한국어병학회지 제25권 제3호 (2012)
J.Fish Pathol., 25(3) : 165~172

www.ksfp.org
http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2012.25.3.165

서해안 양식장에서 분리한 *Vibrio alginolyticus*의 특이 bacteriophage에 대한 구조적 특성

허용주 · 이찬흔 · 백민석 · 안현미 · 황요셉 · 박관하 · 최상훈†

군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과

Morphological characterization of *Vibrio alginolyticus* specific bacteriophage isolated from fish farms on west coast of Korea

Yong Ju Heo, Chan Heun Lee, Min Suk Baek, Hyun Mi Ahn, Yo Sep Hwang, Kwan Ha Park, Sang Hoon Choi†

Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Jeonbuk 573-400, Korea

Vibrio alginolyticus (*V. alginolyticus*), which is one of bacterial pathogens evoking severe infection in fish and shellfish as well as in human has been found at high frequency around all coast areas in Korea. Both *V. alginolyticus* and *V. alginolyticus* specific bacteriophage were isolated from sea water and various fishes from fish farms on west coast in Korea. In a morphological study based on electron microscope, the purified phage appeared to be composed of hexagon head of 60 nm and short tail of 20 nm. In the denatured SDS-PAGE analysis, the structural proteins of the phage were found to be 7 different protein fractions ranging from 37.8 to 198 kda. The kind of nucleic acid of the phage was ascertained to a double stranded DNA.

Key words : *Vibrio alginolyticus*, Phage

전 세계적으로 해수 해산물에 분포하고 있는 미생물인 *Vibrio* 속은 그람 음성의 단간균으로 35종의 종이 속해 있는 것으로 알려져 있다 (Huq *et al*., 1995). 그 중 *Vibrio alginolyticus* (*V. alginolyticus*) 는 고농도의 염분을 선호하는 호염성을 가지고 있으며 저수온에서는 드물게 발견이 되었으나 고수온이 되는 시점에서는 균의 급격한 증가로 해수나 어패류에서 많이 발견 되고 있다. 이 균은 처음으로 해양 환경에서 *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) 와 유사한 세균으로 발견되었지만 그 이후 많은 연구로 인하여 *V. alginolyticus*로 명명 되었으며 (Blake *et al*., 1980) sucrose를 이용한다는 점에서 *V. parahaemolyticus*와 구별되고 있다.

*V. alginolyticus*는 주로 오염된 해수에 피부가 노출된 사람에서 *Vibrio vulnificus*와 비슷하게 패혈증을 유발시킬 수 있다고 보고되었으며 (Lee *et al*, 2008) 거의 대부분이 창상감염, 만성궤양, 중이염 환자에게서 분리 된다고 보고되었다 (Schmidt *et al*., 1979). 이 뿐만 아니라 바다에 서식 하는 척추 동물 (Yan *et al*., 2007) 과 무척추 동물 (Jayaprakash *et al*., 2006) 에 이르기 까지 다양한 종에 걸쳐 병원성이 야기 되고 있다고 보고되었다.

박테리오파지 (이하 파아지) 의 연구는 1915년

†Corresponding author : Sang Hoon Choi
Tel : +82-63-469-1886
E-mail : shchoi@kunsan.ac.kr

Twort의 시초로 시작되어 해양에 분포하는 해양성 파아지는 해안에 서식하는 *Vibrio* 속을 비롯한 각종 해양 미생물이 보고 된 후 Smith 등 (1954) 과 Spencer (1955) 에 의해 연구가 시작되었다. 현재 *Vibrio* 파아지에 대한 우리나의 연구는 1980년대부터 주 등 (1987) 에 의하여 연구되어 보고되어져 왔으나 미약한 실정이다.

파아지가 박테리아를 죽인다는 성질을 이용한 파아지 요법은 Bruynoghe 등 (1921) 의 의해서 피부질환을 치료함으로서 시작 되었으나 항생제의 등장으로 인하여 파아지 요법은 사라지게 되었다. 그러나 최근 항생제의 오남용으로 인하여 다약제 내성균의 증가와 슈퍼박테리아의 출현 등이 빈번하게 일어나고 있으며 (식품의약품평가원 2010) 이에 대한 방안으로서 병원성 세균의 제어 방법 및 제거에 대해 박테리오파아지에 대한 연구를 진행 시킬 필요성이 제기 되었다.

이에 본 연구에서는 서해안 양식장의 해수와 어 · 패류로부터 *V. alginolyticus*와 이에 대한 특이적인 파아지를 분리 동정 하였다. 분리된 *V. alginolyticus* 특이 파아지에 대한 구조적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

V. alginolyticus 동정 및 해수 샘플링

지난해 7-8월 사이에 우리나라의 서해안 및 남해안에 위치한 100여 군데의 양식장에서 물 샘플을 확보하였다. *V. alginolyticus*는 전복과 넙치에 병어 샘플로부터 멸균 면봉을 이용 하여 채취한 후 alkaline peptone water (APW) 에 증균 배양 하며 thiosulfate- citrate-bile salts-sucrose agar (TCBS) 를 선택배지로 하여 동정하였다. API20E kit (BioMerieux, France) 와 16S rRNA gene을 이용하여 *V. alginolyticus*임을 증명하였다.

DNA sequencing에 사용된 *V. alginolyticus*의 16S rRNA gene에 대한 universal primer는 F, 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3', R, 5'-TACGGYTACCTTGTTACGAC-3'을 각각 사용하였다.

물 샘플의 여과 및 사용배지

물 샘플의 여과 및 파아지 증식용 액체 배지는 이 등 (2011) 의 여과 및 액체배지 제조 방법에 준하였다. 파아지가 *V. alginolyticus*를 통해 증식되는 역가를 확인하기 위해 2% NaCl을 첨가한 Brain Heart Infusion (이하 BHI) 평판 배지를 사용 하였으며 BHI 액체 배지에 0.7% 한천을 첨가하여 autoclave 한 후 cap tube에 5 ml씩 분주하여 사용하였다.

파아지의 분리 및 증폭

물 샘플 20 ml을 기준으로 *V. alginolyticus* 2 μl와 2% NaCl 첨가한 BHI 2 ml을 첨가하여 37 ℃에서 배양하였다. 약 12시간 후 박테리아가 증식되지 않는 것이 관찰되면 더 많은 양의 파아지를 증폭시키기 위해 박테리아 5 μl을 더 첨가하여 37 ℃에 배양하였다. 이후 *V. alginolyticus*가 더 이상 자라지 않는 것을 확인한 후 파아지가 있는 것으로 추정되는 배양액을 800 × g으로 원심 분리하였으며 상청액을 0.2 μm 실린지 필터로 여과하였다. 여과된 파아지 샘플을 원균주인 *V. alginolyticus* 500 μl가 도말되어 있는 3% 식염이 첨가된 BHI 배지에 접종하여 나타나는 monolayer spot plaque을 관찰하였다.

파아지의 농축, 정제 및 보관

파아지를 농축시키기 위해 증폭 되어진 파아지액에 20% polyehthylene glycol 6000 (PEG 6000) 과 3% NaCl을 넣고 4 ℃ 하룻밤 정치한 후 10,000 × g에서 30분 원심 분리 하는 PEG 침전법을 사용하였다. 파아지의 정제는 CsCl 밀도구배 원심분리법를 이용하였

다. CsCl의 구배를 ρ 1.70/ 1.50/ 1.45/ 1.40/ 1.30/ 1.20으로 하고 그 위에 전 처리한 파아지액을 올린 후 70,000 × g (Beckman, LE-80K ultracentrifuge, U.S.A), 4 ℃에서 2시간 동안 원심 분리 한 후 20-gause주사기로 파아지 띠를 회수하고 세척하여 정제 하였다. 정제한 파아지는 0.2 μm 실린지 필터로 여과하였으며 여과된 파아지 샘플과 50% 글리세롤을 1:1로 섞은 후 사용하기 전까지 4 ℃에 냉장보관하였다.

음성 염색법에 의한 파아지 형태관찰

파아지의 형태관찰은 이 등 (2011) 의 형태 관찰 방법에 따라 실시하였다. 구리 grid (200 mesh) 에 파아지 정제액 5 μl을 묻혀 1～2분간 건조시켰으며 2% uranyl acetate용액으로 30초간 염색하여 건조한 후 전자현미경 (HITACHI H-7650, JAPAN) 100 KV하에서 파아지의 형태를 관찰하고 촬영을 하였다.

파아지 핵산의 분리 및 확인

정제한 파아지를 0.5 M EDTA와 10% SDS, proteinase K (2.5 mg/ml) 을 처리하여 65 ℃에서 30분간 반응시켰다. 그 후 동량의 phenol, phenol/chloroform, chloroform으로 각각 처리하였으며 이어서 3 M sodium acetate를 첨가하고 실온에서 2배 absolute ethanol를 넣은 후-74 ℃에서 15분간 저장하여 DNA를 침전 시켰다. 침전물에 70% ethanol 1 ml을 처리한 후 원심분리 하여 침전물을 건조시키고 TE완충액에 용해 시켜-20 ℃에 보관하였다. 분리한 파아지 핵산을 ethdium bromide 5 μl/ml가 첨가된 0.7% agarose gel에서 100 V의 전압으로 전기영동 한 후 UV-transilluminator (SL-20, USA) 에서 관찰하였다. 또 분리된 파아지 핵산이 DNA인지 RNA인지를 확인하기 위하여 각각 DNase 100 μl/ml 및 RNase 100 μl/ml으로 37 ℃에서 2시간 처리한 핵산과 대조군으로 효소를 처리 하지 않은 핵산을 함께 0.7% agarose gel에 전기영동 시킨 후 UV 하에서 관찰 하였다.

파아지 구조 단백질의 특성

파아지 구조 단백질 분석은 Laemmli (1970) 의 방법에 준하여 실시하였다. 정제된 파아지액 20 μl에 5배 농축의 loading buffer를 넣은 후 100 ℃에서 2～3분 단백질들의 시스테인결합을 끊어 순수하게 단백질 크기로만 분리하고 5% stacking gel과 12% separating gel을 만들어 100 V로 50분간 SDS-PAGE하였다. 그리고 Coomassie blue법으로 2시간 염색한 후 10% acetate와 15% methanol을 섞은 탈색액으로 탈색시켜 밴드를 확인 후 gel은 gel dry-film에 부착시켜 파아지의 구조 단백질을 관찰하였다.

결 과

***V. alginolyticus* 동정 및 생화학적 특성**

균주 분리를 위해 전복과 넙치의 병어 샘플로부터 멸균 면봉을 이용하여 채취한 후 APW에 증균 배양하여 TCBS를 선택배지를 이용한 집락의 형태적 특성은 KCTC에서 분양 받은 표준 균주인 *V. alginolyticus* ATCC 17749와 유사한 둥글고 진한 황색을 나타내는 것으로 확인하였다. *V. alginolyticus*를 API20E kit로 실험한 결과 lysine decarboxylase, ornithin decarboxylase, indol, glucose, mannitol, sucrose, oxidase에는 두 균 모두 양성 반응을 보였으나 gelatin 분해율과 citrate 이용 능에서는 차이가 있었다. 그러나 대조군으로 사용한 표준 균주인 *V. alginolyticus* ATCC 17749와 유사한 생화학적 특성을 나타내는 것으로 보아 *V. alginolyticus*로 동정 할 수 있었다 (Table 1). 또한 16S rRNA universal primer를 이용한 염기 서열 분석 결과 Genbank에 등록되어진 accession number HM771350.1

Table 1. Biochemical characteristics of *V. alginolyticus* isolated from fish farms on west coast of Korea

Test method	Character		test bacteria	ATCC 17749
API 20E (37℃, 24h)	ONPG	2-nitrophenyl-βD-galactopyranoside	-	-
	ADH	L-arginin	-	-
	LDC	L-lysine	+	+
	ODC	L-ornithine	+	+
	CIT	trisodium citrate	-[b]	+[a]
	H_2S	sodium thiosulfate	-	-
	URE	urea	-	-
	TDA	L-tryptophane	-	-
	IND	L-tryptophane	+	+
	VP	sodium pyruvate	-	-
	GEL	gelatin	-	+
	GLU	D-glucose	+	+
	MAN	D-mannitol	+	+
	INO	inositol	-	-
	SOR	D-sorbitol	-	-
	RHA	L-rhamnose	-	-
	SAC	D-sucrose	+	+
	MEL	D-melibiose	-	-
	AMY	amygdalin	-	-
	ARA	L-arabinose	-	-
	OX	see oxidasetest packagen insert	+	+

[a] : positive reaction, [b] : negative reaction

인 *V. alginolyticus*의 16S ribosomal RNA gene과 99.7% 상동성을 나타내었다.

파아지의 분리

이 전에 분리된 *V. alginolyticus*를 사용하여 서해안 양식장으로부터 100개의 물 샘플을 가지고 시험한 결과 한 종류의 파아지가 분리 되었으며 이를 VAP11 이라 명명하였다.

음성 염색법에 의한 파아지 형태 관찰

순수 분리한 파아지 VAP11에 대한 negative stain 으로 그 형태를 관찰 하였다. 파아지 VAP11은 60 nm 크기의 둥근 육각형의 두부 형태였으며, 미부는 상대적으로 짧았으며 크기는 20 nm였다 (Fig. 1). 이러한 형태적 특징에 따라 분류 하면 파아지 VAP11은 Ackerman & Nguyen (1983) 과 Bladley 등 (1967) 의 파아지 분류 중 C형에 속하였다. 또한 바이러스 분류 국제 위원회 (International Committee on Taxonomy of Viruses ; ICTV) 의 분류표에 의하면 VAP11은 podoviridae과에 속하는 것으로 나타났다.

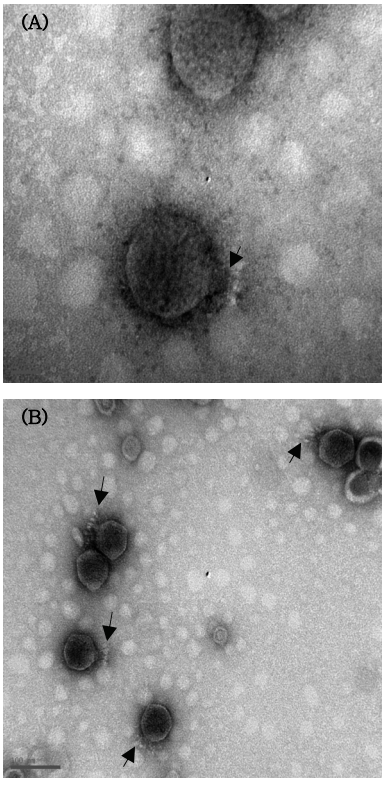
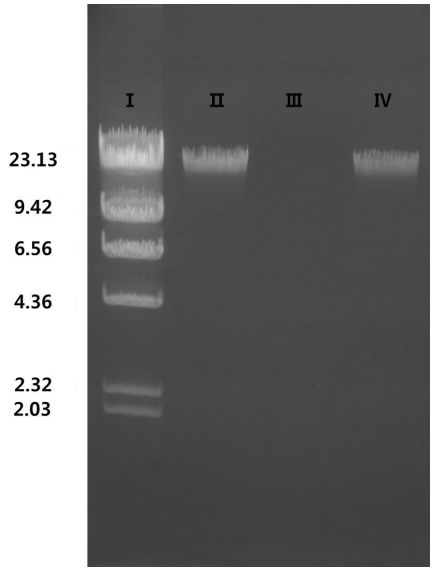


Fig. 1. Transmission electron micrographs of *V. alginolyticus* phage. Scale bars represent 20 ㎚ (A) and 100 ㎚ (B), respectively. The arrows represent a short tail of *V. alginolyticus* phage.

파아지의 핵산 분리 및 확인

파아지 VAP11의 핵산을 앞의 실험 방법으로 분리한 다음 Lamda DNA / Hind Ⅲ를 size marker로 하여 0.7% agarose gel 전기영동 한 결과 23 Kb 정도의 DNA size band를 관찰 할 수 있었다 (Fig. 2). 그리고 DNase와 RNase를 처리한 결과 DNase 처리 샘플에서는 효소에 의해서 분해되어 밴드를 관찰 할 수 없었으며 RNase 처리 샘플에서는 파아지 VAP11의 핵산과 같은 위치에 밴드가 확인 되었다. 그 결과 파아지 VAP11의 핵산은 DNA인 것으로 확인 되었다.



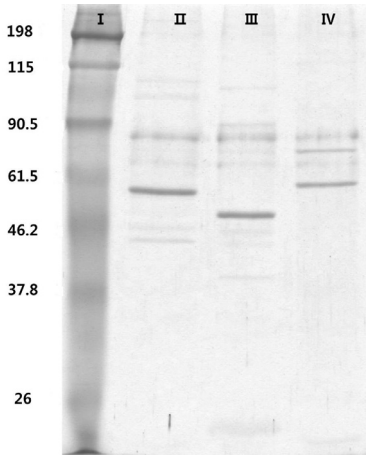
Lane Ⅰ : Marker
Lane Ⅱ : *V. alginolyticus* phage DNA
Lane Ⅲ : *V. alginolyticus* phage DNA digested with DNase
Lane Ⅳ : *V. alginolyticus* phage DNA digested with RNase

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis for *V. alginolyticus* phage DNA

파아지의 구조적 단백질의 특성

Fig. 3는 파아지 VAP11의 구조적 단백질의 특성을 알아보기 위해 실시한 SDS-PAGE에 대한 결과이다. 파아지 VAP11은 37.8 kDa과 198 kDa 사이에 일곱 종류의 단백질 분획이 존재하고 *Edwardsiella tarda* (*E. tarda*) 파아지는 열 종류의 단백질 분획이 존재하였으며 *Bacillus cereus* (*B. cereus*) 파아지는 여섯 종류의 단백질 분획이 존재 하는 것으로 나타났다. 세 종류의 파아지 모두 90.5 kDa과 61.5 kDa 사이에 두 종류의 단백질 분획이 공통적으로 존재 하였고 파아지 VAP11과 *E. tarda* 파아지 사이의 구조 단백질의 양상은 거의 유사 하였으나 *E. tarda* 파아지에서 세 종류의 단백질 분획이 더 존재 하는 것으로 나타났다. 파아지 VAP11과 *B. cereus* 파아지 사이의 구조

단백질은 공통적인 한 종류의 뚜렷한 밴드를 가지고 있었으며 세 종류의 파지 중 *B. cereus* 파아지에 가장 작은 단백질 분획이 존재 하는 것으로 나타났다. 또한 세 종류의 파아지 단백질의 양은 다소 차이가 있는 것으로 나타났다.



Ⅰ : Marker
Ⅱ : *V. alginolyticus* phage (VAP11)
Ⅲ : *E. tarda* phage
Ⅳ : *B. cereus* phage

Fig. 3. SDS-PAGE for proteins from *V. alginolyticus* specific phage

고 찰

우리나라의 해상에서 출현되는 *Vibrio* 속 중 *V. alginolyticus*는 전 연안에 걸쳐 발생 빈도율이 가장 높은 것으로 나타나고 있으며 최근 인간 및 어패류에도 질병을 유발시키고 있어 문제가 되고 있는 실정이다 (Lee *et al*, 2008; Liu *et al,* 2001; Nam *et al*, 1989).

이에 본 연구는 *V. alginolyticus*에 대한 특성을 규명하고 이를 사멸 시킬 수 있는 파아지를 개발하고자 하였다. 우선 *V. alginolyticus*를 서해안 양식장의 해수와 어패류로부터 분리 동정 하였으며 이에 대한 특이적인 파아지를 분리하여 그에 대한생물학적 특성을 조사하였다. 이러한 결과들을 바탕으로 *Vibrio* 질병에 대한 예방 및 치료 대책의 가능성이 수월해 질 것으로 생각된다.

먼저 서해안 양식장의 질병을 일으킨 어패류로부터 분리 된 *V. alginolyticus* 대해 API 20E 검사 결과 lysine decarboxylase, ornithin decarboxylase, indol, glucose, mannitol, sucrose, oxidase에는 두 균 모두 양성 반응을 보였으며 이 결과는 Park 등 (2002) 이 보고한 결과와 유사하였다. 한편 gelatin 분해율과 citrate 이용 능에 있어서는 차이가 있는 것으로 나타났다. 16S rRNA universal primer를 이용한 염기 서열 분석 실험에서는 Genbank에 등록 된 *V. alginolyticus*의 16S ribosomal RNA gene과 99.7% 상동성을 나타내어 분리 된 박테리아가 *V. alginolyticus* 임이 증명 되었다.

*V. alginolyticus*를 대상으로 서해안 양식장의 물 샘플을 이용하여 한 종의 파아지 VAP11을 분리 하였다. 이 파아지는 spot assay에서 투명한 용균 반점을 형성 하는 것으로 나타났다. 파아지의 형태적인 특성은 두부와 미부를 가진 파지로서 두부는 둥근 육각형에 가까우며 크기는 60 nm이고 미부는 짧았으며 크기는 20 nm로 Ackermann & Nguyen (1983) 과 Bladley 등 (1967) 의 파아지 분류 중 C형에 속하는 것으로 확인 되었으며 ICTV의 분류 기준에 의하면 podoviridae과에 속하는 것으로 추측 된다. 주 등 (1997) 이 보고한 *V. alginolyticus*에 대한 파아지는 직육각형의 두부와 긴 꼬리를 가지며 siphoviridae 및 myoviridae과에 속하는 것으로 본 연구의 파아지와는 전혀 다른 종의 파아지 임을 확인하였다. 일반적으로 파아지의 핵산은 DNA 또는 RNA를 소유하고 있다. Bradley 등 (1967) 에 의하면 수축하지 않는 짧은 꼬리를 가진 형태의 파아지는 핵산으로 이중나선 DNA를 가진다고 하였다. 본 연구에서 확보된 파아지의 형태

학적 특징으로 보아 DNA 파아지일 것으로 추정되었으며 파아지 VAP11의 핵산은 23 Kb 크기의 핵산인 것으로 전기영동 결과 확인 되었다. 또한 핵산을 RNase와 DNase로 처리 하였을 시 DNase에서 만 분해되었으므로 파아지 VAP11의 핵산은 DNA인 것으로 최종 확인 되었다.

파아지의 구조 단백질 분석에서는 37.8 kDa과 198 kDa사이에 일곱 종류의 단백질 분획이 존재하는 것으로 나타났으며 기존에 보유한 *E. tarda* 파아지와 비교시 세 종류의 단백질 분획이 더 존재 하였으며 *B. cereus* 파아지에서는 한 종류의 분획이 덜 존재하는 것으로 확인 되었다. 그러나 형태학적으로 *E. tarda* 파아지와 VAP11은 같은 과에 속하는 것처럼 보였으나 각 단백질의 크기와 수에 있어서 다소 차이가 있는 것으로 보아 추후 같은 모양을 가진 종의 파아지를 세분화 시키고자 할 때 SDS-PAGE가 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구에서는 *V. alginolyticus* 파아지 VAP11의 기본적인 특성을 밝혔으며 이러한 결과들은 각종 박테리아성 질병의 예방 및 치료를 위한 항생제 대체제로서 숙주균 특이 파아지 개발을 위해 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

Vibrio alginolyticus (*V. alginolyticus*) 는 우리나라 전 연안에서 높은 빈도로 발견되며 인간 및 어패류에 감염을 유발시키는 박테리아의 일종이다. 본 연구는 서해안 양식장의 해수와 어패류에서 *V. alginolyticus* 와 이에 대한 특이적인 용균성 파아지를 분리하였으며 분리된 파아지의 형태학적 특성을 전자현미경으로 확인 하였다. 또한 파아지의 핵산의 종류 및 구조 단백질의 특성 대한 연구가 수행되었다. 분리된 파아지는 형태학적으로 60 nm의 육각형 두부와 20 nm의 짧은 미부를 가진 podoviridae과로 분류되었다. 핵산을 분리한 결과 23 Kb 크기의 DNA로 판명 되었으며 구조 단백질은 37.8 kDa과 198 kDa 사이에 7종류의 단백질 분획이 존재함을 확인 하였다.

감사의 글

이 논문은 2012학년도 군산대학교 대학자체 학술공모과제 연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

Ackermann, H.W. and Nguyen, T.M.: Sewage coliphages studied by electron microscopy. Appl. Environ. Microbiol., 45(3): 1049-1059, 1983.

Blake, P.A., Merson, M.H., Wever, R.E., Hollis, D.G. and Heublein, P.C.: Disease of humans caused by vibrios. Ann. Rev. Microbol., 34: 341-367, 1980.

Bradley, D.E.: Ultrastructure of bacteriophages and bacteriocins. Bacteriol Rev., 31(4): 230-314, 1967.

Bruynoghe, R. and Maisin, J.: Essais de thérapeutique au moyen du bacteriophage. C. R. Soc. Biol., 85: 1120-1121, 1921.

Jayaprakash, N.S., Pai, S.S., Philip, R. and Singh, I.S.: Isolation of a pathogenic strain of *Vibrio alginolyticus* from necrotic larvae of Macrobrachium rosenbergii (de Man). J Fish dis., 29(3): 187-191, 2006.

Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685, 1970.

Lee, D.Y., Moon, S.Y., Lee, S.O., Yang, H.Y., Lee, H.J.

and Lee, M.S: Septic Shock due to *Vibrio alginolyticus* in a Cirrhotic Patient: The First Case in Korea. Yonsei Med J., 49(2): 329-332, 2008

Liu, P.C., Chen, Y.C. and Lee, K.K: Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased small Haliotis diversicolor supertexta. Microbios. 104(408): 71-77, 2001.

Park, M.Y., Kim, H.J., Choi, S.T., Oh, E.G. and Chang, D.S.: Pathogenic Factors of *Vibrio spp*. Isolated from Seawater of Gwangan Beach in Busan. J Fish Sci., 5(3): 178-182, 2002.

Schmidt, U., Chmel, H. and Cobbs, C.: *Vibrio alginolyticus* infections in humans. J Clin Microbiol., 10(5): 666-668, 1979.

Spencer, R.: A marine bacteriophage, Nature, 175: 690-691, 1955.

Smith, L.S. and Krueger, A.P.: Characteristics of a new *Vibrio* bacteriophage system. J Gen physiol., 38(2): 161-168, 1954.

Yan, Q., Chen, Q., Ma, S., Zhuang, Z., and Wang, X.: Characteristics of adherence of pathogenic *Vibrio alginolyticus* to the intestinal mucus of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture, 269: 21-30, 2007.

남령, 강명석, 한진영, 이은엽, 김순호: 만성 중이염 환자에서 분리된 *Vibrio alginolyticus* 2예. 대한임상병리학회지, Vol. 9 No.2: 453-457, 1989.

식품의약품 평가원.: 식품 및 환경분야 항생제 내성균 실태조사 및 내성연구. 2010.

이찬흔, 허용주, 백민석, 이정은, 강자영, 한미정, 경서봉, 최상훈: 서해안 양식장에서 분리한 *Edwardsiella tarda*의 특이 bacteriophage 특성. 한국어병학회지, 24(2): 85-93, 2011.

질병관리본부 역학조사팀.: 역학조사 결과 보고서. 2009.

주진우, 문병곤.: 해산물에서 분리한 *Vibrio alginolyticus* phage의 특성. 대한 미생물학회지, 34(1): 81-89, 1997.

주진우, 문병곤, 주성아, 허문수, 옥주안, 윤소겸.: 해산물에서 분리한 *Vibrio alginolyticus* phage의 현미경적 관찰. 대한 미생물학회지, 34(1):91-100, 1997.

주진우, 이기회, 김일.: *V. parahaemylticus*의 phage에 관한 연구. 대한 미생물 학회지, 22(1): 61-70, 1987.

홍은경, 박소희, 윤지희, 강병용, 하남주.: 서울에서 시판중인 굴의 세균학상 오염과 분리된 비브리오속균의 항생제 내성 양상. 한국 환경독성학회지, 20(4): 273-277, 1987.

Manuscript Received : July 18, 2012
Revised : October 16, 2012
Accepted : October 17, 2012