

## 가두리 양식장의 *Vibrio vulnificus* 검출 및 제어 방법

심치남\* · 송계민 · 이규호<sup>1</sup> · 양성렬<sup>2</sup>

순천대학교 생명과학전공

<sup>1</sup>한국외국어대학교 환경학전공, <sup>2</sup>광주대학교 토목환경공학부

2000년 1월부터 2000년 10월까지 가두리 양식장에서 *Vibrio vulnificus*를 검출하였고 이들의 억제 방법을 연구하였다. 이 세균의 검출은 선택적 분리법과 *vvhA* 유전자를 확인하는 방법을 이용하였다. *V. vulnificus*는 수온이 17°C 이상인 5월부터 검출되었고 19°C 이상인 6월부터 9월까지의 시료에서 검출되었다. *V. vulnificus*를 제어하기 위한 방법 중 냉동 및 냉장 처리는 살균효과를 나타내지 못했다. Citric acid도 균의 성장을 억제하지 못했으나, 500 mg/l 이상의 EDTA가 첨가될 경우 균이 완전히 사멸되었다. 분말 광촉매인 산화티타늄은 자외선을 조사할 경우 15분~1시간 이내에 이 세균을 완전히 사멸시키는 효과를 나타내었다. 산화티타늄을 유리 구슬에 코팅한 광촉매 장치를 이용하여 0.2/min의 turnover rate로 사멸효과를 얻었다.

**Key words** □ bactericidal effect, EDTA, fish farm, photocatalytic system, UV-TiO<sub>2</sub>, *Vibrio vulnificus*

*Vibrio vulnificus*는 해양 서식 미생물로서 호염성이며, 해수, 갯벌, 해양생물 등 해양환경에 많이 분포되어 있으며 Gram 음성 간균으로 보통은 약한 굴곡된 형태이며 하나의 편모를 가지고 있는 것이 일반적이다(7,12,17). 이 세균은 중온성으로서 생장에 적합한 온도는 37°C이며, 특징적으로 유당을 발효한다(16). *V. vulnificus*는 용혈소를 생산하여 혈장에서 유리 헤모글로빈과 철을 증가시키고, 철 농도가 낮은 상태에서는 hydroxamate, phenolate 형 그리고 vibibactin이라고 하는 새로운 형태의 siderophore를 생성하여 철을 획득하여 증식에 이용한다(9,21,23).

*V. vulnificus*는 원발성 패혈증(primary septicemia)과 창상감염(wound infection)을 일으키는 것(12)으로 알려져 있는데 원발성 패혈증은 대부분 여름철에 *V. vulnificus*에 오염된 해산물을 날것으로 섭취한 후 2~3일 이내에 발병하며 일단 병이 시작되면 오한, 권태감, 쇠약감, 발열 등의 증상으로 시작하여 전격적으로 쇼크 증세를 보여 사망으로 진행되는데 이 과정은 매우 빠르게 진행되어 24시간 내에 사망에 이르는 수도 있다. 이 균은 대부분의 경우 간 질환이나 만성 간 경화증, 혈액소응 환자, 당뇨병 등으로 면역기능이 저하되어 있는 사람에게 감염이 용이하게 일어나고 치사율도 매우 높다(3,5,13). 창상감염인 경우는 정상인에게도 발병되며 해수에 노출된 기존의 상처를 통하여 폐루 등에 의한 상처를 통하여 감염이 일어나며 그 주위에 홍반 및 부종이 급격히 진행되며, 대다수의 경우 수포, 괴사를 동반한다(25,26). 감염에 의한 쇼크 증상이 출현한 후에는 항생제 및 기타 보조치료가 거의 효과를 거두지 못하므로 발병 후 치료보다는 예방이 더 중요하다.

*V. vulnificus*에 의한 치사율이 높을 뿐 아니라 발병 후 2일 이내에 사망하는 경우가 많으므로 *V. vulnificus*의 신속한 검출과 진단 방법의 개발이 이루어졌다. 즉, 자연 환경으로부터 이 세균의 선택적 분리를 위한 배지가 개발되었고(18), 환자 검체로부터 이 균의 존재 유무를 진단하기 위한 혈청학적 진단법(22)과 이 균에 특이적인 cytolysin 유전자인 *vvhA*를 nested PCR로 검출하는 방법이 개발되었다(15). 아울러 *V. vulnificus*의 제어를 위한 많은 방법들이 연구되고 있다. 먼저 냉장과 냉동 처리에 의한 방법이 제시되었다. 그러나 -20°C와 4°C에서는 균의 증식을 관찰할 수가 없을 뿐 제거되지는 않는다(8,11). 또한 osmotic shock에 의한 방법이 고안되었으나(8), 적당한 온도와 배지에 의해 재활성화 됨이 밝혀졌다(1). 또한 chelating agent인 EDTA 등을 이용하여 이 세균에 살균효과를 나타내고자하는 연구들이 진행되어 왔다(8,14,24).

최근에는 산화티타늄(TiO<sub>2</sub>) 광촉매를 응용한 살균효과 방법이 많이 이용되고 있다. 티타늄(Ti)은 지표상에 널리 분포되어 있으며 TiO<sub>2</sub>는 자외선을 받아 강력한 산화작용을 나타내 유기분자를 분해하므로 살균 및 오염물질 제거에 이용된다(2,4,6).

본 연구에서는 가두리 양식장의 해수와 수산물에 분포하는 *V. vulnificus*의 출현 여부를 확인하고, 시료로부터 분리한 *V. vulnificus*를 대상으로 이 균의 억제를 위한 방법을 모색하였다. 즉, 저온처리, chelating agent 처리 및 산화티타늄을 이용한 광촉매 처리 등을 적용하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료채취 및 *Vibrio vulnificus*의 분리

전남 강진 마량 포구의 가두리 양식장의 해수, 개펄, 우렁과

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 061-750-3613, Fax: 061-750-3608  
E-mail: scnu@sunchon.ac.kr

홍합을 2000년 1월부터 10월까지 총 10회를 채취하여 시료로 사용하였다. *Vibrio* 속의 세균분포는 thiosulfate-citrate-bile-sucrose (TCBS, Difco, Detroit, USA) 배지에 나타난 집락수를 계수하여 측정하였으며 노란색을 띤 집락은 *Vibrio vulnificus*형 vibrio로 계수하였다. 해수는 1~100 ml를 membrane filter (0.45  $\mu$ m pore size)로 여과하였으며, 어류의 아가미와 홍합은 2~3 g을 mixer로 갈아서 멸균 해수와 혼합하였고, 저질토는 2 g 정도를 멸균해수와 혼합한 후 배지에 도달하여 37°C에서 24 시간 배양하였다.

*V. vulnificus*를 검출하기 위해서는 동일한 방법으로 준비한 시료를 증균 배지인 2% NaCl이 첨가된 alkaline peptone water (APW, pH 8.4)에 넣고 18~24 시간 증균 배양하였다. 증균된 배양액을 1 백금이 취하여 TCBS 한천배지에 도달하여 37°C에서 18~24 시간 배양한 후 노란색의 sucrose 음성 집락을 선별하여 Kligler's iron agar (KIA, BBL, Cockeysville, USA) 배지에 침착하고 37°C에서 18~24 시간 배양한 후 lactose 분해능을 가지며 가스 생성능과 H<sub>2</sub>S 생성능이 없는 균락을 선별하여 *o*-nitrophenyl- $\beta$ -D-galacto-pyranoside (ONPG, Sigma) 시험을 행하여 양성반응을 보인 균만을 Vitek 32 (Vitek, USA)로 최종적인 생화학적 동정을 행하였다.

#### 중합효소 연쇄 반응에 의한 *V. vulnificus*의 확인

Vitek 32에 의해 *V. vulnificus*로 동정된 균이 *vhA* 유전자를 가지고 있는지 여부를 nested PCR로 확인하였다. DNA 추출은 Ausbel 등(10)의 방법을 변형하여 수행하였고, nested PCR 조건은 Lee 등(15)의 방법을 따랐으며 증폭된 222 bp의 DNA 절편은 1.5% agarose 전기영동을 실시하여 확인하였다(Fig. 1).

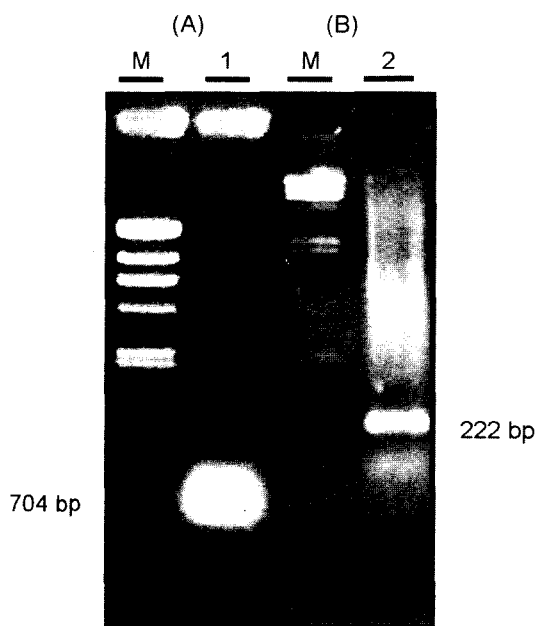


Fig. 1. Detection of *vhA* gene from *V. vulnificus* using nested PCR. First PCR product (lane 1) was 704 bp and 2nd PCR product (lane 2) was 222 bp. Lane M,  $\lambda$ HindIII marker.

#### Chelating agent에 의한 *V. vulnificus*의 증식억제

해수를 여과 멸균한 후(0.45  $\mu$ m pore size) EDTA, glycine 및 sodium citrate의 농도가 각각 100, 500, 800, 1,000, 그리고 1,500 mg/l가 되게 준비하였다. 분리된 *V. vulnificus* 균주를 2% NaCl이 첨가된 LB 배지에서 18 시간 정도 배양하였다. 배양된 균체를 chelating agent가 첨가된 해수에 현탁하여 37°C, 180 rpm으로 진탕 배양하면서 현탁액을 TCBS 배지에 도달하여 37°C에서 24 시간 배양한 후 생성된 균락을 계수하였다.

#### 냉동(-20°C) 및 냉장(4°C)에 의한 *V. vulnificus*의 증식억제

위의 동일한 방법으로 배양된 *V. vulnificus* 균체를 여과 멸균된 해수에 현탁한 후 -20°C와 4°C에서 배양하면서 현탁액을 TCBS 배지에 도달하여 37°C에서 24 시간 배양한 후 생성된 균락을 계수하였다.

#### 광촉매를 이용한 *V. vulnificus*의 증식억제

*V. vulnificus*를 현탁한 해수에 광촉매인 산화티타늄을 50 mg/ml 되게 첨가하고 주광색 형광등을 500 Lux로, 그리고 400 nm의 자외선등을 15 Lux로 조사 후 TCBS 고체배지에 도달하여 나타난 집락을 계수하였다. 그리고 산화티타늄으로 코팅된 유리구슬을 stainless steel column에 주입하고 내부에 광원(400 nm의 자외선등)을 장착하였다 (P&E-1, 빛과환경, 한국). 이 광촉매 column에 *V. vulnificus*를 현탁한 해수를 peristaltic pump로 유입시켜 통과한 현탁액을 TCBS 배지에 도달하여 37°C에서 24 시간 배양한 후 생성된 집락을 계수하였다.

## 결과 및 고찰

#### *V. vulnificus*의 분리 및 동정

*Vibrio* 속의 선택배지인 TCBS 배지에서 확인된 집락의 수와 이 배지에서 노란색을 띤 *V. vulnificus*로 간주될 수 있는 집락의 분포는 Table 1에 나타나 있다. *V. vulnificus*로 간주될 수 있는 노란색의 집락의 수온이 15°C 이하인 1월부터 4월까지의 검출되지 않았다. 해수온도가 17°C 이상인 5월부터 해수와 개펄로부터 검출되기 시작하였으며 수온이 19°C 이상으로 증가한 6~9월에는 양식어류를 제외한 모든 시료에서 검출되었다. *V. vulnificus*를 검출하기 위해 1차 증균을 시킨 후 TCBS 배지에서 노란색의 sucrose 음성 집락을 선별하여 KIA 배지에 침착 배양하여 lactose 분해능을 가지며 가스 생성능과 H<sub>2</sub>S 생성능이 없는 균락을 선별하였다. 선별된 집락은 순수 분리하여 ONPG 시험을 행하여 양성반응을 보인 균만을 Vitek 32로 최종적인 생화학적 동정을 행하였다. Vitek 32에 의해 *V. vulnificus*로 동정된 균을 PCR로 *vhA* 유전자를 가지고 있는지 확인한 결과 5월에는 개펄에서만 검출되었으며 6~9월에는 양식어류를 제외한 모든 시료에서 검출되었다(Fig. 1).

#### Chelating agent에 의한 *V. vulnificus*의 억제

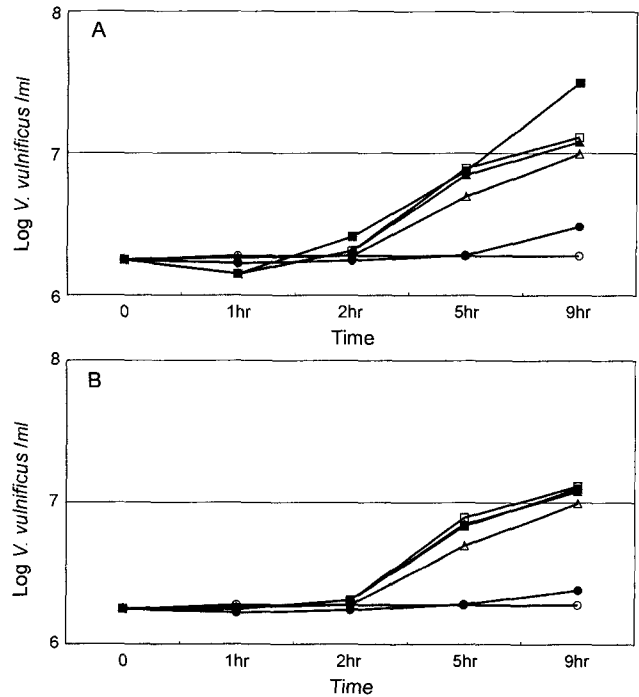
Chelating agent인 EDTA, 글리신(glycine), 그리고 구연산

**Table 1.** Detection of *Vibrio vulnificus* in the fish farm in Maryang, Gangjin Bay, Korea.

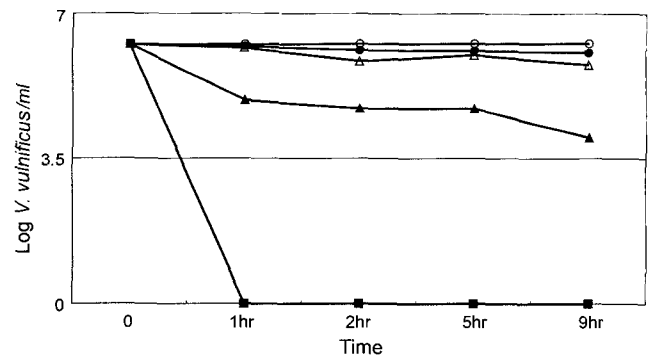
Date (Temp.)	Site	CFU/ml on TCBS		<i>Vibrio vulnificus</i>
		Total	<i>V. vulnificus</i> like	
1.10 (6.5°C)	Sea water	7.0×10	ND	ND
	Mud	2.0×10 <sup>3</sup>	ND	ND
	Fish	ND	ND	ND
	Mussel	3.3×10 <sup>2</sup>	ND	ND
2.10 (6.4°C)	Sea water	1	ND	ND
	Mud	3.0×10 <sup>3</sup>	ND	ND
	Fish	ND	ND	ND
	Mussel	3.3×10 <sup>2</sup>	ND	ND
3.10 (8.2°C)	Sea water	5	ND	ND
	Mud	2.9×10 <sup>3</sup>	ND	ND
	Fish	3.0×10	ND	ND
	Mussel	1.2×10 <sup>2</sup>	ND	ND
4.24 (14.2°C)	Sea water	2	ND	ND
	Mud	2.8×10 <sup>3</sup>	ND	ND
	Fish	ND	ND	ND
	Mussel	9.8×10 <sup>2</sup>	ND	ND
5.26 (17.4°C)	Sea water	3.0×10	ND	ND
	Mud	2.8×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>3</sup>	D
	Fish	ND	ND	ND
	Mussel	3.0×10 <sup>3</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	ND
6.23 (18.8°C)	Sea water	6.0×10	2.0×10	D
	Mud	2.2×10 <sup>3</sup>	1.9×10 <sup>3</sup>	D
	Fish	5.0×10	ND	ND
	Mussel	2.3×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>2</sup>	D
7.25 (22.0°C)	Sea water	6.0×10	3.2×10	D
	Mud	1.0×10 <sup>3</sup>	3.2×10 <sup>2</sup>	D
	Fish	9.0×10	1.0×10	ND
	Mussel	4.1×10 <sup>2</sup>	1.1×10 <sup>2</sup>	D
8.26 (26.0°C)	Sea water	4.0×10 <sup>2</sup>	1.0×10 <sup>2</sup>	D
	Mud	1.4×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>3</sup>	D
	Fish	6.0×10	6	ND
	Mussel	5.0×10 <sup>2</sup>	1.1×10 <sup>2</sup>	D
9.23 (23.0°C)	Sea water	9.0×10	1.0×10	D
	Mud	1.8×10 <sup>3</sup>	7.1×10 <sup>2</sup>	D
	Fish	2.0×10	7	ND
	Mussel	2.0×10 <sup>2</sup>	4.0×10	D
10.22 (16.8°C)	Sea water	6.5×10	1.0×10	ND
	Mud	1.1×10 <sup>2</sup>	1.4×10 <sup>2</sup>	ND
	Fish	1.0×10	ND	ND
	Mussel	6.0×10	1.0×10	ND

\*D. detected; ND. Not detected.

(sodium citrate)을 해수에 첨가한 결과 글리신과 구연산은 균의 성장을 억제하기보다는 성장촉진제로 작용하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 2). 그러나 EDTA를 500 mg/l 이상의 농도로 1 시간 처리할 경우 *V. vulnificus*의 성장을 억제하였으며 800 mg/l 이상에서는 *V. vulnificus*가 완전히 사멸되었다(Fig. 3). EDTA의 어류에 대한 안전성을 검토하기 위한 실험 결과 800 mg/l 농도에서 양식어류인 돔의 생존여부를 관찰한 결과 5 일 이상 살 수 있었



**Fig. 2.** Bactericidal effect of glycine (A) and sodium citrate (B) on the growth of *V. vulnificus*. The agents were added into bacterial suspensions in sterilized sea water at the concentration of 0 (○), 10 (●), 100 (△), 500 (▲), 1,000 (□), and 1,500 mg/l (■). Bacterial numbers were counted on TCBS agar plate.



**Fig. 3.** Bactericidal effect of EDTA on the growth of *V. vulnificus*. The agent was added into bacterial suspensions in sterilized sea water at the concentration of 0 (○), 10 (●), 100 (△), 500 (▲), 1,000 (□), and 1,500 mg/l (■). Bacterial numbers were counted on TCBS agar plate.

으므로 안전한 첨가제로 생각된다(자료 생략). 실제 EDTA와 그 염들은 식품공업에서 중금속을 제거시키거나, 현대의학에서 중금속이온 중독시 해독제로, 또는 항 응고제로 사용되며, 독성이 거의 없어 식품첨가물로 사용되고 있으며 발암성이 없는 것으로 알려지고 있다(14,24). 그러나 EDTA는 화학물질이라는 선입관 때문에 양식장이나 활어 판매상 등에서는 실제로 사용하기는 어렵다.

**냉동(-20°C) 및 냉장(4°C)에 의한 *V. vulnificus*의 억제**

*V. vulnificus*를 TCBS 평판배지에 자란 상태에서 냉동이나 냉장을 시킨 경우에는 48 시간 후 새로운 TCBS 평판배지에 계대 배양할 경우 *V. vulnificus*는 성장하지 않았다. 그러나 멸균 해수에 현탁시킨 *V. vulnificus*를 -20°C와 4°C에서 배양할 경우 24 시간 이내에 유의할만한 균의 감소는 없었다(Fig. 4). 이것은 냉장고에 4 일간 보관한 굴에서도 이 세균이 발견된다는 점과, 액체배지와 바닷물에 *V. vulnificus*를 접종하여 냉동 및 냉장을 하였을 경우 유의할만한 세균수의 감소를 관찰할 수 없었다고 하는 것과 일치하였다(8,11). 즉, *V. vulnificus*는 viable but nonculturable (VBNC)한 상태의 세균 중의 하나이기 때문이다(19,20).

**광촉매에 의한 *V. vulnificus*의 억제**

광촉매인 산화티타늄(TiO<sub>2</sub>) 분말에 의한 *V. vulnificus*의 사멸 효과를 측정한 결과 500 Lux의 주광색 형광등과 15 Lux의 400 nm의 자외선을 조사한 결과 촉매가 없어도 사멸효과는 나타났으나 광촉매를 50 mg/ml의 농도로 빛과 함께 처리한 결과 15 분 이내에 완전히 사멸되는 효과를 나타냈다(Fig. 5). 산화티타늄으로 코팅한 유리구슬을 stainless steel column에 주입하고 내부에 400 nm 파장의 자외선등을 설치한 장치를 이용하였다. 이 장치에 *V. vulnificus* 현탁액을 연속 주입하면서 유속에 따른 사멸 효과를 측정한 결과 turnover rate가 1.0/min부터 사멸효과가 나타났으며 낮아질수록 사멸효과가 증가하여 0.2/min에서는 완전히 증식을 억제하였다(Fig. 6). 광촉매 반응이란, 태양광이나 형광등

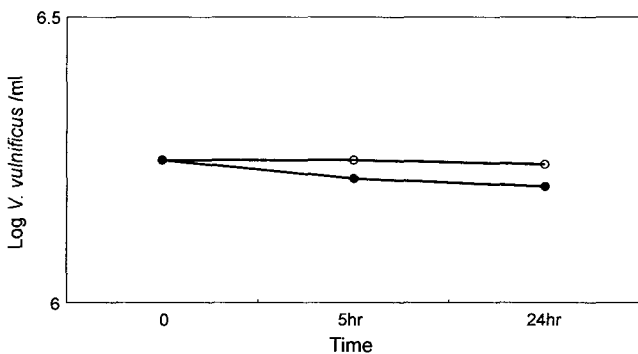


Fig. 4. Effect of heat shock on the recovery of *V. vulnificus*. The bacterial suspensions in sterilized sea water were stored at 4 (○) and -20°C (●). Bacterial numbers were counted on TCBS agar plate.

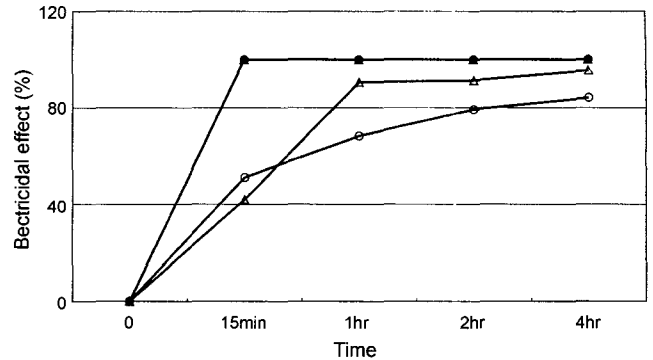


Fig. 5. Bactericidal effect of photocatalyst on *V. vulnificus*. The bacterial suspensions in sterilized sea water were treated with white light at 500 Lux (○), white light and TiO<sub>2</sub> (50 mg/ml) (●), UV at 400 nm of 15 Lux (△), and UV and TiO<sub>2</sub> (▲). Bacterial numbers were counted on TCBS agar plate.

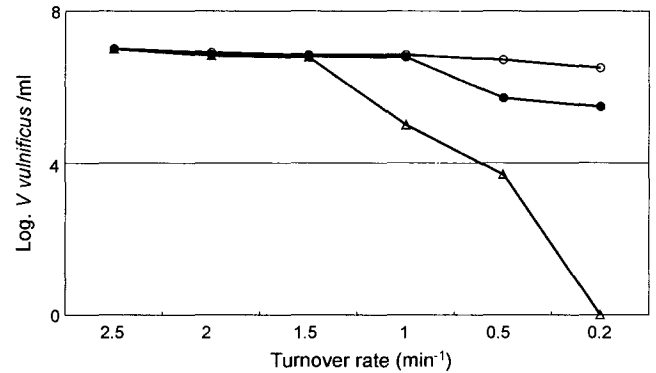


Fig. 6. Bactericidal effect of photocatalytic system (P&E-1, Korea) according to the turnover rate on the growth of *V. vulnificus*. The bacterial suspensions in sterilized sea water were injected into the photocatalytic column containing naked glass bead and without light (○), containing glass bead coated with TiO<sub>2</sub> (●), and containing coated glass bead and UV at 400 nm (△). Bacterial numbers were counted on TCBS agar plate.

에서 방사되는 300~400 nm 대역의 파장영역을 갖는 자외선을 산화티타늄이 코팅된 물체의 표면에 조사하면 표면에 전자가 발생되고 전자가 떠난 자리에 정공이 생기고 이 정공과 전자는 각각 강한 산화력과 환원력을 가지며 공기중의 수분을 산화시켜 hydroxy free radical (·OH)을 생성한다. 이 radical은 강한 산화력을 지니므로 접촉하는 유기물의 분자결합을 쉽게 분해할 수 있다(27). 본 실험에서도 산화티타늄 분말과 균을 접촉시킨 경우 사멸 효과가 우수하였다.

광촉매장치를 연속적인 수 처리장치로 활용하기 위해서는 산화티타늄의 코팅 기술 개발과, 우수한 기질의 선택, 그리고 처리수에 따른 모듈과 운전 조건에 대한 연구가 더 필요하다(2). 따라서 이 장치의 최적화에 대한 연구를 수행한다면 가두리 양식장이나 활어 판매점에 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 글

이 연구는 해양수산부의 1999년도 수산특정연구개발과제에 의해 수행되었습니다.

## 참고문헌

- 고광련. 1987. 증류수에 의해 억제된 *Vibrio vulnificus*의 재활성에 관한 연구. 전남대학교 석사학위 논문.
- 김중곤, 신용국, 이영상, 김용호, 김시욱. 2001. UV-TiO<sub>2</sub> 광촉매 반응기에 의한 미생물의 살균효과. 미생물학회지 37, 130-136.
- 김학경, 최은영, 이수택, 안관용, 백홍선, 안득수, 이춘희, 박숙자. 1985. *Vibrio vulnificus* 패혈증 3 예. 대한의학협회지 28, 773-780.
- 이용근, 박정학, 이동수, 팽기정, 한강완. 1996. 분석화학. p. 369-372.
- 이향, 1995. 전남해안지역에서 *Vibrio vulnificus*의 분포에 관한 연구, 전남대학교 박사학위 논문.
- 전은주, 강성환, 김병욱, 임재명. 1999. 정수처리용 TiO<sub>2</sub> 고정화촉매비교. 대한상하수도학회지 13, 58-63.
- 정선식, 박종호, 이준행. 1986. *Vibrio vulnificus* 세균학적 성상에 관한 연구. 감염 18, 55-62.
- 정선식, 양한모, 이준행. 1989. *Vibrio vulnificus* 패혈증의 예방을 위한 효과적 살균방법의 모색에 관한 연구 - 1. 살균적 Osmotic shock 및 이에 대한 chelating agent의 강화효과. 대한의학협회지 32, 272-282.
- Andrus, C.R., M. Walter, and J.H. Crosa. 1983. Synthesis of siderophores by pathogenic *Vibrio* species. *Curr. Microbiol.* 9, 209-214.
- Ausubel, F., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl. 1995. Short protocols in molecular biology. John Wiley & Sons, Inc., N.Y.
- Bang, W. and M.A. Drake. 2002. Resistance of cold- and starvation-stressed *Vibrio vulnificus* to heat and freeze-thaw exposure. *J. Food. Prot.* 65, 975-80.
- Blake, P.A., M.H. Merson, R.E. Weaver, D.G. Hollis, and P.C. Heublen. 1979. Disease caused by a marine *Vibrio*. *N. Engl. J. Med.* 300, 1-6.
- Hlady, W.G. and K.C. Klontz. 1996. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *J. Infect. Dis.* 173, 1176-1183.
- Klaassen C.D., M.P. Waalkes, and L.R. Cantilena. 1984. Alteration of tissue disposition of cadmium by chelating agents. *Environ. Health Perspect.* 54, 233-242.
- Lee S.E, S.Y. Kim, S.J. Kim, H.S. Kim, J.H. Shin, S.H. Choi, S.S. Chung, and J.H. Rhee. 1988. Direct identification of *Vibrio vulnificus* in clinical specimens by nested PCR. *J. Clin. Microbiol.* 36, 2887-2892.
- Oliver, J.D., R.A. Earner and D.R. Cerans. 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting vibrio in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 985-998.
- Oliver, J.D., R.A. Warner, and D.R. Cleland. 1982. Distribution and ecology of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting marine vibrios in coastal waters of the southeastern area United states. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 1404-1414.
- Oliver, J.K., K. Guthrie, J. Preyer, L.M. Wfight, R. Siebeling, and J. Morris. 1992. Use of cloistin-polymyxin B-cellobiose agar for isolation of *Vibrio vulnificus* from the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 737-739.
- Rice S.A., D. McDougald, and S. Kjelleberg. 2000. *Vibrio vulnificus*: a physiological and genetic approach to the viable but nonculturable response. *J. Infect. Chemother.* 6, 115-120.
- Rozzak, D.B. and R.R. Colwell. 1987. Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol. Rev.* 51, 365-379.
- Shinoda, S., S. Miyoshi, H. Yamanaka, and N. Miyoshi. 1985. Some properties of *Vibrio vulnificus* hemolysin. *Microbiol. Immunol.* 29, 583-590.
- Simonson J. and R.J. Siebeling. 1986. Rapid serological identification of *Vibrio vulnificus* by anti-H coagglutination. *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 1299-1304.
- Simpson, L.M. and J.D. Oliver. 1983. Siderophore production by *Vibrio vulnificus*. *Infect. Immun.* 41, 644-649.
- Simpson L.M. and J.D. Oliver. 1993. Regulation of proteolytic activity of *Vibrio vulnificus* by iron-containing compounds. *Microb. Pathog.* 14, 249-52
- Smith G.C. and J.R. Merkel. 1982. Collagenolytic activity of *Vibrio vulnificus*: potential contribution to its invasiveness. *Infect. Immun.* 35, 1155-1156.
- Tacket, C.O., F. Brenner, and P.A. Blake. 1984. Clinical Features and an epidemiological study of *Vibrio vulnificus*. *J. Infect. Dis.* 149, 558-561.
- Yamazaki S., S. Matsunaga, and K. Hori. 2001. Photocatalytic degradation of trichloroethylene in water using TiO<sub>2</sub> pellets. *Water Res.* 35, 1022-1028.

(Received September 11, 2002/Accepted November 14, 2002)

---

**ABSTRACT: Detection of *Vibrio vulnificus* in Fish Farm and Bactericidal Methods on this Bacteria**  
**Chi Nam Seong, Kye Min Song, Kyu Ho Lee<sup>1</sup>, and Sung Ryull Yang<sup>2</sup>** (Department of Life Science, Sunchon National University, Chonnam, 540-742, Korea, Department of Environmental Science, Hankuk University of Foreign Studies, Gyunggi, 449-791, Korea and Department of Civil & Environmental Engineering, Kwangju University, Gwangju 503-703, Korea)

Detection of *Vibrio vulnificus* in fish farm and searching for the bactericidal methods on this bacteria were studied. To detect this microorganism in sea water, mud, fish and mussels, selective isolation methods and detection of *vvhA* gene were used from January to October, 2000. *V. vulnificus* was detected from May when the water temperature was over 17°C. From June to September, higher than 19°C, this bacteria could be isolated from most of the samples. Freezing and refrigerating did not inhibit the growth of *V. vulnificus*. Citric acid did not show the bactericidal effect, but more than 500 mg/l of EDTA did. With the aid of UV and photocatalyst, TiO<sub>2</sub> showed bactericidal effect after 15 minute treatment. Photocatalytic system consisted of glass bead coated with TiO<sub>2</sub> and UV illumination showed bactericidal effect on *V. vulnificus* at the turnover rate of 0.2/min.