

## 어류, 수족관수 및 환자에서 분리된 *Vibrio vulnificus*의 독소유전자 분포 및 항생제 내성

윤연희<sup>1</sup> · 박숙<sup>1</sup> · 김진영<sup>1</sup> · 이예주<sup>1</sup> · 전두영<sup>1</sup> · 최경철<sup>1</sup> · 박종수<sup>1</sup> · 김중범<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>전라남도보건환경연구원 미생물과, <sup>2</sup>순천대학교 식품공학과

### Prevalence of Toxin Genes and Profiles of Antibiotic Resistance in *Vibrio vulnificus* Isolates from Fish, Fish Tanks, and Patients

Yeon-Hee Yoon<sup>1</sup>, Sook Park<sup>1</sup>, Jin Young Kim<sup>1</sup>, Ye Ju Lee<sup>1</sup>, Doo-Young Jeon<sup>1</sup>, Gyeong Cheol Choi<sup>1</sup>,  
Jong Soo Park, Jung-Beom Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Microbiology Division, Health and Environment Research Institute of Jeollanam-Do, Muan-gun, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Korea

(Received November 24, 2019/Revised December 2, 2019/Accepted December 10, 2019)

**ABSTRACT** - Prevalence of toxin genes and profiles of antibiotic resistance in *Vibrio vulnificus* were investigated for prevention of *Vibrio* sepsis and selection of effective antibiotics. A total of 23 *V. vulnificus* strains were isolated from *Vibrio* sepsis patients, fish, and water samples collected from fish tanks in restaurants in Jeonnam province during 2015-2017 period. Prevalence of toxin genes including, *RtxA*, *viuB* and *vvhA* were assessed and susceptibilities to 15 different antibiotics were determined. As a result of the toxin gene profile, the *RtxA* toxin gene was detected in 19 (82.6%) out of 23 strains, and *vvhA* and *viuB* toxin genes were positive in all strains. These results showed that *V. vulnificus* tested in this study possessed at least one more toxin gene, and the toxin gene detection rate was higher than in previous reports. Therefore, there is always a risk of *Vibrio* sepsis through eating fish or having contact with aquarium water at seafood restaurants. Especially, it was deemed necessary to provide preventive education about *Vibrio* sepsis for workers in such restaurants. The results of antibiotic susceptibility tests presented 94.4% resistance to cephalosporin antibiotics but all strains showed susceptibility to 14 kinds of antibiotics including chloramphenicol and tetracycline. The current antibiotic therapy using chloramphenicol and tetracycline against *Vibrio* sepsis was judged to be useful.

**Key words** : Toxin gene, Antibiotic resistance, *Vibrio vulnificus*, Fish, Aquarium water

병원성 비브리오균에는 *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* 등이 있으며 우리나라 해안지역에 광범위하게 분포하여<sup>1)</sup>, 해수, 갯벌, 어패류 등에 서식하고 있다<sup>2)</sup>. *V. vulnificus*는 해수 온도가 15°C 이상으로 상승하는 초여름부터 활발하게 증식하여 여름부터 늦가을까지 해양 생태계에 상존한다<sup>3)</sup>. *V. vulnificus*는 그람음성, 운동성이 있는 호염성 간균으로, 수산물 섭취에 따른 사망사고의 95% 이상이 관련된 것으로 보고<sup>4)</sup>되고 있다. *V. vulnificus* 균주에 의한 질병은 피부가 불에 덴 것 같은 증

상을 나타내 괴저병이라고 지칭되었으나, 1981년 *V. vulnificus*가 원인균주임이 밝혀져<sup>5)</sup> *Vibrio* 패혈증으로 명명되었다. *V. vulnificus*는 전 세계적으로 하절기 주요 식중독 원인균주로 인간에게 패혈증을 일으키는 유해균으로 보고되고 있다<sup>5,6)</sup>. *V. vulnificus*의 주요 감염경로는 간 질환이 있거나 면역력이 약해진 사람이 오염된 어패류를 생식하여 감염되는 경우와 피부상처를 통한 감염이 보고되고 있다<sup>7,8)</sup>. *V. vulnificus* 감염 증상으로는 피부병변과 함께 발열, 복통, 설사 등의 증상이 나타난다<sup>9)</sup>. 2013년부터 2017년까지 5년간 전국에서 발생한 비브리오 패혈증 환자 256명 중 120명(46.9%)이 사망하는 등 매년 비브리오 패혈증환자와 사망자가 발생하고 전남 해안지역에서 환자발생 빈도가 가장 높은 것으로 보고<sup>10)</sup>되고 있다.

\*Correspondence to: Jung-Beom Kim, Department of Food Science and Technology, SunChon National University, 255 Jungangro, Suncheon, Jeonnam 57933, Korea  
Tel: +82-61-750-3259, Fax: +82-61-750-3208  
E-mail: okjbkim@sunchon.ac.kr

*V. vulnificus* 균주의 주요 독소유전자로는 세포독성을 나타내는 *Rtx*, siderophore 생성하는 *viu*, 용혈작용을 나타내는 *vvh* 등이 알려져 있으며, 임상 분리균주와 환경 분리균주 간에 16S rDNA의 sequence polymorphism이 존재한다고 보고되고 있다<sup>11-13</sup>. 또한 multiplex PCR를 이용한 16S rDNA 유전자의 증폭산물에 따라 임상형과 환경형으로 분류되고 있다<sup>11-13</sup>. 우리나라의 경우 패혈증이 발생하면 저혈압 등의 쇼크증상이 나타나는 원발성 감염이 대부분으로 발병 후 2-3일 이내에 50-80% 이상이 사망한다<sup>14-16</sup>. 따라서 비브리오 패혈증 감염에 따른 사망을 방지하기 위해 환자가 가장 많이 발생하는 전남 해안에서 분리된 *V. vulnificus* 균주의 독소유전자 분포 및 항생제 내성 분석이 필요하다 하겠다. 그러나 현재까지 연구를 살펴보면 멕시코 만 해수와 조개류에서 분리된 *V. vulnificus* 균주의 독소유전자 분석<sup>17</sup>, 스웨덴 남부해안에서 분리된 *V. vulnificus* 균주의 독소유전자 분석<sup>18</sup>, *V. vulnificus* 균주가 생산하는 RTX 독소의 위해성<sup>19</sup>, *V. vulnificus* 균주의 *vvh* 독소유전자<sup>20</sup> 등 국외 연구에 비하여 국내에서는 인천지역에서 분리된 *V. vulnificus* 균주의 독소유전자 특성과 항생제 내성 분석<sup>9</sup>, 2014년부터 2015년 까지 비브리오 패혈증 환자에게서 분리된 *V. vulnificus* 균주의 유전적 다양성<sup>21</sup> 등에 한정되어 있다.

따라서 본 연구에서는 2015년부터 2017년까지 3년간 전남지역에서 발생한 비브리오 패혈증 환자로부터 분리된 *V. vulnificus* 균주와 전남지역에서 채취된 어패류 및 횃집 수족관수에서 분리된 *V. vulnificus* 균주를 대상으로 *Rtx*, *viu*, *vvh* 등의 독소유전자 분포와 항생제 감수성을 분석하여 비브리오 패혈증 환자 발생시 치료에 기여하고자 하였다.

## Materials and Methods

### 실험균주

본 실험에 사용한 *V. vulnificus* 균주는 2015년부터 2017년까지 전남지역 어류에서 분리된 2균주, 횃집 수족관수에서 분리된 3균주, 비브리오 패혈증 환자로부터 분리된 18균주, 총 23균주를 대상으로 하였다. 실험에 사용된 *V. vulnificus* 균주는 비브리오 패혈증 유행예측사업을 통해 분리 동정되어 -70°C 냉동고에 보관되어 있었으며, 보관 균주를 1%-NaCl 함유 TSB (tryptic soy broth, Oxoid, London, England)에 접종하여 37°C에서 24시간 3회 배양

하여 재활성화 하였다.

### 생화학적 동정

보관된 균주가 *V. vulnificus* 균주임을 재확인하기 위하여 생화학 동정을 실시하였다. 1%-NaCl 함유 TSB에서 재활성화 된 균액 한 백급이를 TCBS (thiosulfate citrate bile-salt sucrose, Oxoid, England)배지에 희석 도말하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양결과 녹색집락을 선택하여 Chromagar *Vibrio* agar (CHROMagar, Paris, France)에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 파란색 집락을 선택하여 1%-NaCl 함유 TSA (tryptic soy agar, Oxoid)에 계대 배양하였다. TSA 배지에서 순수 분리된 한 개 집락을 선택하여 DensiCHEK instrument (Biomerieux, Marcy-l'Etoile, France)를 이용하여 McFarland No. 0.6으로 현탁하여 접종균액을 제조하였다. 접종균액을 Vitek GN카드에 접종한 후 Vitek2 system (Biomerieux)를 이용하여 *V. vulnificus* 균주를 동정하였다.

### DNA 추출

순수 분리된 *V. vulnificus* 균주 한개 집락을 선택하여 멸균증류수 1 mL가 들어 있는 microcentrifuge tube에 현탁하여 12,000 rpm (Smart R17, Hanil scientific, Gimpo, Korea)에서 5분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상층액을 제거하고 멸균증류수 200 µL을 첨가하여 재현탁 시켜 99°C 히팅블럭(HB-96D, Daihan Scientific, Wonju, Korea)에서 10분간 가열하였다. 가열 후 2분간 얼음 위에 정치시킨 후 12,000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 상층액을 conventional PCR과 real-time PCR의 주형 DNA로 사용하였다.

### Conventional PCR

*V. vulnificus* 균주의 독소유전자 중 siderophore receptor 생성에 관여하는 *viuB* 유전자와 resiniferatoxin를 분비하는 *RtxA* 유전자를 대상으로 하였다. 독소유전자 중 *viuB* 유전자 검출을 위한 primer 염기서열은 Bhattacharyya의 보고<sup>22</sup>를 바탕으로 제작하였으며, *RtxA* 유전자 검출을 위한 primer는 국립보건연구원에서 Kwak 등<sup>23</sup>이 보고한 GenBank database (HQ391952-HQ391988)를 바탕으로 primer-blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>)로 설계한 염기서열을 이용하였다(Table 1). PCR primer는 GenoTech

**Table 1.** Primer sequences for detection of *Rtx* and *viu* toxin gene in *Vibrio vulnificus*

Toxin gene	Primer	Sequence	Amplicon size (bp)
<i>RtxA</i>	Rtx-F	5'-TCG AAT ACC ACA GCC GTA GC-3'	470
	Rtx-R	5'-CAC CAT TAA CGC GAG AGC AT-3'	
<i>viuB</i>	viuB-F	5'-GGT TGG GCA CTA AAG GCA GAT ATA-3'	505
	viuB-R	5'-CGG CAG TGG ACT AAT ACG CAG C-3'	

(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 합성하였으며, PowerChek™ 2X Premix III strip kit (Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 이용하여 실험하였다. PCR 반응은 SimpliAmp™ Thermal Cycler (Applied Biosystems, Singapore)를 이용하여 95°C에서 10분간 열변성한 후 95°C 30초, 58°C 30초, 72°C 60초를 30회 반복한 후 최종적으로 72°C에서 10분간 PCR을 실시하였다. *V. vulnificus* 균주의 독소유전자를 확인하기 위해 PCR product 3 µL를 2% agarose gel 상에 로딩하여 110 V에서 40분간 전기영동 하였다.

#### Real-time PCR

*V. vulnificus* 균주의 *vvhA* 독소유전자를 확인하기 위해 PowerChek™ *Vibrio* 4-plex Real-time PCR kit (Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 이용하여 확인하였다. ABI 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)을 사용하여 50°C에서 2분, 1 cycle, 95°C에서 10분, 1 cycle 반응시킨 후, 95°C에서 15초, 60°C에서 60초를 40 cycle을 반응시켰다. 분석결과는 제조자의 기준에 따라 Ct 값이 33 이하에서 증폭이 나타났을 경우, 비브리오 패혈증균의 *vvhA* 유전자가 검출된 것으로 판정하였다.

#### 항생제 감수성 실험

*V. vulnificus* 균주의 항생제 감수성 실험은 제조사가 제시하는 방법에 따라 AST-N169 card (Biomérieux)와 Vitek2 system을 이용하여 실험하였다. 분리 보관된 *V. vulnificus* 균주를 1%-NaCl 함유 TSA (tryptic soy agar, Oxoid)에 배양한 후 한 개의 집락을 선택하여 DensiCHEK instrument (Biomérieux)를 이용하여 McFarland No. 0.6으로 현탁하였다. 균주 현탁액과 Vitek2 system (Biomérieux)를 이용하여 *V. vulnificus* 균주의 항생제 감수성을 실험하였으며, 감수성, 중간내성 및 내성의 판단은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준에 따라 판정하였다<sup>24)</sup>. 실험에 사용된 항생제의 종류는 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/sulbactam, cefazolin, cefotetan, cefoxitin, ceftriaxone, imipenem, amikacin, gentamycin, nalidixic acid, ciprofloxacin, tetracycline, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole 등 15종을 사용하였다.

## Results and Discussion

#### *V. vulnificus*의 독소유전자 분석

전라남도 지역의 어류, 횡집 수족관수 및 환자에서 분리된 *V. vulnificus* 23균주를 Vitek2 system을 이용하여 동정한 결과 모두 *V. vulnificus*로 동정되었다. *V. vulnificus* 균주임이 확인된 23균주에 대하여 PCR과 Real-time PCR을 이용하여 독소유전자(*RtxA*, *viuB*, *vvhA*) 분석을 실시하

**Table 2.** Toxin gene profile of *Vibrio vulnificus* isolated from fish, aquarium water at raw fish restaurants and patients

Strain	Isolation source	Toxin gene		
		<i>RtxA</i>	<i>viuB</i>	<i>vvhA</i>
1	Fish	- <sup>1)</sup>	+ <sup>2)</sup>	+
2	Fish	-	+	+
3	Fish	+	+	+
4	Water sample from fish tank	+	+	+
5	Water sample from fish tank	+	+	+
6	Patient-1	+	+	+
7	Patient-2	+	+	+
8	Patient-3	+	+	+
9	Patient-4	+	+	+
10	Patient-5	+	+	+
11	Patient-6	+	+	+
12	Patient-7	+	+	+
13	Patient-8	-	+	+
14	Patient-9	-	+	+
15	Patient-10	+	+	+
16	Patient-11	+	+	+
17	Patient-12	+	+	+
18	Patient-13	+	+	+
19	Patient-14	+	+	+
20	Patient-15	+	+	+
21	Patient-16	+	+	+
22	Patient-17	+	+	+
23	Patient-18	+	+	+

<sup>1)</sup> - : Not detected.

<sup>2)</sup> + : Detected.

였다(Table 2). PCR 실험결과 총 23균주 중 19균주(82.6%)에서 470 bp 밴드를 확인하여 *RtxA* 독소유전자를 보유한 것으로 나타났으며, 실험에 사용된 23균주 모두에서 505 bp 밴드를 나타내어 *viuB* 독소유전자를 보유한 것으로 나타났다. 또한 *vvhA* 독소유전자를 확인하기 위한 real-time PCR 결과는 실험한 23균주(100%) 모두 30 이하의 Ct 값을 나타내어 *vvhA* 독소유전자를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 어류, 횡집 수족관수 및 환자 등 분리원에 따른 *V. vulnificus*균의 독소유전자 분포는 Table 3에 나타내었으며, 독소유전자 중 *viuB*와 *vvhA* 유전자는 분리원에 따른 구분 없이 모두 100% 검출되었다. 그러나 독소유전자 중 *RtxA* 유전자는 횡집 수족관수에서 분리된 2균주에서만 모두 검출되었고 어류에서 분리된 3균주 중 1균주(33.3%),

**Table 3.** Detection rate of toxin gene in *Vibrio vulnificus*

Isolation sources	Detection rate(%) of toxin gene		
	<i>RtxA</i>	<i>vvhA</i>	<i>viuB</i>
Fish (n=3)	1 (33.3)	3 (100)	3 (100)
Water sample from fish tank (n=2)	2 (100)	2 (100)	2 (100)
Patient (n=18)	17 (94.4)	18 (100)	18 (100)

패혈증 환자에서 분리된 18균주 중 16균주(88.9%)에서만 검출되었다.

*V. vulnificus*의 병원성은 혈청 살균작용<sup>25)</sup>, 탐식세포 내성 capsule 형성<sup>26)</sup>, 혈중 Fe을 포획하는 siderophore 생성능, cytolysin<sup>27,28)</sup> 등 여러 독성인자들이 복합적으로 작용한다<sup>29)</sup>. *V. vulnificus*의 주요 병원성 인자로 알려진 독소유전자는 *Rtx*, *vvh*, *viu*의 등이 있다<sup>31)</sup>. *V. vulnificus* 독소유전자 중 *Rtx*는 패혈증을 일으키는데 중요한 역할을 하는 것으로 보고<sup>21)</sup>되고 있으며, *Rtx* 독소유전자 검출율은 임상 분리균주가 76.0%, 환경 분리균주가 76.5%로 보고<sup>21)</sup>되고 있다. 본 실험결과 총 23균주에 대한 *Rtx* 독소유전자 검출율은 82.6%로 Hong 등의 보고<sup>21)</sup>에 비해 다소 높은 양성율을 나타내었으나, 어류의 경우 33.3%로 낮은 검출율을 나타내었고, 횃집 수족관수의 경우 100%의 검출율을 나타내었다. 이러한 결과는 기존 보고에 비해 어류 분리 *V. vulnificus* 균주의 경우 *Rtx* 독소유전자 검출율이 매우 낮은 결과이고, 횃집 수족관수 분리 *V. vulnificus* 균주의 경우 매우 높은 결과이나 실험대상 균주가 5균주로 매우 적어 지속적인 *V. vulnificus* 감시사업을 통해 다수의 균주를 대상으로 한 실험이 필요한 것으로 판단된다.

*V. vulnificus* 독소유전자 중 *vvh* 유전자는 cytolysin-hemolysin을 생산하여 숙주세포로 침투하여 세포를 용혈시키는 독소<sup>31,32)</sup>이고, *viu* 독소유전자는 혈액 중 Fe을 포획하는 siderophore 생성하는 독소유전자로서 siderophore-hydroxamate형, phenolate형, vulnibactin형이 보고되고 있다<sup>14)</sup>. 실험결과 어류, 횃집 수족관수 및 환자에서 분리된 23균주의 *V. vulnificus*에서 *vvhA*와 *viuB* 독소유전자가 모두 검출되었다. 이러한 결과는 패혈증 환자에서 분리된 *V. vulnificus* 균주가 환경에서 분리된 균주에 비해 siderophore receptor 생성에 관여하는 *viu* 독소유전자가 높게 검출되었다고 보고<sup>12)</sup>와 *V. vulnificus*로 동정된 209주에 대해 독소유전자 PCR를 실시하였을 때 206주(98.6%)에서 *vvh* 독소유전자 검출되었다고 보고<sup>9)</sup>와 유사한 결과를 나타내었다. *V. vulnificus* 감염에 따른 패혈증은 간 손상 환자에게서 많은 발병하고 있으며, 그 기작에 관해 아직까지 명확하게 규명되지 않았지만 혈중 Fe 농도와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고<sup>26)</sup>되고 있다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 어류, 횃집 수족관수, 환자에게서 분리된 *V. vulnificus* 균주 모두가 1개 이상의 독소유전자를 보유하고 있어 하절기 생선회

섭취 시 주의가 요망되고, 횃집 수족관수에서 분리된 *V. vulnificus*는 3개 독소가 모두 검출되어 수족관수의 적절한 관리가 필요한 것으로 나타났다. 특히 수족관수와 항시 접촉하는 횃집 종사자의 경우 상처를 통한 패혈증 감염의 위험성이 상존하고 있어 교육이 필요한 것으로 판단된다.

### *V. vulnificus*의 항생제 감수성

*V. vulnificus*에 대한 항생제 내성 실험결과는 Table 4에 나타내었다. 실험결과 cefoxitin 항생제에 18균주 중 17균주(94.4%)가 내성(resistance)을 나타내어 실험에 사용한 항생제 중 가장 높은 내성을 나타내었으며, 나머지 1균주는 중등도 내성(intermediate)을 나타내었다. 실험에 사용된 *V. vulnificus* 18균주 모두 chloramphenicol과 tetracycline 등 14종의 항생제에 감수성(susceptibility)을 나타내었다. 이러한 결과는 2014년에서 2015년 전남지역 해수 및 갯벌에서 분리된 *V. vulnificus* 균주에 대한 항생제 내성 실험결과 cefoxitin에 85.7%, ampicillin에 14.3% 내성을 나타내었다는 보고<sup>33)</sup>와 2001년에 분리된 *V. vulnificus* 균주에 대한 항생제 실험결과 chloramphenicol, nalidixic acid, tetracycline 항생제에 92.4%까지 감수성을 나타내었다는 보고<sup>34)</sup>와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 인천지역에서 2004년부터 2006년까지 분리된 *V. vulnificus* 균주의 경우 cefoxitin 항생제에 대한 내성이 6.7%라는 보고<sup>9)</sup>와 비교 시 항생제 내성이 증가하는 경향을 나타내어 지속적인 연구가 필요한 것으로 판단되었다. 또한 국내 발생 비브리오 패혈증 환자의 경우 발병한지 2-3일 이내에 50-80% 이상이 사망한다<sup>15,16)</sup>는 보고로 보아 비브리오 패혈증 환자 발생 시 chloramphenicol과 tetracycline 항생제를 사용하는 현 치료법이<sup>9)</sup> 유용한 것으로 판단되었다.

### Acknowledgement

본 연구는 전라남도보건환경연구원의 지원으로 수행되었기에 감사드립니다.

### 국문요약

본 연구에서는 비브리오 패혈증 예방과 치료에 유용한 항생제를 제시하기 위해 *V. vulnificus*의 독소유전자 분포

**Table 4.** Antibiotic resistance profiles of *Vibrio vulnificus* patients

Antimicrobial agent	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11	Patient 12	Patient 13	Patient 14	Patient 15	Patient 16	Patient 17	Patient 18
Ampicillin	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Amoxicillin/Clavulanic Acid	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ampicillin/Sulbactam	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefazolin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefotetan	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefoxitin	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ceftriaxone	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Imipenem	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Amikacin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Gentamicin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Nalidixic acid	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ciprofloxacin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Tetracycline	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Trimethoprim/sulfamethoxazole	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

<sup>1)</sup>S: Susceptible. <sup>2)</sup>R: Resistant. <sup>3)</sup>I: Intermediate.

와 항생제 내성을 분석하였다. 2015년부터 2017년까지 3년간 전남지역에서 발생한 비브리오 패혈증 환자로부터 분리되어 보관된 18균주와 전남지역에서 채취된 어패류 및 횃집 수족관수에서 분리된 5균주, 총 23균주를 대상으로 하였다. 실험에 사용된 *V. vulnificus* 23균주 모두 *V. vulnificus*로 재확인되었다. *V. vulnificus* 균주의 독소유전자를 분석한 결과, 23균주 중 19균주(82.6%)에서 *RtxA* 독소 유전자가 확인되었고, 23균주 모두에서 *viuB*와 *vwA* 독소 유전자가 검출되었다. 이러한 결과는 독소유전자의 검출율이 기존 보고에 비해 높은 것이며, 실험에 사용한 모든 *V. vulnificus* 균주가 1개 이상의 독소유전자를 보유한 것으로 생선회 섭취와 상처를 통한 비브리오 패혈증 감염의 위험성이 상존하고 있었다. 따라서 횃집 종사자 등에 대한 비브리오 패혈증 예방 교육이 필요한 것으로 판단되었다. *V. vulnificus*에 대한 항생제 내성 실험결과 cefoxitin 항생제에 94.4%가 내성을 나타내었고, chloramphenicol과 tetracycline 등 14종의 항생제에 감수성을 나타내었다. 비브리오 패혈증 치료에 chloramphenicol과 tetracycline 항생제를 사용하는 현 치료법이 유용한 것으로 판단되었다.

## References

- Colwell, R.R., Kaper, J., Joseph, S.W., *Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus* and other vibrios: occurrence and distribution in Chesapeake bay. *Science*, **198**, 374-396 (1977).
- Park, G.T., Park, M.J., Jung, C.R., Song, C.B., Lee, J.H., Yeo, I.K., Jeon, Y.J., Heo, M.S., Characterization of *Vibrio vulnificus* isolated from domestic coastal area. *Korean J. Life Science*, **14**, 986-990 (2004).
- Na, H.Y., Hong, S.H., Chung, G.T., The relationship of pathogenic *Vibrio* spp. with marine environmental factors, Korea, 2013-2015. *Public Health Weekly Report*, **9**, 154-158 (2016).
- Hoi, L., Dalsgaard, A., Larsen, J.L., Warner, J.M., Oliver, J.D., Comparison of ribotyping and randomly amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for characterization of *Vibrio vulnificus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 1674-1678 (1997).
- Koo, J.S., Kim, D.W., Han, K.S., Seok, J.S., Park, M.H., Kim, S.I., Lactose fermenting *Vibrio* (*Vibrio vulnificus*) septicemia -report of five cases-. *The Korean Journal of Pathology*, **16**, 463-469 (1982).
- Hrady, W.G., Klontz, K.C., The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *J. Infect. Dis.*, **173**, 1176-1183 (1996).
- Haq, S.M., Dayal, H.H., Chronic liver disease and consumption of raw oysters: a potentially lethal combination: a review of *Vibrio vulnificus* septicemia. *Am. J. Gastroenterol.*, **100**, 1195-1199 (2005).
- Oliver, J.D., Wound infections caused by *Vibrio vulnificus* and other marine bacteria. *Epidemiol. Infect.* **133**, 383-391 (2005).
- Hwang, K.W., Oh, B.Y., Gong, Y.W., Lee, J.H., Go, J.M., Kim, Y.H., Distribution and antibiotic resistance of *Vibrio vulnificus* isolated in Incheon coastal area. *Korea J. Sanitation*, **22**, 55-63 (2007).
- Korea Center for Disease and Control, (2019, December 27). Disease web statistics system, Available from, <https://www.cdc.go.kr/npt/biz/npp/ist/bass/bassDissStatsMain.do>
- Nilsson, W.B., Paranjypte, R.N., DePaola, A., Strom, M.S., Sequence polymorphism of the 16S rDNA gene of *Vibrio vulnificus* is a possible indicator of strain virulence. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 442-446 (2003).
- Panicker, G., Vickery, M.C.L., Bej, A.K., Multiplex PCR detection of clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus* in shellfish. *Can. J. Microbiol.*, **50**, 911-922 (2004).
- Han, F., Pu, S., Hou, A., Ge, B., Characterization of clinical and environmental types of *Vibrio vulnificus* isolates from Louisiana oysters. *Foodborne Pathog. Dis.*, **6**, 251-1258 (2009).
- Kwon, C.S., Characteristics of the virulence factors of pathogenic Vibrios isolated from the environment. Ph. D. Thesis, Pukyong Univ., Busan, Korea (2004).
- Choi, H.J., Lee, D.K., Lee, M.W., Choi, J.H., Moon, K.C., Koh, J.K., *Vibrio vulnificus* septicemia presenting as purpura fulminans. *J. Dermatol.*, **32**, 48-51 (2005).
- Osaka, K., Komatsuzaki, M., Takahashi, H., Sakano, S., Okabe, N., *Vibrio vulnificus* septicemia in Japa: an estimated number of infections and physicians knowledge of the syndrome. *Epidemiol Infect.*, **132**, 993-996 (2004).
- Panicker, G., Myers, M.L., Bej, A.K., Rapid Detection of *Vibrio vulnificus* in shellfish and gulf of Mexico water by real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 498-507 (2004).
- Collin, B., Rehnstam-Holm, A.S., Occurrence and potential pathogenesis of *Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* on the south coast of Sweden. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **78**, 306-313 (2011).
- Lee, H.E., Shin, S.H., Kim, S.Y., Kim, Y.R., Shin, D.H., Chung, S.S., Lee, Z.H., Lee, J.Y., Jeong, K.C., Choi, S.H., Rhee J.H., *Vibrio vulnificus* has the transmembrane transcription activator ToxRS stimulating the expression of the hemolysin gene *vwA*. *J. Bacteriol.*, **182**, 3405-3415 (2000).
- Lee, B.C., Choi, S.H., Kim, T.S., *Vibrio vulnificus* RTX toxin plays an important role in the apoptotic death of human intestinal epithelial cells exposed to *Vibrio vulnificus*. *Microbes Infect.*, **10**, 1504-1513 (2008).
- Hong, S.H., Jung, S.M., Yun, Y.S., Na, H.Y., Kang, B.H., Kim, J.O., Genetic diversity of *Vibrio vulnificus* strains isolated in Korea. *Public Health Weekly Report*, **11**, 564-56921 (2018).
- Bhattacharyya, H., Hou, A., A pentaplex PCR assay for detection and characterization of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *Lett. Appl. Microbiol.*, **57**, 233-240 (2013).
- Kwak, S., Jeong, H.G., Satchell K.J.F., *Vibrio vulnificus*

- rtxAI* gene recombination generates toxin variants with altered potency during intestinal infection. *PNAS*, **108**, 1645-1650 (2011).
24. Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20<sup>th</sup> informational supplement. M100-S20-U. Wayne, PA, USA (2010).
  25. Simpson, L.M., White, V.K., Zane, S.F., Oliver, J.D., Correlation between virulence and colony morphology in *Vibrio vulnificus*. *Infect. immun.*, **55**, 269-272 (1987).
  26. Wright, A.C., Simpson, L.M., Oliver, J.D., Role of iron in the pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Infect. immun.*, **34**, 503-507 (1981).
  27. Gray, L.D., Kreger, A.S., Purification and characterization of an extracellular cytolyisin produced by *Vibrio vulnificus*. *Infect. immun.*, **48**, 62-72 (1985).
  28. Gray, L.D., Kreger, A.S., Mouse skin damage caused by cytolyisin from *Vibrio vulnificus* and by *V. vulnificus* infection. *J. Infect Dis.*, **155**, 236-241 (1987).
  29. Gulig, P.A., Bourdage, K.L., Starks, A.M., Molecular pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *J. Microbiol.*, **43**, 118-131 (2005).
  30. Ju, H.M., Hwang, I.G., Woo, G.J., Kim, T.S., Choi, A.H., Identification of the *Vibrio vulnificus* *fexA* gene and evaluation of its influence on virulence. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **15**, 1337-1345 (2005).
  31. Helms, S.D., Oliver, J.D., Travis, J.C., Role of heme compounds and haptoglobin in *Vibrio vulnificus* pathogenicity. *Infect. immun.*, **45**, 345-349 (1984).
  32. Oliver, J.D., Wear, J.E., Thomas, M.B., Warner, M., Linder, K., Production of extracellular enzymes and cytotoxicity by *Vibrio vulnificus*. *Bacteriol.* **5**, 99-111 (1986).
  33. Ha, T.M., Heon, D.Y., Im, H.C., Yoon, Y.H., Shin, M.Y., Yoon, K.B., Kim, J.B., Antimicrobial activity of Maesil(*Prunus mume*) extract against *Vibrio vulnificus*. *J. Food Hyg. Saf.*, **32**, 163-169 (2017).
  34. Hwang, K.J., Young, I.J., Young, H.L., Kwang, J.L., Song, M.B., Ki, S.K., Biochemical characteristics and antimicrobial susceptibility patterns of *vibrio vulnificus* isolated from the environment of Korea in 2001. *J. Bacteriol. Virol.*, **33**, 285-291 (2003).