

가덕도 연안 해수에서 *Vibrio vulnificus*의 분포 및 분리균주의 병원성 유전자 특성

오희경 · 정희진¹ · 김영목^{1*}

부경대학교 4차산업융합바이오닉스공학과, ¹부경대학교 식품공학과

Distribution and Molecular Characteristics of *Vibrio vulnificus* Isolated from Seawater Along the Gadeok Island Coast

Hee-Kyung Oh, Hee-Jin Jeong¹ and Young-Mog Kim^{1*}

Department of Industry 4.0 Convergence Bionics Engineering, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Vibrio vulnificus is a Gram-negative marine bacterium known to cause septicemia. This study was conducted to investigate the distribution of *V. vulnificus* along the coast of Gadeok Island in Korea and to determine the molecular characteristics of isolated strains sampled between March and November 2019 from seawater. The strains were mostly detected between July and September, when the average water temperature and average salinity were 22.2-26.2°C and 14.2-29.9 psu, respectively. *V. vulnificus* was not detected in seawater below 15°C. In September, the highest population of *V. vulnificus* was observed at 2,100 MPN (most probable number)/100 mL, attributable to decreased salinity from heavy rains. In addition, the detection rate of *V. vulnificus* was higher at the sampling station near the Nakdong River. Virulence-related genes were also identified among the isolates, such as *vvhA* (97.1%), *viuB* (44.1%), and *vcgC* (57.4%). In particular, *viuB* and *vcgC* were only observed in *V. vulnificus* isolated from June to September, when the detection rate was high and water temperature was above 20°C, suggesting the role of seasonal characteristics.

Keywords: *Vibrio vulnificus*, Virulence gene, *vvhA*, *viuB*, *vcgC*

*Vibrio vulnificus*는 해양에 서식하며 전세계적으로 해수, 뱀이나 어패류에서 검출되는 그람 음성 간균이다(Tamplin et al., 1982; DePaola et al., 1994; Nascimento et al., 2001; Baffone et al., 2006; Lee et al., 2019; Park et al., 2019). 전 세계적으로 수온이 9°C에서 31°C 사이의 해안가 또는 해수와 담수가 만나는 하구에서 대개 발견되고, 18°C 이상일 때 잘 증식하며 10°C 이하에서는 개체수를 측정할 수 없는 수준으로 감소한다. 염분은 15-25 psu에서 잘 증식하고 30 psu 이상에는 개체가 감소하는 것으로 보고되어 있다(Kaspar and Tamplin, 1993; Motes et al., 1998; Strom and Paranjpye, 2000). 비브리오패혈증은 이 균에 의한 감염병으로 균에 오염된 어패류 등 해산물을 날로 또는 덜 조리된 상태로 섭취하거나 피부의 상처 부위가 해수에 노출되면 감염되어 위장염과 원발성 패혈증(primary septicemia) 또는 창상 감염(wound infection)이 일어나며, 원발성 패혈증의 경우 치명률이 50% 이상에 이른다(Hlady and Klontz, 1996; Shapiro et al., 1998; Oliver, 2005a). *V. vulnificus*는 생물형(biotype)에 따라 분류할 때 3가지 유형이 있으며 1형은 가장 보편적이고 전 세계 해수에서 발견되며, 50% 이상의 치명률을 나타내는 원발성 패혈증을 포함하여 이 균에 의한 질환의 대부분을 차지한다. 2형은 유럽의 장어 양식장 해수에서 발견되는 형으로 주로 장어에 심각한 병원성이 있으나 드물게 사람에게 상처 감염을 유발한다. 3형의 경우 이스라엘 어류 양식장의 양식수와 관련 있으며 절단이 요구되는 심각한 연조직 감염을 일으키지만 치명률은 8% 미만으로 알려져 있다(Horseman and Surani, 2011). 유전형(genotype)은 임상 분리균주와 환경 분리균주에서 확인되는 유전자 서열에 근거하여 잠재적

미아) 또는 창상 감염(wound infection)이 일어나며, 원발성 패혈증의 경우 치명률이 50% 이상에 이른다(Hlady and Klontz, 1996; Shapiro et al., 1998; Oliver, 2005a). *V. vulnificus*는 생물형(biotype)에 따라 분류할 때 3가지 유형이 있으며 1형은 가장 보편적이고 전 세계 해수에서 발견되며, 50% 이상의 치명률을 나타내는 원발성 패혈증을 포함하여 이 균에 의한 질환의 대부분을 차지한다. 2형은 유럽의 장어 양식장 해수에서 발견되는 형으로 주로 장어에 심각한 병원성이 있으나 드물게 사람에게 상처 감염을 유발한다. 3형의 경우 이스라엘 어류 양식장의 양식수와 관련 있으며 절단이 요구되는 심각한 연조직 감염을 일으키지만 치명률은 8% 미만으로 알려져 있다(Horseman and Surani, 2011). 유전형(genotype)은 임상 분리균주와 환경 분리균주에서 확인되는 유전자 서열에 근거하여 잠재적

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5832 Fax: +82. 51. 629. 5824

E-mail address: ymkim@pknu.ac.kr



This is an Open Access article 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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0688>

Korean J Fish Aquat Sci 53(5), 688-693, October 2020

Received 22 May 2020; Revised 26 June 2020; Accepted 19 August 2020

저자 직위: 오희경(대학원생), 정희진(대학원생), 김영목(교수)

인 악성 *V. vulnificus*에 대한 환경에서의 분포를 파악하는데 이용된다. 16S rRNA 서열에 근거하여 임상 유래 유전자를 가진 B형과 환경 유래의 A형이 있고, 독성관련유전자(virulence-correlated gene) 기준으로 임상 유래의 C형과 환경 유래의 E형이 있다(Rosche et al., 2005; Jones and Oliver, 2009; Han and Ge, 2010). 우리나라에서 비브리오패혈증은 2000년에 감염병으로 지정되어 매년 100명 미만의 환자가 신고되고 있고, 대개 6-7월 초에 첫 환자 발생이 보고되었으며, 주로 오염된 어패류 섭취를 통해 발생하고 있다. 사망 통계 자료가 있는 2011년부터 2018년까지 모두 418명이 감염되어 203명이 사망하였고, 지역별 누적사망수는 경기 35명, 경남 26명, 전남 25명, 부산 23명, 서울 22명, 인천 18명, 충남 16명 등 서해안과 남해안 지역이 동해안 지역보다 높았다(KCDC, 2018a). 이처럼 매년 *V. vulnificus* 감염에 의한 환자와 사망자가 지속적으로 발생하고 있어 *V. vulnificus* 감염관리를 위한 지속적인 모니터링과 안전관리가 필요하다. 하지만, *V. vulnificus* 감염관리를 위한 연구는 미미하여 국내 환경 중에서 *V. vulnificus*의 검출 현황 및 분포를 조사하고 분리된 균주들의 병원성 관련 유전자 특성을 분석하고자 진행 하였다. *V. vulnificus* 균주 분리를 위한 모델 해역으로 선정된 가덕도는 낙동강 하구 아래 위치하고 있으며 섬동부 연안으로 낙동강 본류와 서낙동강이 넓은 면적에 걸쳐 유입되고 있다. 이 지역은 굴 중요생산과 물김 및 개량조개 양식이 주를 이루고, 가덕도 동부 전역에 걸쳐 갯바위 낚시 활동이 많이 이루어지고 있다. 낙동강은 우리나라에서 두번째로 큰 강으로 하구 인근 연안 해수의 염분 농도 폭이 넓고, *V. vulnificus*의 생육에 유리한 조건이 조성될 것으로 추측되나 이 지역의 *V. vulnificus* 출현 등에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이에 가덕도 해역에서 *V. vulnificus*의 검출 현황 및 분포 정도를 조사하고 분리균의 병원성 관련 유전자 특성을 살펴보았다.

재료 및 방법

시료 채취

실험에 사용된 해수 시료는 낙동강 유입이 있는 가덕도 동부

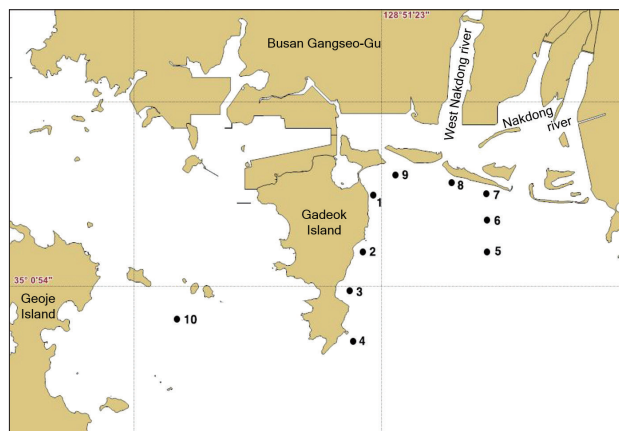


Fig. 1. Sampling stations of sea water at Gadeok Island coast in Korea.

연안에 설정된 지점 9개소와 담수 유입이 상대적으로 적은 가덕도 서부 연안 1개소 지점에서 매일 채취하여 사용하였다(Fig. 1). 멸균된 채수병에 250 mL의 해수를 채취하여 7-10°C를 유지하면서 실험실로 운반 후 즉시 실험에 사용하였다. 해수의 수온, 염분 및 pH는 YSI 1030 (YSI Inc, Yellow Springs, OH, USA)를 이용하여 시료 채취시 현장에서 측정하였다.

*V. vulnificus*의 분리 및 정량

해수 시료 중의 *V. vulnificus* 정량은 미국 Food and Drug Administration (FDA)의 Bacteriological Analytical Manual (USFDA, 2018a)을 응용하여 3 tube MPN (most probable number)법으로 실시하였다. 2%의 NaCl을 함유한 2배 농도의 alkaline peptone water (APW, pH 8.5) 3개의 시험관에 별도의 전처리를 하지 않은 해수를 10 mL씩 접종하고, 1배 농도의 APW에 해수 1 및 0.1 mL를 단계별로 접종하였다. 필요에 따라 phosphate buffered saline (USFDA, 2018b)으로 십진계열 희석하여 100배, 1,000배 희석액을 만들어 1 mL씩 접종하고 35°C에서 18-24시간 정치 배양하였다. APW 배양 양성관에 대

Table 1. Primers used for PCR

Target gene		Primer sequences (5'-3')	Amplicon size (bp)	Reference
VV2055918	F	CAGCCGGACGTCGTCATTTTG	484	Kim et al., 2015
	R	ATGAGTAAGCGTCCGACGCGT		
vvhA	F	TTCCAACCTCAAACCGAACTATGAC	205	Brasher et al., 1998
	R	ATTCCAGTCGATGCGAATACGTTG		
viuB	F	GGTTGGGCACTAAAGGCAGATATA	504	Panicker et al., 2004
	R	CGGCAGTGGACTAATACGCAGC		
vcgC	F	AGCTGCCGATAGCGATCT	278	Rosche et al., 2005
	R	CGCTTAGGATGATCGGTG		

PCR, polymerase chain reaction.

해 CHROMagar™Vibrio plate (CHROMagar, Paris, France)에 희석하고 37°C에서 24시간 배양 후 *V. vulnificus*로 추정되는 파란색 집락을 PCR (polymerase chain reaction) 분석한 결과 양성에 대하여 최확수표(most probable number, MPN)를 이용하여 100 mL당 MPN값으로 나타내었다. 이후 PCR 양성 균주는 TCBS (thiosulfate citrate bile salts sucrose) agar plate (BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA)에 희석하고 35°C 18-24 시간 배양하여 집락을 확인하고, Tryptic soy broth (2% NaCl)에 접종 배양하여 추출(Genomic DNA extraction kit; Bioneer, Daejeon, Korea)한 DNA (deoxyribonucleic acid)를 주형으로 PCR 반응을 실시하여 병원성 관련 유전자(*vvhA*, *viuB* 및 *vcgC*) 특성을 확인하였다.

PCR 조건

V. vulnificus 균수의 정량을 위해 사용된 primer와 PCR 조건은 Kim et al. (2015)에 따라 수행하였다. *V. vulnificus*의 특이 primer (species specific primer)를 사용하였고(Table 1), PCR 조건은 94°C에서 5분간 열변성(denaturation) 후, 94°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 30초간 순환 반응(annealing)을 25회 실시하고, 최종적으로 72°C에서 10분간 신장 반응(elongation)을 수행하였다. 병원성 관련 인자 특성을 확인하기 위한 PCR 조건으로 *vvhA*와 *viuB*는 94°C에서 3분간 열 변성 후, 94°C에서 1분, 65°C에서 1분, 72°C에서 1분간 30회 순환 반응 실시 후, 72°C에서 5분간 신장 반응을 수행하였다(Panicker et al., 2004). *vcgC*의 경우 94°C에서 5분간 열 변성, 94°C에서 40초, 56°C에서 40초, 72°C에서 1분간 35회 순환 반응 실시 후, 72°C에서 7분간 신장 반응을 수행하였다. 증폭된 DNA 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하고 green star staining solution으로 염색하여 UV Transilluminator (DAIHAN Scientific, Daejeon, Korea)로 확인하였다.

결과 및 고찰

가덕도 동부 연안 해수의 이화학적 특성

2019년 1월부터 12월까지 낙동강과 가까운 가덕도 동부 연안의 9개 지점과 담수 유입이 상대적으로 적은 가덕도 서부 연안의 1개 지점 등 모두 10개 지점에서 월 1회 채취하였다.

일반 수질 조사결과 월별 평균 수온은 9.7-26.2°C로 8월이 가장 높았고, 1월이 가장 낮았다. 월별 평균 염분은 14.2-33.8 practical salinity units (psu)로 3월이 가장 높았고 9월이 가장 낮았으며, 하계인 7, 8 및 9월이 23.7±3.68, 29.9±2.06 및 14.2±0.46 psu로 다른 계절보다 낮았다(Fig. 2). 평균 pH는 3월이 8.33으로 가장 높았고 월별 유의차는 크지 않았으나 9월이 7.99±0.10으로 가장 낮았다(자료미제시). 9월은 태풍으로 인한 150 mm 이상의 강우에 의해 다량의 낙동강 하천수가 유입되어 낮은 염분과 pH를 초래한 것으로 추정된다. 용존 산소

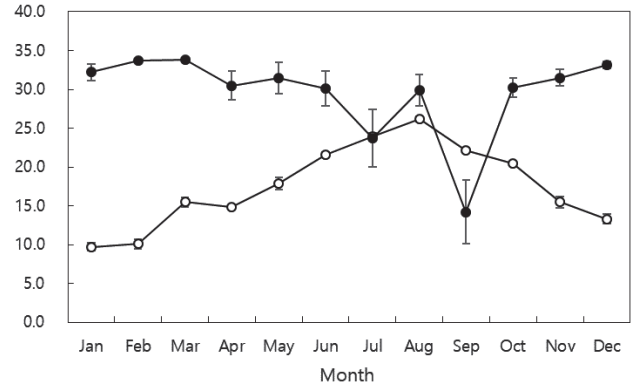


Fig. 2. Temperature and salinity of seawater collected at Gadeok Island coast in 2019. ○, temperature (°C); ●, salinity (psu).

(dissolved oxygen, DO)는 월별 평균값이 6.84-10.78 mg/L 범위였다(자료미제시). 조사 지점별 측정값은 수온과 pH의 경우 평균 17.2-17.8°C와 8.13-8.19로 유의차가 크지 않았으나(자료 미제시) 염분의 경우 가덕도 동부 9개 지점이 평균 28.1-30.5 psu로 가덕도 서부 10번 지점의 32.4 psu보다 낮았고, 낙동강 본류와 가까운 6번과 7번 지점은 28.1±6.87과 28.4±6.90으로 다른 조사지점보다 더 낮았다(Table 3).

*V. vulnificus*의 검출

2019년 가덕도 연안 10개 지점에서 매월 채취한 총 120개 해수 시료에서 확인된 *V. vulnificus*의 검출은 Table 2에 나타내었다. 월별로 3월과 6-11월에 3.6-2,100 MPN/100 mL 범위에서 검출되었고, 1, 2, 4, 5 및 12월은 검출되지 않았다. 검출율은 6월부터 40%로 증가하여 하계인 7-9월은 검출율이 80-100%이었는데 이 때 수온 및 염분이 평균 22.2-26.2°C 및 14.2-29.9 psu로 다른 조사일 보다 수온은 높고, 염분은 낮았다. 특히 9월은 모든 조사지점에서 검출되었고 그 수치도 100-2,100 MPN/100 mL로 큰 폭으로 증가하였는데, 이 때 평균 염분은 14.2±4.10 psu로 태풍에 의한 많은 비로 인해 낙동강 하천수가 다량 유입되어 *V. vulnificus*의 수치가 크게 증가한 것으로 판단된다. 8월은 평균 수온이 26.2°C로 7월과 9월보다 높았고, 염분도 평균 29.9 psu로 7월 및 9월의 평균 염분 23.7 psu 및 14.2 psu보다 높았으며 검출율은 7월과 9월보다 낮았다. Motes et al. (1998)은 *V. vulnificus*의 개체수가 수온 26°C까지는 증가하고 이후 30까지는 높은 수준에서 정지하며, 15-25 psu의 염분에서 높은 수준으로 검출된다고 하였고, Parvathi et al. (2004)은 열대성 하구에서 *V. vulnificus*의 밀도가 수온보다 염분에 의해 더 조절된다고 보고한 바 있다. 본 연구 결과를 살펴보면 일정 수준 이상의 수온에서는 균의 생육에 염분이 더 큰 영향을 미치는 것으로 평가된다. 검출율이 10-20%이었던 3, 10 및 11월은 평균 수온이 15.2-20.5°C이었고, 그 외 검출 한계 미만으로 나타난 조사 월은 평균 수온이 15°C 미만 나타났다. 이는 수

Table 2. Monthly detection of *Vibrio vulnificus* from seawater collected at Gadeok Island coast

Month	No. of positive (%)	MPN/100mL	No. of samples
Jan	0 (0.0)	<3.0-3.0	10
Feb	0 (0.0)	<3.0-3.0	10
Mar	1 (10.0)	<3.0-3.6	10
Apr	0 (0.0)	<3.0-3.0	10
May	0 (0.0)	<3.0-3.0	10
Jun	4 (40.0)	<3.0-210	10
Jul	9 (90.0)	<3.0-23	10
Aug	8 (80.0)	<3.0-21	10
Sep	10 (100.0)	30-2,100	10
Oct	2 (20.0)	<3.0-3.6	10
Nov	1 (10.0)	<3.0-3.6	10
Dec	0 (0.0)	<3.0-3.0	10
Total	35 (29.2)	<3.0-2,100	120

Table 3. Relationship of *Vibrio vulnificus* detection from seawater samples and salinity at Gadeok Island coast according to sampling station

Sample station	Salinity (psu)	No. of positive (%)	MPN/100mL	No. of samples
1	28.8±5.30	5 (41.7)	<3.0-2,100	12
2	28.9±1.73	3 (25.0)	<3.0-1,200	12
3	29.3±1.73	3 (25.0)	<3.0-640	12
4	30.5±5.68	3 (25.0)	<3.0-430	12
5	29.5±5.96	4 (33.3)	<3.0-750	12
6	28.1±6.87	6 (50.0)	<3.0-210	12
7	28.4±6.90	4 (33.3)	<3.0-230	12
8	29.6±4.26	3 (25.0)	<3.0-200	12
9	28.9±5.85	3 (25.0)	<3.0-390	12
10	32.4±3.03	1 (8.3)	<3.0-30	12

온 15°C 이하에서는 해수와 패류에서 *V. vulnificus*의 검출 한계 이하 이었다는 보고와 유사하였다(Lee et al., 2019). 한편 우리나라에서 *V. vulnificus*의 검출은 주로 6월부터 11월에 검출

되고 동계에는 검출율은 낮으나 보고되는 사례가 있으며 최근에는 연안 해수에서 1월과 2월에도 검출되고 있다(Park et al., 2019; KCDC, 2020).

조사 지점별 *V. vulnificus*의 검출율은 Table 3에 나타내었다. 가덕도 동부 연안 9개 지점에서의 검출율은 25.0-50.0%로 평균 염분은 28.1-30.5 psu이었고, 시료의 8.3%가 검출된 가덕도 서부 10번 지점의 경우 평균 염분이 32.4 psu로 나타나 30-34 psu에서 개체수가 감소한다는 보고와 유사하였다(Motes and DePaola, 1996; Motes et al., 1998). 특히 낙동강 유입 지점과 가까운 지점의 검출율이 더 높았고, 평균 염분은 상대적으로 낮아 염분이 *V. vulnificus*의 생육에 영향을 미쳤음을 알 수 있다.

분리균의 특성

2019년 1월부터 12월까지 매월 채취한 시료에서 분리한 *V. vulnificus*에 대하여 확인한 병원성 관련 유전자 특징은 Table 4에 나타내었다. 3개 시험관법(3 tube MPN)으로 최소 3단계의 십진계열 희석으로 접종한 APW 배양결과 양성관에 대하여 CHROMagar™*Vibrio* plate에 희석한 후 파란색을 띠는 집락을 APW 양성관 당 하나 또는 둘 이상 선택하였다. PCR 결과 양성인 균주는 TCBS agar plate에서 성상을 확인하고 이후 *vvhA*, *viuB* 및 *vcgC*의 병원성 관련 유전자에 대한 PCR 분석을 실시하였다. 그 결과 동일한 지점에서 분리된 균주 사이에 집락형태 및 병원성 관련 유전자 특성 결과가 같은 경우는 동일 균주가 중복 분리된 것으로 간주하여 제외하였고, 최종적으로 채취지점 기준에서 서로 다른 특성을 보이는 균주는 총 68균주로 확인되었다.

*V. vulnificus*는 TCBS agar plate에서 전형적으로 녹색 집락을 형성하는 sucrose 분해 음성이지만 일부는 sucrose 분해하는 것으로 보고되고 있다(Oliver, 2005b). Chromagarvibrio medium은 β-galactosidase activity를 기반으로 하여 병원성 vibrio 균을 분리하므로 sucrose 분해 및 비분해 *V. vulnificus*를 모두 분리할 수 있다(Monget and Robichon, 2011). 분리한 총 68균주 중 TCBS agar plate에서 녹색 집락을 나타내는 sucrose 비분해 균주는 57균주(83.8%)이었고, 11균주(16.2%)는 노란색 집락의 sucrose 분해균주이었다. 이는 *V. vulnificus*의 15%는 sucrose 양성을 나타낸다는 기존 연구결과와 국내에서 분리한 임상 균주 중 16.7%가 sucrose 분해 양성이었다는 보고와 유사

Table 4. Characteristics of virulence genes in *Vibrio vulnificus* isolated from seawater at Gadeok Island coast by month in 2019

Virulence genes	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total
<i>vvhA</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)	16 (100.0)	15 (93.8)	20 (95.2)	2 (100.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	66 (97.1)
<i>viuB</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (45.5)	5 (31.3)	11 (68.8)	9 (42.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	30 (44.1)
<i>vcgC</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (72.7)	7 (43.8)	13 (81.3)	11 (52.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	39 (57.4)
No. of isolation	0	0	1	0	0	11	16	16	21	2	1	0	68

한 수치로 확인되었다(Oliver, 2005b; Kim et al., 2006).

병원성 관련 유전자는 병원성 요인으로 작용할 수 있는 인자 중 *V. vulnificus*에 특이적인 *vvhA*, *viuB* 및 *vcgC*에 대하여 분석하였다. *vvhA*는 *V. vulnificus*의 hemolysin/cytolysin 유전자이다. 철 흡수 관련 유전자는 *hut*, *vct*, *vib* 등 여러가지가 있으나 *viuB*는 *V. vulnificus*가 생산하는 ferric vibnibactin receptor로서 독력이 강한 균주는 대체로 많은 vibnibactin을 생산하며 철이 결핍된 환경에서 균이 증식하는데 가장 큰 영향을 미친다고 보고되어 있다(Shin, 2013; Chung et al., 2016). *vcgC*는 해수 분리균으로부터 사람에게 잠정적으로 병원성 균으로 작용할 수 있는 임상 균주를 추정하기 위하여 분석하였다. PCR 분석 결과 97.1%인 66균주에서 *vvhA*가 확인되었다. *viuB*는 30 균주(44.1%)가 양성되었고, *vcgC*는 39균주(57.4%)에서 확인되었다. 분리균주로부터 *vvhA*만 확인된 균주는 27균주(39.7%)이었고, *vvhA*, *viuB* 및 *vcgC*가 모두 검출된 균주의 경우도 27균주(39.7%)이었다. 그 외는 *vvhA*와 *viuB*, *vvhA*와 *vcgC* 등 일부 유전자를 가진 것으로 확인되었다. *viuB*와 *vcgC*는 6월부터 9월까지 검출되어 평균 수온이 20°C 이상으로 상승하고 *V. vulnificus*의 검출율이 높은 달과 기간이 일치하였다. Han et al. (2009)은 clinical genotype (*vcgC*)이 *viuB*의 존재와 관련 있으며, 따뜻한 달에 더 많이 검출된다고 보고한 바 있다. Çam et al. (2019)은 Galveston bay의 *V. vulnificus* 연간조사에서 16S rRNA A형에서 16S rRNA B형으로 우세한 형이 바뀌는 계절적 변화를 확인하였고, *vcgC*와 16S rRNA B형이 서로 강한 상관관계가 있다고 하였다. 감염병 감시연보(KCDC, 2018b)에 의하면 우리나라에서 발생한 비브리오패혈증 환자는 주로 6월부터 시작하여 11월까지 확인되고 특히 7, 8, 9 및 10월의 발생률이 높은 것으로 확인된다. 우리 연구결과와 비교해보면 수온이 20°C 이상인 6월부터 *V. vulnificus*가 증가하는 동시에 병원성 관련 유전자를 가진 균주의 비율이 높아 패혈증 환자가 발생하는 것으로 추정할 수 있다.

가덕도 동부 연안은 낙동강 유입으로 *V. vulnificus*의 생육에 좋은 여건을 제공하고 수온 및 염분 등 환경조건이 충족될 경우 급증하는 경향이 확인되며, 검출율이 증가하는 계절에 잠재적인 병원성 균주의 비율이 높게 확인되었다. 가덕도는 낙동강 하구 연안의 위생학적 상태와 인근 연안에 영향 요인으로 작용할 수 있는 만큼 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 2020년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(수산 환경 및 수산물 중 미생물학적 위해요소 현장형 진단시스템 개발).

References

Baffone W, Tarsi R, Pane L, Campana R, Repetto B, Mariot-

tini GL and Pruzzo C. 2006. Detection of free-living and plankton-bound vibrios in coastal waters of the Adriatic Sea (Italy) and study of their pathogenicity-associated properties. *Environ Microbiol* 8, 1299-1305. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01011.x>.

Brasher CW, DePaola A, Jones DD and Bej AK. 1998. Detection of microbial pathogens in shellfish with multiplex PCR. *Curr Microbiol* 37, 101-107. <https://doi.org/10.1007/s002849900346>.

Çam S, Brinkmeyer R and Schwarz JR. 2019. Quantitative PCR enumeration of *vcgC* and 16S rRNA type A and B genes as virulence indicators for environmental and clinical strains of *Vibrio vulnificus* in Galveston bay oysters. *Can J Microbiol* 65, 613-621. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0399>.

Chung HY, Kim YT, Kim SY, Na EJ, Ku HJ, Lee KH, Heo ST, Ryu SR, Kim HB, Choi SH and Lee JH. 2016. Complete genome sequence of *Vibrio vulnificus* FORC_017 isolated from a patient with a hemorrhagic rash after consuming raw dotted gizzard shad. *Gut Pathog* 8, 1-6. <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0104-6>.

DePaola A, Capers GM and Alexander D. 1994. Densities of *Vibrio vulnificus* in the intestines of fish from the U.S. Gulf Coast. *Appl Environ Microbiol* 60, 984-988. <https://doi.org/10.1128/aem.60.3.984-988.1994>.

Han F and Ge B. 2010. Multiplex PCR assays for simultaneous detection and characterization of *Vibrio vulnificus* strains. *Lett Appl Microbiol* 51, 234-240. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02887.x>.

Han F, Pu S, Hou A and Ge B. 2009. Characterization of clinical and environmental types of *Vibrio vulnificus* isolates from Louisiana oysters. *Foodborne Pathog Dis* 6, 1251-1258. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0343>.

Hlady WG and Klontz KC. 1996. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *J Infect Dis* 173, 1176-1183. <https://doi.org/10.1093/infdis/173.5.1176>.

Horseman MA and Surani S. 2011. A comprehensive review of *Vibrio vulnificus*: an important cause of severe sepsis and skin and soft-tissue infection. *Int J Infect Dis* 15, e157-e166. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010.11.003>.

Jones MK and Oliver JD. 2009. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infect Immun* 77, 1723-1733. <https://doi.org/10.1128/IAI.01046-08>.

Kaspar CW and Tamplin ML. 1993. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Appl Environ Microbiol* 59, 2425-2429. <https://doi.org/10.1128/AEM.59.8.2425-2429.1993>.

KCDC (Korean Centers for Disease Control and Prevention). 2020. Infectious disease portal. Retrieved from <http://www.cdc.go.kr/npt/biz/npp/portal/nppVbStatsMain.do> on Apr 3, 2020.

KCDC (Korean Centers for Disease Control and Prevention). 2018a. Reported cases of *Vibrio vulnificus* sepsis by year

- and province. In: Infectious Disease Surveillance Yearbook, 2018. KCDC, Cheongju, Korea, 98.
- KCDC (Korean Centers for Disease Control and Prevention). 2018b. Reported cases of *Vibrio vulnificus* sepsis by year and month. In: Infectious Disease Surveillance Yearbook, 2018. KCDC, Cheongju, Korea, 184.
- Kim HJ, Ryu JO, Lee SY, Kim ES and Kim HY. 2015. Multiplex PCR for detection of the *Vibrio* genus and five pathogenic *Vibrio* species with primer sets designed using comparative genomics. BMC Microbiol 15, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0577-3>.
- Kim SM, So HA, Song KM, Lee YY, Lim CW, Lee JH, So HS, Kim JK, Park RK and Park SD. 2006. Comparison of biological and genetic characteristics between sucrose-fermenting and sucrose-nonfermenting *Vibrio vulnificus* isolates. J Bacteriol Virol 36, 221-228. <https://doi.org/10.4167/jbv.2006.36.4.221>.
- Lee DS, Shin HY, Park KS and Shin IS. 2019. Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish at Gomso Bay. Korean J Fish Aquat Sci 52, 114-120. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0114>.
- Monget D and Robichon D. 2011. Culture medium for detecting and identifying *Vibrio* bacteria. US7892783B2. U.S.A.
- Motes ML, DePaola A, Cook DW, Veazey JE, Hunsucker JC, Garthright WE, Blodgett RJ and Chirtel SJ. 1998. Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic Coast oysters *Crassostrea virginica*. Appl Environ Microbiol 64, 1459-1465. <https://doi.org/10.1128/aem.64.4.1459-1465.1998>.
- Motes ML and DePaola A. 1996. Offshore suspension relaying to reduce levels of *Vibrio vulnificus* in oysters *Crassostrea virginica*. Appl Environ Microbiol 62, 3875-3877. <https://doi.org/10.1128/aem.62.10.3875-3877.1996>.
- Nascimento SMM do, Vieira RHS dos F, Theophilo GND, Rodrigues D dos P and Viera GHF. 2001. *Vibrio vulnificus* as a health hazard for shrimp consumers. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 43, 263-266. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652001000500005>.
- Oliver JD. 2005a. Wound infections caused by *Vibrio vulnificus* and other marine bacteria. Epidemiol Infect 133, 383-391. <https://doi.org/10.1017/S0950268805003894>.
- Oliver JD. 2005b. *Vibrio vulnificus*. In: Oceans and health: Pathogens in the marine environment. Belkin S and Colwell RR. Springer, Boston, MA, U.S.A., 253-276. https://doi.org/10.1007/0-387-23709-7_10.
- Panicker G, Call DR, Krug MJ and Bej AK. 2004. Detection of pathogenic *Vibrio* spp. in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarrays. Appl Environ Microbiol 70, 7436-7444. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7436-7444.2004>.
- Park K, Mok JS, Kwon JY, Ryu AR and Shim KB. 2019. Seasonal and spatial variation of pathogenic *Vibrio* species isolated from seawater and shellfish off the Gyeongnam Coast of Korea in 2013- 2016. Korean J Aquat Sci 52, 27-34. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0027>.
- Parvathi A., Kumar H.S., Karunasagar I. 2004. Detection and enumeration of *Vibrio vulnificus* in oysters from two estuaries along the southwest coast of India, using molecular methods. Appl Environ Microbiol 70, 6909-6913. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.11.6909-6913.2004>.
- Rosche TM, Yano Y and Oliver JD. 2005. A rapid and simple PCR analysis indicates there are two subgroups of *Vibrio vulnificus* which correlate with clinical or environmental isolation. Microbiol Immunol 49, 381-389. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2005.tb03731.x>.
- Shin SH. 2013. Multiple high-affinity iron-uptake systems of *Vibrio vulnificus*. J Bacteriol Virol 43, 168-176. <https://doi.org/10.4167/jbv.2013.43.3.168>.
- Shapiro RL, Altekruze S, Hutwagner L, Bishop R, Hammond R, Wilson S, Ray B, Thompson S, Tauxe RV and Griffin PM. 1998. The role of Gulf Coast oysters harvested in warmer months in *Vibrio vulnificus* infections in the United States, 1988-1996. J Infect Dis 178, 752-759. <https://doi.org/10.1086/515367>.
- Strom MS and Paranjpye RN. 2000. Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. Microbes Infect 2, 177-188. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00270-7](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00270-7).
- Tamplin M, Rodrick GE, Blake NJ and Cuba T. 1982. Isolation and characterization of *Vibrio vulnificus* from two florida estuaries. Appl Environ Microbiol 44, 1466-1470. [https://doi.org/10.1016/0198-0254\(83\)90264-9](https://doi.org/10.1016/0198-0254(83)90264-9).
- USFDA (U.S. Food and Drug Administration). 2018a. BAM chapter 9: Vibrio. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio> on Nov 30, 2019.
- USFDA (U.S. Food and Drug Administration). 2018b. BAM R59: Phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-r59-phosphate-buffered-saline-pbs-ph-74> on Nov 30, 2019.