Kunsan 573-701, Korea

The antibiotics-resistance profiles of 28 strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seawater were investigated. All of the strains studied were resistant to ampicillin (100%), but susceptible to 12 other antibiotics. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *V. parahaemolyticus* to ampicillin was as high as 1,024-2,048 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The phenotype of strain 8 changed from ampicillin-resistant to susceptible with an in-frame deletion mutant of *VPA0477*, a putative β -lactamase gene, and the MIC for ampicillin of the mutant strain was 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. In conclusion, our findings suggest that the *VPA0477* gene acts as a β -lactamase in ampicillin-resistant *V. parahaemolyticus* strains.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Ampicillin-resistance, β -lactamase, Deletion mutant

서 론

장염비브리오 (*Vibrio parahaemolyticus*)는 해수 및 기수지역을 중심으로 분포하고 있는 저도호염성 해양세균으로 이균에 오염된 어패류를 생식하거나 불충분하게 가열 처리된 수산물을 섭취함으로써 위장염 증상을 나타내는 식중독 원인 세균으로 알려져 있다 (Sakazaki et al., 1968; Honda and Iida, 1993). 우리나라에서는 매년 전체 세균성 식중독 사고의 약 20% 전후가 장염비브리오에 의해 발생하고 있는 실정이다. 이 균이 생산하는 대표적인 병원성 독소는 내열성용혈독 (thermostable direct hemolysin, TDH), 내열성용혈독 관련용혈독 (TDH-related hemolysin, TRH), serine protease 및 type III secretion systems (TTSS1과 2)를 통해 분비되는 각종 effector 단백질 등이 보고되어 있으나 정확한 병원성 기작에 관한 설명은 아직도 많이 부족한 실정이다 (Honda and Iida, 1993; Lee et al., 2002; Makino et al., 2003; Park et al., 2004; Kodama et al., 2007; Kodama et al., 2008).

페니실린 발견 이후 다양한 종류의 항생제는 사람과 동물의 치료, 질병예방 및 성장촉진 등의 목적으로 사용되고 있다. 어류양식장의 경우, 양식어의 질병예방 및 치료를 위하여 항생제를 사료에 첨가하거나 약용함으로써 소기의 목적을 달성하고 있다. 수산용으로 사용된 전체 항생제의 사용량은 2005년 한해 275톤을 정점으로 서서히 감소추세이나 2008년도 사용량은 194톤으로 아직도 항생제 사용량은 많은 편이며, 다량의 항생제 사용은 각종 항생제 내성균의 증가를 가중시키

는 결과로 나타나고 있다 (Son et al., 2003; Son et al., 2005; Lee et al., 2007; Oh et al., 2008; Lee et al., 2009; Yu et al., 2010). 세균이 항생제 내성을 갖게 되는 이유는 분해효소에 의한 항생제의 불활성화, 표적 항생물질의 변화, 세포막의 항생제 투과성의 변화 및 세포 밖으로 항생제의 유출 등의 방법에 의한 것으로 알려져 있으며 이들 메커니즘이 단독 또는 복합적으로 작용하여 세균은 항생제에 내성을 갖게 된다. 획득내성은 세균 염색체의 유전자변이, 플라스미드 또는 트랜스포존 (transposon)에 매개되는 내성유전자의 획득에 의해 생기며, 내성 유전자는 염색체 또는 플라스미드 DNA에 존재한다. 다른 세균으로의 내성유전자의 전달방법은 접합, 형질전환 및 형질도입에 의해 일어나며 이중 가장 흔한 방법은 접합이다. 그람음성 세균에서 항생제 다제내성 유전자를 encoding하고 있는 integron은 세균 염색체에서 이동성을 가진 DNA 단편인 transposon을 통하여 유전자의 한 복제단위에서 다른 복제단위로 이동되는데 가장 일반적인 방법은 접합을 통하여 동종 및 이종 세균으로 확산된다고 보고되어 있다 (Rowe-Magnus and Mazel, 2002).

2002년 genome sequence가 완료된 장염비브리오 RIMD 2210633 균주의 경우, integron은 큰 염색체에 약 50 kb 크기로 존재하며 여기에는 약 70개의 유전자가 존재하는 것으로 보고되어 있다 (Makino et al., 2003). Trimethoprim에 내성을 갖는 장염비브리오는 class I integron 내에 존재하는 *dfiA27* 유전자에 의해 trimethoprim, gentamicin 및 rifampin의 내성에 관여하는 유전자가 포함되어 있다는 연구결과가 최근에 보고하였다 (Yu et al., 2010). 해수 및 어류양식장에서 분리한 장염비브리

*Corresponding author: parkks@kunsan.ac.kr

오를 대상으로 암피실린 내성에 관한 연구보고는 많으나 관련 유전자에 관한 연구보고는 아직 없는 실정이다. Genome sequence가 완료된 장염비브리오 RIMD2210633 균주의 경우, 암피실린 분해유전자인 β -lactamase와 상동성이 있는 유전자 (VPA0477)는 작은 염색체에 존재한다고 보고되어 있지만 이에 대한 연구결과는 아직 없다.

본 연구에서는 해수 분리 장염비브리오 28개 균주를 대상으로 각종 항생제 내성 양상을 파악한 결과 암피실린에는 모든 균주가 내성을 나타내는 반면 그 이외의 12종의 항생제에는 감수성을 나타내었다. 따라서 암피실린 분해유전자를 동정하기 위하여 다른 세균에서 보고되어 있는 암피실린 분해유전자인 β -lactamase와 상동성이 있는 VPA0477 유전자 결손균주를 작성하여 암피실린에 대한 내성변화를 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주

실험에 사용한 균주는 2008년 전북 부안군 곰소만의 표층 해수에서 분리하여 장염비브리오로 동정된 28개 균주를 사용하였다. 균주 동정은 API 20E kit (Biomérieux, France)를 사용하였다.

Class 1 integron, TDH 및 TRH 유전자의 검출

Class 1 integron 유전자 존재 유무는 Ceccarelli et al. (2006)이 제시한 그람음성 장내세균의 class 1 integron primers (Int F: 5-GGCATCCAAGCAGCAAG-3와 Int B: 5-AAGCAGACTTGACCTGA-3)를, TDH 및 TRH 유전자 확인용 primers는 다음과 같다; TDH (5'-GTAAAGGTCTCTGACTTTTGGAC-3' 및 5'-TGGAATAGAACCCTTCATCTTCACC-3') 및 TRH (5'-TTG GCTTCGATATTTTCAGTATCT-3' 및 5'-CATAACAAACA TATGCCCATTTCCG-3'). PCR 반응에는 Takara (Japan)의 kit를 사용하였으며, 95°C에서 3분간 열변성한 후 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 1분을 30회 반복하여 DNA를 증폭하여 1.5% agarose gel 상에서 증폭여부를 확인하였다.

용혈능 검사

각 균주에 대한 용혈능 검사는 PBS로 3회 세정하여 최종농도가 2%가 되도록 조정된 사람 및 토끼의 적혈구를 첨가한 LB agar (0.5% yeast-extract, 1% tryptone, 1% NaCl, 1.5% agar)에 시험균주를 접종하여 35°C에서 48시간 배양 후 용혈환의 생성유무로 용혈능을 판독하였다.

항생제 감수성 검사

항생제 감수성 시험은 Acar and Goldstein (1991)의 disk diffusion법으로 검사하였다. 시험균주는 LB (NaCl 3%) broth에 접종하여 35°C에서 하룻밤 배양한 균을 생리식염수로 2회 세정하고 농도를 McFarland 0.5로 조정하여 Muller-Hinton agar (Merck, Germany)에 도말하였다. 여기에 검사 항생제 disk를 고착하여 35°C에서 16-18시간 배양한 후 증식억제환 생성유무 및 크기로 항생제 감수성을 판독하였다. 항생제 disk

는 Becton Dickinson (BBL Sensi-Disk) 제품을 사용하였다.

최소발육억제 농도 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 측정

MIC는 미국 NCCLS (National Committee for Laboratory Standard, 2004)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 멸균된 Muller-Hinton broth (Merck, Germany)에 농도가 다르게 ampicillin를 첨가하고 멸균된 소형 시험관에 배지를 2 ml씩 분주하였다. 여기에 액체배지에서 전배양한 시험균주 5 μ L를 접종하여 35°C에서 18시간 정치배양한 후 균 증식여부는 육안으로 확인하여 MIC를 측정하였다.

VPA0477 유전자 결손균주의 작성

VPA0477 유전자 결손균주의 작성은 Park et al. (2005)이 사용한 방법에 준하여 실시하였다. 사용한 primers의 서열은 다음과 같다: M1 (5'-GGATCCAACAGTGGTTAGAGT-3'), M2 (5'-ATCTTCCATCAAGGTTGTCCAT GTCGCTTA-3'), M3 (5'-TAAGCGACATGGACAACCTTG ATGGAAGAT-3') 및 M4 (5'-CTGCAGTTCGAGCTTAACCT T-3'). Template DNA는 *V. parahaemolyticus* RIMD2210633균주의 genomic DNA를 사용하여 먼저 M1과 M2 및 M3와 M4의 primers로 DNA를 증폭하였다. 각각 정제한 DNA는 섞고 M1과 M4의 primers로 재차 증폭하였으며, 정제한 DNA는 pT7Blue T-vector (Novagen, Inc.)에 ligation한 후 *E. coli* DH5 α 에 형질 전환하였다. Plasmid는 정제하여 BamHI 및 PstI의 제한효소로 절단하여 자살벡터 pYAK1 (Park et al., 2005)의 동일 site에 삽입하고 plasmid는 *E. coli* SM10 λ pir (Miller and Mekalanos, 1988)에 형질 전환하였다. 유전자 결손은 자살벡터를 내포하고 있는 *E. coli* SM10 λ pir와 장염비브리오 (strain 8)와의 접합에 의하여 실시하였다. 결손균주의 스크린은 chloramphenicol 5 μ g/ml이 첨가된 TCBS agar (Difco)와 10% sucrose가 포함된 LB (NaCl 3%) broth를 사용하였다. 결손여부는 PCR 반응 및 Southern hybridization으로 확인하였다.

β -lactamase (VPA0477) 유전자의 DIG-labeling probe 작성

결손균주의 확인을 위한 Southern blot용 probe는 아래의 primers를 사용하였다: S1 (5'-ATGAAAAAGTTATTCCTGTG-3') 및 S2 (5'-TTAACTTTCTTTGTAGTGCTC-3'). PCR 반응은 95°C에서 3분간 열변성한 후 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 1분을 30회 반복하여 DNA를 증폭 및 정제한 다음 DIG-labeling kit (Boehringer Mannheim, Germany)를 사용하여 상기의 PCR 조건 중 annealing 온도만 5°C 낮은 50°C에서 PCR 반응을 실시하여 DIG-labeling probe를 작성하였다.

Southern hybridization

야생형 및 VPA0477 결손균주의 염색체 DNA는 제한효소 SalI 으로 하룻밤 처리한 후 1.0% agarose gel에 apply하여 1 \times TBE buffer [0.09 M Tris-borate, 2 mM EDTA (pH 8.0)]를 사용하여 전기영동한 후 nylon membrane (GeneScreen Plus, Dupont)에 전이하였다. DNA는 GS Gene Linker UV chamber

(Bio-Rad, USA)로 고정하였으며, hybridization은 42°C의 수조에서 하룻밤 실시하여 phosphatase-labeled anti-DIG monoclonal 항체 (Boehringer Mannheim, Germany)로 검출하였다. 필름은 TQX-120 Automatic Film Processor (동양 메디칼 시스템(주))로 현상하였다.

Table 1. Antimicrobial susceptibility of 28 strains *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seawater

Antimicrobial agents	Disc potency (µg)	Ratio of resistance (%)
Amikacin	30	0 (0/28)
Ampicillin	10	100 (28/28)
Cefoxitin	30	0 (0/28)
Cephalothin	30	0 (0/28)
Chloramphenicol	30	0 (0/28)
Gentamicin	10	0 (0/28)
Nalidixic acid	30	0 (0/28)
Rifampicin	5	0 (0/28)
Streptomycin	10	0 (0/28)
Sulphamethoxazole /trimethoprim	23.75/1.25	0 (0/28)
Tetracycline	30	0 (0/28)
Trimethoprim	5	0 (0/28)

Table 2. Phenotypes and genetic characterization of ampicillin-resistant *Vibrio parahaemolyticus*

Strains	TDH gene	TRH gene	Hemolytic activity	β-lactamase (VPA0477)	Class 1 integron	MIC of ampicillin (µg/mL)
1	-	-	-	+	+	1,024
2	-	-	-	+	+	2,048
3	-	-	-	+	+	2,048
4	-	-	-	+	+	1,024
5	-	-	-	+	+	1,024
6	-	-	-	+	+	1,024
7	-	-	-	+	+	1,024
8	-	-	-	+	+	2,048
9	-	-	-	+	+	2,048
10	-	-	-	+	+	1,024
11	-	-	-	+	+	1,024
12	-	-	-	+	+	1,024
13	-	-	-	+	+	1,024
14	-	-	-	+	+	1,024
15	-	-	-	+	+	2,048
16	-	-	-	+	+	2,048
17	-	-	-	+	+	1,024
18	-	-	-	+	+	2,048
19	-	-	-	+	+	1,024
20	-	-	-	+	+	2,048
21	-	-	-	+	+	1,024
22	-	-	-	+	+	2,048
23	-	-	-	+	+	1,024
24	-	-	-	+	+	1,024
25	-	-	-	+	+	1,024
26	-	-	-	+	+	1,024
27	-	-	-	+	+	1,024
28	-	-	-	+	+	2,048
RIMD 2210633	+	-	+	+	+	1,024
TH3996	-	+	+	+	+	1,024

결과 및 고찰

분리균주의 병원성 유전자의 존재유무 검토

일반적으로 임상분리 장염비브리오의 대부분은 이 균의 대표적인 병원성 인자인 TDH 또는 TRH 유전자를 보유하고 있는데 비해 해수 및 어패류 등의 환경유래 장염비브리오에는 이들 병원성 유전자의 보유율은 매우 낮은 것으로 보고되어 있다 (Honda and Iida, 1993). 2008년 6월부터 10월까지 전북 부안군 곰소만의 표층해수에서 분리한 장염비브리오 28개 균주를 대상으로 TDH 및 TRH 유전자 존재유무는 각 유전자에 대한 프라이머를 사용하여 PCR로 검토하였다. 그 결과 28개 모든 균주에서 이들 병원성 유전자는 증폭되지 않았다 (Table 2). 또한 사람과 토끼의 적혈구를 2% 첨가한 배지를 사용하여 용혈능을 검토하였는데 모든 균주에서 용혈능은 관찰되지 않았다 (결과 미제시). 이 결과는 실험에 사용된 해수유래 장염비브리오 28개 균주는 TDH 및 TRH 유전자를 보유하지 않은 해수에서 흔하게 분리되는 비병원성 장염비브리오로 확인되었다.

항생제 감수성 및 최소발육억제 농도의 검토

해수 및 양식장의 어류에서 분리한 장염비브리오는 ampicillin 이외에도 cephalothin, amikacin, cefoxitin, gentamicin 등의 단독 항생제에 내성을 나타낼 뿐만 아니라 다제내성균의 검출빈도도 높은 것으로 보고되어 있다 (Son et al., 2003; Son et al., 2005; Lee et al., 2009). 해수에서 분리한 장염비브리오 28개 균주를 대상으로 13종의 항생제에 대한 감수성을 디스크 확산법으로 측정한 결과는 Table 1과 같다. Ampicillin을 제외한 나머지 12종의 항생제에 대해서는 실험에 사용한 28개 균주 모두 감수성을 나타낸 반면 ampicillin에 대해서는 모든 균주에서 내성을 나타내었다. 이는 ampicillin 이외의 항생제에 대한 분해 유전자 또는 배출 기구는 없는 결과라 사료된다. 내성을 나타내는 ampicillin에 대한 최소발육억제농도를 검토한 결과는 Table 2에 나타내었다. 균에 따라 다소 차이는 있지만 암피실린에 대한 MIC는 1,024-2,048 µg/mL의 범위로 나타났으며, 이는 다른 논문에서 보고된 암피실린 내성 장염비브리오의 MIC와 동일하거나 약간 높은 수치라고 사료된다. 환경시료에서 분리한 장염비브리오의 항생제 내성은 분리원, 분리지역 및 분리시기에 따라 차이는 있으나 특히 ampicillin에 대한 내성은 자연내성에 가까울 정도로 내성균의 검출빈도가 높고 내성 또한 고도내성을 나타낸다고 보고되어 있다 (Lee et al., 2007; Lee et al., 2009). 이러한 결과는 우리나라에만 국한되고 있는 것이 아니라 외국의 예도 유사한 실정이다 (Tanil et al., 2005; Baker-Austin et al., 2008; Ferrini et al., 2008).

β-lactamase (VPA0477) 유전자 결손균주의 작성 및 암피실린 내성변화의 검토

*V. cholerae*에 이어 비브리오속으로는 두 번째로 임상분리 장염비브리오 RIMD2210633 균주의 염색체 DNA의 염기서열은 2002년에 밝혀졌다 (Makino et al., 2003). 작은 염색체에

존재하는 VPA0477 유전자는 283개의 아미노산으로 구성되어 있으며 예상 분자량은 31.7 kDa으로 추정되는 유전자로 *V. harveyi*, *V. fischeri* MJ11, *Photobacterium subsp. piscicida* 및 *Aliivibrio salmonicida* LFI1238의 β -lactamase 유전자와 75%, 67%, 66% 및 64%의 상동성이 있으나 아직 연구결과 보고는 없다. 이 유전자가 ampicillin을 분해하는 유전자의 가능성이 있어 이 유전자의 결손균주는 재료 및 방법에 제시한 방법에 의하여 작성하였다. 유전자 결손여부는 PCR과 Southern hybridization으로 확인하였다. 결손균주는 VPA0477 유전자 내부가 517 bp 결손된 결과 야생형균주에 비해 PCR 증폭산물의 크기가 작으며, Southern hybridization에서 probe와 반응한 단편의 크기도 작게 나타났다 (Fig. 1A와 B). 이 결과는 VPA0477 유전자 결손이 성공적으로 이루어진 결과로 판단된다. 유전자 결손에 따른 균 증식 속도를 야생형과 비교한 결과 양 균주에서 차이가 나타나지 않아 VPA0477 유전자는 균 증식에는 직접적으로 관여하지 않음을 시사한다 (결과 미제시). 결손균주의 암피실린에 대한 내성변화는 MIC로 측정하였다. 그 결과 VPA0477 유전자 결손균주의 암피실린에 대한 MIC는 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하로 암피실린 감수성으로 나타났다 (Table 3). 이는 VPA0477 유전자가 암피실린 내성에 직접 관여하는 유전자임을 증명하는 결과로 판단된다.

VPA0477 유전자가 암피실린 내성에 직접적으로 관여하고 있지만 본 실험에서 작성한 결손균주는 8번 균주에 국한된 결과이기 때문에 8번 이외의 다른 균주에서는 VPA0477 유전자 이외에도 암피실린 내성에 관여하는 다른 유전자가 존재할 가능성은 있다고 사료된다. 하지만 8번 균주의 암피실린에 대한 MIC는 2,048 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 실험에 사용한 다른 균주의 암피

실린에 대한 MIC와 비교했을 때 동일하거나 약간 높기 때문에 8번 이외의 다른 균주에 VPA0477 이외의 암피실린 내성 유전자가 존재 할 가능성은 낮다고 판단된다. 장염비브리오에 암피실린 내성관련 유전자로 VPA0477 유전자만 존재한다면 균주에 따라 MIC가 다른 이유는 VPA0477 유전자의 일부 염기 변이에 의한 아미노산 치환에 따른 활성저하 또는 전사 및 번역과정중의 문제 때문인 것으로 사료되기에 차후 검토가 필요하다고 판단된다.

사 사

본 연구는 2010년도 군산대학교 교내 학술지원비로 수행한 연구결과이며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Acar JF and Goldstein FW. 1991. Disk susceptibility test. In: Antibiotics in Laboratory Medicine, Lorian V, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A., 17-52.
- Baker-Austin C, McArthur JV, Tuckfield RC, Najarro M, Lindell AH, Gooch J and Stepanauskas R. 2008. Antibiotic resistance in the shellfish pathogen *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the coastal water and sediment of Georgia and South Carolina, USA. J Food Prot 71, 2552-2558.
- Ceccarelli D, Salvia AM, Sami J and Cappuccinelli P. 2006. New cluster of plasmid-located class I integrons in *Vibrio cholerae* O1 and a *dfrA15* cassette-containing integron in *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Angola. Antimicrob Agents Chemother 50, 2493-2499.
- Ferrini AM, Mannoni V, Suffredini E, Cozzi L and Croci L. 2008. Evaluation of antibacterial resistance in *Vibrio* strains isolated from imported seafood and Italian aquaculture settings. Food Anal Methods 1, 164-170.
- Honda T and Iida T. 1993. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins. Rev Med Microbiol 4, 106-113.
- Kodama T, Hiyoshi H, Gotoh K, Akeda Y, Matsuda S, Park KS, Cantarelli VV, Iida T and Honda T. 2008. Identification of two translocon proteins of *Vibrio parahaemolyticus* type III secretion system 2. Infect Immun 76, 4282-4289.
- Kodama T, Rokuda M, Park KS, Cantarelli VV, Matsuda S, Iida T and Honda T. 2007. Identification and characterization of VopT, a novel ADP-ribosyltransferase effector protein secreted via the *Vibrio parahaemolyticus* type III secretion system 2.

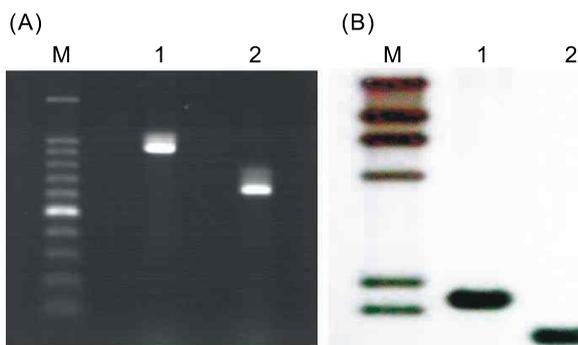


Fig. 1. Confirmation of VPA0477 gene deletion mutant strain by PCR (A) and Southern hybridization (B). M, 100 bp DNA ladder (A) and Lambda *Hind*III (B); 1, Wild-type strain; 2, VPA0477 gene deletion mutant strain.

Table 3. Changes of MIC of wild-type and deletion mutant strains on ampicillin

Strain	MIC of ampicillin ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Wild-type (strain 8)	2,048
Δ VPA0477 in strain 8	± 1.0

- Cell Microbiol 9, 2598-2609.
- Lee CY, Cheng MF, Yu MS and Pan MJ. 2002. Purification and characterization of a putative virulence factor, serine protease, from *Vibrio parahaemolyticus*. FEMS Microbiol Lett 19, 31-37.
- Lee H, Oh YH, Park SG and Choi SM. 2007. Antibiotic susceptibility and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the seafood. Kor J Env Hlth 33, 16-20.
- Lee HW, Lim SK and Kim MN. 2009. Characteristics of ampicillin-resistant *Vibrio* spp. isolated from a west coastal area of Korea peninsula. J Kor Fish Soc 42, 20-25.
- Makino K, Oshima K, Kurokawa K, et al., 2003. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*. Lancet 361, 743-749.
- Miller VL and Mekalanos JJ. 1988. A novel suicide vector and its use in construction of insertion mutations: osmoregulation of outer membrane proteins and virulence determinants in *Vibrio cholerae* requires *toxR*. J Bacteriol 170, 2575-2583.
- NCCLS. 2004. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth Information Supplement. NCCLS. 2000; Document. M100-S12 (ISBN, 1-56238-456-4) NCCLS, 940 West Valley Road, Suite, 1400, Wayne, PA:19087-19098. U.S.A.
- Oh EG, Yu HS, Shin SB, Son KT, Park KB, Kwon JY, Lee TS and Lee HJ. 2008. Trimethoprim resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the fish farm. J Kor Fish Soc 41, 324-329.
- Park KS, Arita M, Iida T and Honda T. 2005. *vpaH*, a gene encoding a novel histone-like nucleoid structure-like protein that was possibly horizontally acquired, regulates the biogenesis of lateral flagella in *trh*-positive *Vibrio parahaemolyticus* TH3996. Infect Immun 73, 5754-5761.
- Park KS, Ono T, Rokuda M, Jang MH, Okada K, Iida T and Honda T. 2004. Functional characterization of two type III secretion systems of *Vibrio parahaemolyticus*. Infect Immun 72, 6659-6665.
- Rowe-Magnus DA and Mazel D. 2002. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. Int J Med Microbiol 292, 115-125.
- Sakazaki R, Tamura K, Kato T, Obara Y and Yamai S. 1968. Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacterium, *Vibrio parahaemolyticus*. 3. Enteropathogenicity. Jpn J Med Sci Biol 21, 325-331.
- Son JC, Park SW and Min KJ. 2003. Environmental and antimicrobial characteristics of *Vibrio* spp. isolated from fish, shellfish and brackish water samples in Gyeongbuk eastern coast. Kor J Env Hlth 29, 94-102.
- Son KT, Oh EG, Lee TS, Lee HJ, Kim PH and Kim JH. 2005. Antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* from farms on the southern coast of Korea. J Kor Fish Soc 38, 365-371.
- Tanil GB, Radu S, Nishibuchi M, Rahim RA, Napis S, Maurice L and Gunsalam JW. 2005. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from coastal seawater in peninsular Malaysia. Southeast Asian J Trop Public Health 36, 940-945.
- Yu HS, Park KB, Oh EG, Lee TS, Shin SB, Kwon JY, Kim JH and Son KT. 2010. Trimethoprim resistance by class I integron in *Vibrio parahaemolyticus* from a fish farm. Kor J Fish Aquat Sci 43, 125-130.

2010년 7월 21일 접수
 2010년 10월 13일 수정
 2010년 12월 6일 수리