

광주지역 유통·판매 수산물에서 분리된 장염비브리오의 독소유전자 분포 및 항생제 내성 조사

정혜진* · 이민규 · 이향희 · 서시은 · 정소향 · 조배식 · 서정미
광주광역시보건환경연구원

Distribution of Toxin Genes and Antimicrobial Resistance of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Seafood in Gwangju

Hye Jin Jeong*, Min Gyou Lee, Hyang Hee Lee, Si Eun Seo, So Hyang Jeong, Bae Sik Cho, Jung Mi Seo
Health and Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju, Korea

(Received February 25, 2022/Revised March 16, 2022/Accepted March 23, 2022)

ABSTRACT - The purpose of this study is to investigate the distribution of toxin genes and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in Gwangju. A total of 335 seafood, including 163 shellfish, 97 fish, and 36 mollusk, were tested in this study. As a result, *V. parahaemolyticus* was detected in 123 (36.7%) of 335 seafood. The *tdh* gene was not detected in all strains, while the *trh* gene was detected in 3 strains (2.4%). According to antimicrobial susceptibility test, 116 strains (94.3%) represent resistance to ampicillin, and 1 strain (0.8%) represents resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole. However, all strains were sensitive to 9 antimicrobial agents, including amikacin, chloramphenicol, tetracycline, and more. Therefore, the risk of *V. parahaemolyticus* isolated from seafood in Gwangju is considered low, but continuous monitoring of *V. parahaemolyticus* in seafood is required.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Seafood, Toxin gene, Antimicrobial resistance

장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*)는 그람음성 호염성 간균으로 해양환경에 상재하는 세균이며, 오염된 어패류를 생식하거나 수산물의 불충분한 가열 섭취에 의하여 발생하는 식중독의 원인균이다^{1,2}). 장염비브리오는 해수온도가 15°C 이상인 하절기에 증식하여 식중독을 일으키는데, 주요 증상은 복통, 설사, 발열, 구토 등이 있으며 잠복기는 4-96시간이다^{3,4}). 식품의약품안전처 식중독 통계자료에 따르면 2016년부터 2020년까지 5년간 장염비브리오에 의한 식중독 발생건수는 50건, 환자 수는 855명이었고, 월별 발생현황을 보았을 때 여름철에 발생이 집중되어 있는 것으로 나타났다⁵). 또한 한국농촌경제연구원 식품수급표에 따르면 한국의 연간 국민 1인당 수산물 공급량은 지속

적으로 증가하는 추세를 보이고 있으며, 특히 수산물을 생식으로도 섭취하고 있어 수산물에 오염된 장염비브리오에 대한 지속적인 안전관리가 필요하다고 사료된다⁶).

장염비브리오의 주요 병원성 인자로는 내열성 용혈독(thermostable direct hemolysin, TDH) 및 내열성 용혈독 관련 용혈독(TDH-related hemolysin, TRH)이 있다^{3,7}). TDH는 Wagatsuma blood agar에서 β -hemolysis를 나타내는 Kanagawa phenomenon (KP) 용혈현상과 관련된 독소이며, 장염비브리오 식중독 환자로부터 분리된 균주에서 확인되는 독소이다^{3,8,9}). TRH는 KP 음성인 균주에서 확인된 용혈독으로 TDH와 유사한 용혈성을 나타내는 독소이며, 특히 *tdh* 유전자와 *trh* 유전자는 68% 유전적 상동성을 나타낸다고 보고되어 있다^{3,7,9,10}). 역학조사에 따르면 임상에서 분리된 장염비브리오의 경우 대부분 *tdh* 유전자 및 *trh* 유전자를 보유한 반면 자연 환경에서 분리된 균주는 0-6%만 *tdh* 유전자 및 *trh* 유전자를 보유하는 것으로 알려져 있다^{7,9,11}).

한편 전 세계적으로 항생제 사용량이 증가함에 따라 항생제에 내성을 나타내는 균주의 발생도 증가하고 있으며, 양식어류에서도 다양한 항생제에 내성을 나타내는 장염비

*Correspondence to: Hye Jin Jeong, Health and Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954, Korea
Tel: +82-062-613-6663
E-mail: hjjeong16@korea.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

브리오가 증가하는 추세를 보이고 있다^{12,13}). 또한 국가 항생제 사용 및 내성 모니터링 보고서를 통해 한국에서의 수산용 의약품 판매량이 2015년부터 2017년까지 꾸준히 증가하였음을 알 수 있다¹⁴). 이에 따라 항생제의 사용으로 인해 병원성 세균 중 내성균의 발생이 증가하고 있어 지속적인 모니터링이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 광주지역에 유통·판매되고 있는 수산물의 장염비브리오 오염 정도를 확인하고, 분리된 균주의 독소유전자 보유 및 항생제 내성을 조사하여 식중독 오염원 추적을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

Materials and Methods

시료 수집

2020년 1월부터 2020년 12월까지 총 27회에 걸쳐 광주광역시 내 마트, 수산시장 등에서 유통·판매되고 있는 수산물 총 335건을 구입하였으며, 시료는 구입 후 즉시 냉장 상태로 운반하여 4시간 이내에 실험하였다. 실험대상으로 한 수산물은 패류 163건, 어류 97건, 연체류 36건, 극피·척색류 26건, 갑각류 13건이었다.

장염비브리오 중균 및 분리배양

본 연구는 식중독 원인조사 시험법¹⁵)과 식품공전¹⁶)에 따라 실험하였다. 시료 25 g에 증균배지 alkaline peptone water (Oxoid, Basingstoke, UK) 225 mL를 가하여 균질기(ES/Masticator, IUL S.A, Barcelona, Spain)를 이용하여 균질화하고, 36°C에서 18-24시간 배양하였다. 배양 후 EZ1 Advanced XL (Qiagen, Hilden, Germany) 장비에 EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen)를 이용하여 유전자를 추출하고, 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) 장비에 PowerChek™ 20 Pathogen Multiplex Real-time PCR Kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea)를 이용하여 유전자 증폭 및 장염비브리오 유무를 확인하였다. PCR은 제조사 시험법에 따라 50°C에서 2분 후, 95°C에서 10분 반응시키고, 95°C 15초, 60°C 1분을 1 cycle로 하여 40 cycle 반복하여 실시하였다. 실험 결과 장염비브리오 유전자가 확인된 시료의 배양액을 CHROMagar™ Vibrio (CHROMagar Microbiology, Paris, France)에 접종하여 36°C에서 18-24시간 배양 후 전형적인 집락을 선별하여 1% NaCl이 첨가된 tryptone soy agar (TSA, Oxoid)에 계대 후 36°C에서 18-24시간 배양하였다. 배양한 균은 VITEK 2 COMPACT (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) 장비에 VITEK 2 GN card (bioMérieux)를 이용하여 생화학적 방법으로 최종 동정하였다. 최종 확인된 장염비브리오는 -70°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

장염비브리오 독소유전자 확인

분리 보관된 장염비브리오를 1% NaCl이 첨가된 TSA에

확산 도말하여 36°C에서 24시간 계대배양하였다. 순수분리한 장염비브리오 집락을 취하여 멸균증류수 1 mL에 적당량을 부유시켜 100°C에서 10분 처리한 후 13,000 rpm에서 3분간 원심분리한 상층액을 주형 DNA로 사용하였다. 7500 Fast Real-Time PCR System 장비에 PowerChek™ Vibrio parahaemolyticus Multiplex Real-time PCR Kit (Kogenebiotech)를 이용하여 유전자 증폭 및 유전적 특성을 분석하였다. PCR은 제조사 시험법에 따라 50°C에서 2분 후, 95°C에서 10분 반응시키고, 95°C 15초, 60°C 1분을 1 cycle로 하여 35 cycle 반복하여 실시하였다. 분석 결과는 Ct값 33이하에서 증폭이 일어났을 경우 독소유전자가 검출된 것으로 판정하였다.

장염비브리오 항생제 내성 확인

순수 분리한 장염비브리오를 1% NaCl이 첨가된 TSA에서 36°C, 18-24시간 배양하여 실험하였다. 장염비브리오 집락을 취하여 0.45% saline 3 mL에 부유시켜 MacFarland 0.6으로 조정하고, 조정한 액 145 µL를 0.45% saline 3 mL에 주입하여 균질화한 용액으로 VITEK 2 COMPACT 장비에 AST-N169 card (bioMérieux)를 이용하여 항생제 내성을 확인하였다.

조사한 항생제는 12종으로 ampicillin, ampicillin/sulbactam, amoxicillin/clavulanic acid, amikacin, cefazolin, cefoxitin, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole 이었다. 실험 결과는 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹⁷)에 따라 판정하였다.

Results and Discussion

장염비브리오 분리 현황 및 유전적 특성

수산물의 분기별 시료건수, 장염비브리오 검출건수 및 검출률은 Table 1에 나타내었다. 광주지역에서 유통·판매되고 있는 수산물 335건 중 총 123건(36.7%)에서 장염비브리오가 분리되었다. 분기별 시료건수 및 검출건수를 확인하였을 때, 1분기(1월-3월) 때 검출률 3.6%에서 2분기(4월-6월) 33.3%, 3분기(7월-9월) 64.0%까지 검출률이 증가하다가 4분기(10월-12월)에 38.9%로 검출률이 감소하는 경향을 나타내었다(Table 1). Lee 등¹⁸)은 가락시장, 노량진시장 및 대형유통점의 수산물에서 채취된 1,143건 시료의 장염비브리오 연중 분리율은 26.8%였고 월별 분리율은 1월 1.4%, 2, 3, 4월 각각 0.0%, 6월 35.8%, 7월 30.6%, 8월 53.6%, 9월 64.9%, 10월 45.8%, 11월 16.9%, 12월 15.2%라고 보고하여, 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다. Park 등¹⁹)은 경남 연안에서 2013-2016년 동안 채취한 해수 348개 시료 중 42개 시료(12.1%)에서 장염비브리오가 검출되었으며, 월별 검출률은 8월에 38.7%로 가장 높고 9월

Table 1. Quarterly variation of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in 2020

Quarter	No. of samples	No. of isolates	Detection rate (%)
Q1 (Jan to Mar)	83	3	3.6
Q2 (Apr to Jun)	105	35	33.3
Q3 (Jul to Sep)	111	71	64.0
Q4 (Oct to Dec)	36	14	38.9
Total	335	123	36.7

Table 2. Detection rate of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from various seafood

Classification	No. of samples	No. of isolates	Detection rate (%)
Shellfish	163	73	44.8
Fish	97	16	16.5
Mollusk	36	13	36.1
Echinoderm and chordata	26	11	42.3
Crustacean	13	10	76.9
Total	335	123	36.7

(35.5%) 및 7월(22.6%) 순이었으며, 특히 12월에서 다음해 5월까지의 전혀 검출되지 않았다고 보고하였다. 이는 1분기(1월-3월)에 장염비브리오의 검출률이 3.6%로 나타난 본 연구와는 다소 차이를 나타낸 결과이다. Jeong 등²⁰⁾에 따르면 장염비브리오의 분포와 수온, 염도 등 해양환경인자간의 상관관계를 조사하였을 때, 수온과의 상관계수가 0.916으로 매우 높은 양의 상관관계를 갖는 것이 확인되었다고 하였다. 따라서 최근 기후 변화에 따른 바닷물 온도 상승 등의 환경적 요인으로 인해 장염비브리오의 검출 시기가 빨라지고 검출건수도 증가하는 추세를 보이는 것으로 사료되며, 이에 따라 장염비브리오에 대한 연중 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 사료된다²¹⁾.

한편 수산물을 품목별로 구분한 시료건수, 장염비브리오 검출건수 및 검출률은 Table 2에 나타내었다. 건수가 가장 많은 품목은 패류로, 163건 중 73건에서 장염비브리오가 검출되어 검출률이 44.8%로 나타났다(Table 2). 어류는 97건 중 16건에서 장염비브리오가 검출되어 검출률이 16.5%로 나타나 수산물 품목 중 가장 낮은 검출률을 보였다(Table 2). 반면 갑각류는 13건 중 10건에서 장염비브리오가 검출되어 검출률이 76.9%로 수산물 품목 중 가장 높은 검출률을 보였다(Table 2). Park 등¹⁹⁾에 따르면 경남 연안에서 채취한 패류 366개 시료 중 80개 시료(21.9%)에서 장염비브리오가 검출되었다. Yoon 등²²⁾은 남해안 어패류 843개 시료 중 138개 시료(16.4%)에서 장염비브리오가 검출되었고, 조개에서 23.6%로 검출률이 가장 높았다고 보고하여 본 연구의 장염비브리오 검출률과 다소 차이를 보였다. 외국의 경우, 중국에서 Yang 등²³⁾이 491건의 수산물 중 장염비브리오 164균주를 분리하여 검출률은 33.4%이며, 수산물 품목별로는 어류 197건 중 58균주(29.4%), 패

류 102건 중 43균주(42.2%), 갑각류 120건 중 50균주(41.7%), 연체류 29건 중 7균주(24.1%), 해조류 43건 중 6균주(14.0%)가 분리되었다고 보고하였다. Wong 등²⁴⁾은 베트남, 홍콩 등 아시아 국가에서 대만으로 수입된 수산물을 조사한 결과 총 686건의 수산물 중 315건에서 장염비브리오가 검출되어 검출률은 45.9% 이었다고 보고한 바 있다. 특히 새우에서 75.8%, 게에서 73.3%로 다른 품목의 수산물에 비해 높은 검출률을 나타냈다고 보고하여 본 연구에서의 갑각류의 장염비브리오 검출률과 유사하였다.

독소유전자 확인

335건의 수산물에서 분리된 장염비브리오 123균주를 대상으로 real-time PCR을 이용하여 장염비브리오의 병원성 유전자인 *toxR* 유전자와 독소유전자인 *tdh* 유전자 및 *trh* 유전자의 보유여부를 확인하였고, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 독소유전자 보유여부를 확인한 결과 123균주 모두에서 *toxR* 유전자가 검출되었다(Table 3). *toxR* 유전자는 PCR을 이용한 장염비브리오의 검출 확인을 위한 특이 유전자로 보고되어 있어 본 연구에서 분리된 123균주 모두 장염비브리오인 것을 재확인하였다²⁵⁾. 독소유전자인 *tdh* 유전자는 모든 균주에서 검출되지 않았으며, *trh* 유전자는 3균주(2.4%)에서 검출되었다(Table 3). *trh* 유전자가 검출된 수산물은 7월에 구입한 바지락 1건, 8월에 구입한 새우 1건 및 11월에 구입한 굴 1건이었다(Table 3). 이전 연구들에 따르면 환자에서 분리된 장염비브리오에서 *tdh* 유전자 및 *trh* 유전자가 높은 비율로 검출되는 것과 달리 환경 및 수산물에서 분리된 장염비브리오에서는 검출되는 비율이 매우 낮은 것으로 보고되어 있다^{9,26)}. Park 등²⁷⁾에 따르면 2013년부터 2015년까지 남해안 패류양식장에서 채

Table 3. Distribution of toxin genes of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from various seafood

Classification	Toxin gene (%)		
	<i>toxR</i>	<i>tdh</i>	<i>trh</i>
Shellfish	73 (100.0)	0 (0.0)	2 (2.7)
Fish	16 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Mollusk	13 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Echinoderm and chordata	11 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Crustacean	10 (100.0)	0 (0.0)	1 (10.0)
Total	123 (100.0)	0 (0.0)	3 (2.4)

Table 4. Antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood

Antimicrobial agent	No. of isolates (%)		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Ampicillin	116 (94.3)	5 (4.1)	2 (1.6)
Ampicillin/sulbactam	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Amoxicillin/clavulanic acid	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Amikacin	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Cefazolin	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Cefoxitin	0 (0.0)	12 (9.8)	111 (90.2)
Chloramphenicol	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Ciprofloxacin	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Gentamicin	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Imipenem	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Tetracycline	0 (0.0)	0 (0.0)	123 (100.0)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	1 (0.8)	0 (0.0)	122 (99.2)

취한 패류에서 분리한 장염비브리오 84균주 중 *tdh* 유전자는 2균주(2.4%)에서, *tdh* 유전자는 8균주(9.5%)에서 검출되었다. Kim 등²⁸⁾은 2014년부터 2015년까지 채취한 양식 굴에서 분리한 장염비브리오 115균주 중 *tdh* 유전자를 보유한 균주는 없었고, *tdh* 유전자를 보유한 균주는 11균주(9.6%)로 나타났다고 보고하여, 본 연구 결과에 비해 다소 높은 보유율을 나타내었다. 한편, Robert-Pillot 등²⁹⁾에 따르면 아시아, 아프리카, 남아메리카에서 프랑스로 수입된 수산물에서 분리된 장염비브리오 130균주 중 *tdh* 유전자만 검출된 균주가 1균주(0.8%), *tdh* 유전자 및 *trh* 유전자가 같이 검출된 균주가 1균주(0.8%)로, 나머지 128균주에서는 *tdh* 유전자 및 *trh* 유전자가 모두 검출되지 않아 본 연구에서 분리된 장염비브리오의 독소유전자 보유율과 유사한 것을 확인할 수 있었다.

항생제 내성 특성

분리된 장염비브리오 123균주의 항생제 내성 실험 결과는 Table 4 및 Table 5에 나타내었다. VITEK 2 system을 이용하여 분리된 균주를 대상으로 항생제 12종에 대한 내성을 확인한 결과, ampicillin에 대해 내성을 나타낸 균주가 116균주(94.3%)로 나타났다(Table 4). Trimethoprim/

sulfamethoxazole에 내성이 있는 균주는 1균주(0.8%)였고, 이 균주는 ampicillin에도 내성을 나타내어 항생제 2종에 모두 내성을 나타낸 다제내성균으로 확인되었다(Table 4). Cefoxitin과 ampicillin에 중등도 내성을 나타낸 균주는 각각 12균주(9.8%), 5균주(4.1%)로 나타났다(Table 4). 이외에 chloramphenicol, imipenem 및 tetracycline 등 9종의 항생제에 대해서는 모든 균주가 감수성을 나타냈다(Table 4). 또한 수산물 품목별로 항생제 내성균주를 구분하여 보았을 때 어류 및 연체류에서 분리된 29균주 모두 ampicillin에 내성을 나타냈으며, trimethoprim/sulfamethoxazole에 내성을 나타낸 균주는 8월에 구입한 민어에서 분리된 균주임을 확인할 수 있었다(Table 5).

Lee 등¹⁸⁾은 어패류에서 분리된 장염비브리오가 ampicillin에 대하여 100% 내성을 나타냈으며, chloramphenicol, tetracycline 등에는 100% 감수성을 보였다고 보고하였다. Yu 등³⁰⁾은 굴에서 분리된 장염비브리오 균주 중 ampicillin에 대한 내성균 비율이 79.1%, trimethoprim/sulfamethoxazole에 대해서는 0.8%로 나타났으며, amoxicillin/clavulanic acid, amikacin 등에는 감수성을 나타냈다고 보고하였다. 한편, Ryu 등³¹⁾은 시판 어패류에서 분리된 장염비브리오

Table 5. Antimicrobial resistance of *V. parahaemolyticus* isolated from various seafood

Classification	No. of isolates	No. of resistance isolates (%)	
		Ampicillin	Trimethoprim/sulfamethoxazole
Shellfish	73	68 (93.2)	0 (0.0)
Fish	16	16 (100.0)	1 (6.25)
Mollusk	13	13 (100.0)	0 (0.0)
Echinoderm and chordata	11	10 (90.9)	0 (0.0)
Crustacean	10	9 (90.0)	0 (0.0)
Total	123	116 (94.3)	1 (0.8)

93주 모두가 2제 이상의 항생제에 내성을 나타내었으며, 특히 이 중 90주가 ampicillin을 포함한 2제 이상의 항생제에 내성을 나타내었다고 보고하였다. Lopatek 등³²⁾은 수산물에서 분리된 장염비브리오 중 58균주(55.8%)가 2종류 이상의 항생제에 내성을 나타내었으며, 이 중 48균주(46.2%)가 ampicillin과 streptomycin에 대한 내성을 나타냈다고 보고한 바 있다. 이에 본 연구에서는 2종류 이상의 항생제에 내성을 나타내는 균주가 1균주로 나타나 다제내성균의 비율이 매우 낮았으나, 이전 연구들에서 다제내성균의 비율이 비교적 높고 전 세계적으로 항생제 사용량 증가에 따른 항생제 내성균에 대한 주의가 필요하다는 기존 연구들을 고려하여 장염비브리오의 항생제 내성에 대한 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 사료된다^{12,13,33)}.

국문요약

본 연구에서는 광주광역시에 유통·판매되고 있는 수산물을 대상으로 식중독 원인균인 장염비브리오의 검출여부와 분리된 균주의 독소 특성 및 항생제 내성에 대하여 조사하였다. 패류 163건, 어류 97건 등을 포함하여 총 335건의 수산물 중 123건(36.7%)에서 장염비브리오가 검출되었다. 분리된 균주의 독소유전자 보유 여부를 확인한 결과 *tdh* 유전자는 모든 균주에서 검출되지 않았으며, *trh* 유전자는 패류 2건 및 갑각류 1건에서 분리된 3균주(2.4%)에서 검출되었다. 분리된 균주의 항생제 내성 실험 결과 116균주(94.3%)가 ampicillin에 대해 내성을 나타냈으며, ampicillin과 trimethoprim/sulfamethoxazole 2종류에 모두 내성을 나타낸 균주는 민어에서 분리된 1균주(0.8%)로 확인되었다. 이외에 amikacin, chloramphenicol 등을 포함한 9종의 항생제에 대해서는 모든 균주가 감수성을 나타낸 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구 결과 광주지역 유통·판매 수산물에서 분리된 장염비브리오의 독소유전자 보유 및 항생제 내성률은 비교적 낮으나, 환경적 요인에 의한 장염비브리오의 검출률 증가 및 항생제 내성균에 대한 주의가 필요함에 따라 수산물에 대한 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 사료된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interests.

ORCID

Hye Jin Jeong <https://orcid.org/0000-0002-0070-0731>
 Min Gyou Lee <https://orcid.org/0000-0002-4138-4261>
 Hyang Hee Lee <https://orcid.org/0000-0002-4791-7989>
 Si Eun Seo <https://orcid.org/0000-0001-9690-2698>
 So Hyang Jeong <https://orcid.org/0000-0001-9233-9391>
 Bae Sik Cho <https://orcid.org/0000-0002-1903-3254>
 Jung Mi Seo <https://orcid.org/0000-0002-6890-8061>

References

- Daniels, N.A., MacKinnon, L., Bishop, R., Altekruze, S., Ray, B., Hammond, R.M., Thompson, S., Wilson, S., Bean, N.H., Griffin, P.N., Slutsker, L., *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. *J. Infect. Dis.*, **181**, 1661-1666 (2000).
- Ham, H.J., Jin, Y.H., Jung, Y.T., Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in fishery products, sold at Garak wholesale market and serological characteristics of isolated strains. *J. Food Hyg. Saf.*, **17**, 152-156 (2002).
- Su, Y.C., Liu, C., *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. *Food Microbiol.*, **24**, 549-558 (2007).
- Cho, E.D., Kim, H.D., Park, K.S., Antimicrobial resistance and minimum inhibitory concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from seawater and commercial fisheries. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **52**, 587-595 (2019).
- Ministry of Food and Drug Safety, (2022, January 3). Food poisoning statistics. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=3724&menu_grp=MENU_NEW02
- Korea Rural Economic Institute, 2019. Food Balance Sheet. Korea Rural Economic Institute, Naju, Korea, pp. 24-33.
- Li, L., Meng, H., Gu, D., Li, Y., Jia, M., Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis. *Microbiol. Res.*, **222**, 43-51 (2019).

8. Yeung, P.M., Boor, K.J., Epidemiology, Pathogenesis, and prevention of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* infections. *Foodborne Pathog. Dis.*, **1**, 74-88 (2004).
9. Letchumanan, V., Chan, K.G., Lee, L.H., *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Front. Microbiol.*, **5**, 705 (2014).
10. Nishibuchi, M., Taniguchi, T., Misawa, T., Khaemaneelam, V., Honda, T., Miwatani, T., Cloning and nucleotide sequence of the gene (*trh*) encoding the hemolysin related to the thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect. Immun.*, **57**, 2691-2697 (1989).
11. Drake, S.L., DePaola, A., Jaykus, L.A., An Overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **6**, 120-144 (2007).
12. Kim, T.O., Eum, I.S., Jo, S.M., Kim, H.D., Park, K.S., Antimicrobial-resistance profiles and virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seawater in the Wando area. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **47**, 220-226 (2014).
13. Oh, E.G., Son, K.T., Yu, H., Lee, T.S., Lee H.J., Shin, S., Kwon, J.Y., Park K., Kim, J., Antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* strains isolated from farmed fish in Korea from 2005 through 2007. *J. Food Prot.*, **74**, 380-386 (2011).
14. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Animal and Plant Quarantine Agency, 2019. Monitoring of antimicrobial use and antimicrobial resistance. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Sejong, Korea, pp. 7-17.
15. Ministry of Food and Drug Safety, 2020. Detection method for foodborne pathogens investigation, Cheongju, Korea, pp. 11-34.
16. Ministry of Food and Drug Safety, 2020. Korea Food Code. Cheongju, Korea, pp. 263-323.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100-S28. Wayne, PA, USA, pp. 30-52.
18. Lee, H., Oh, Y.H., Choi, S.M., Park, S.G., Antibiotic susceptibility and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the seafood. *J. Environ. Health Sci.*, **33**, 16-20 (2007).
19. Park, K., Mok, J.S., Kwon, J.Y., Ryu, A.R., Shim, K.B., Seasonal and spatial variation of pathogenic *Vibrio* species isolated from seawater and shellfish off the Gyeongnam coast of Korea in 2013-2016. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **52**, 27-34 (2019).
20. Jeong, Y.I., Myung G.E., Choi, E.J., Soh, S.M., Park, G.J., Son, T.J., Distribution of pathogenic *Vibrios* in the aquatic environment adjacent to coastal areas of South Korea and analysis of the environmental factors affecting their occurrence. *J. Environ. Health Sci.*, **44**, 133-142 (2018).
21. Go, Y.J., Jang, J.S., Relationships of pathogenic vibrios and environmental factors affecting their occurrence in the seawater of Incheon coastal area. *Korean J. Food & Nutr.* **26**, 414-420 (2013).
22. Yoon, C.Y., Kang, K.J., Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in fishery products from the southwestern coast of Korea. *Food Sci. Biotechnol.*, **15**, 578-581 (2006).
23. Yang, Z.Q., Jiao, X.A., Zhou, X.H., Cao, G.X., Fang, W.M., Gu, R.X., Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fresh, low-temperature preserved, dried, and salted seafood products in two coastal areas of eastern China. *Int. J. Food Microbiol.*, **125**, 279-285 (2008).
24. Wong, H.C., Chen, M.C., Liu, S.H., Liu, D.P., Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *Int. J. Food Microbiol.*, **52**, 181-188 (1999).
25. Kim, W.B., Okuda, J., Matsumoto, C., Takahashi, N., Hashimoto, S., Nishibuchi, M., Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 1173-1177 (1999).
26. Honda, T., Ni, Y., Miwatani, T., Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative *Vibrio parahaemolyticus* and related to the thermostable direct hemolysin. *Infect. Immun.*, **56**, 961-965 (1988).
27. Park, Y.S., Park, K., Kwon, J.Y., Yu, H.S., Lee, H.J., Kim, J.H., Lee, T.S., Kim, P.H., Antimicrobial resistance and distribution of virulence factors of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shellfish farms on the southern coast of Korea. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **49**, 460-466 (2016).
28. Kim, S., An, S., Park, B., Oh, E.G., Song, K.C., Wan, K.J., Yu, H., Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oyster *Crassostrea gigas*. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **49**, 116-123 (2016).
29. Robert-Pillot, A., Guérolé, A., Lesne, J., Delesmont, R., Fournier, J.M., Quilici, M.L., Occurrence of the *tdh* and *trh* genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *Int. J. Food Microbiol.*, **91**, 319-325 (2004).
30. Yu, H., Oh, E.G., Shin, S.B., Park, Y.S., Lee, H.J., Kim, J.H., Song, K.C., Distribution and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Korean shellfish. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **47**, 508-515 (2014).
31. Ryu, S.H., Hwang, Y.O., Park, S.G., Lee, Y.K., Antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from commercial marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **42**, 508-513 (2010).
32. Lopatek, M., Wiczorek, K., Osek, J., Antimicrobial resistance, virulence factors, and genetic profiles of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood. *Appl. Environ. Microbiol.*, **84**, e00537-18 (2018).
33. Odeyemi, O.A., Stratev, D., Occurrence of antimicrobial resistant or pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. A mini review. *Revue Méd. Vét.*, **167**, 93-98 (2016).