pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 40, No. 1, pp. 27~38 (2025)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2025.40.1.27

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

유통 수산물에서 분리한 *Vibrio vulnificus*의 항생제 내성 및 전장 유전체 분석을 통한 유전적 특성 분석

최은지 · 이미루 · 박건택*
인제대학교 일반대학원 생명과학과

Antimicrobial Resistance and Whole Genome Sequencing Based Genetic Characterization of *Vibrio vulnificus* Isolated from Seafood in Korea

Eunji Choi, Miru Lee, Kun Taek Park*
Department of Biological Sciences, Inje University, Gimhae, Korea

(Received January 12, 2025/Revised February 4, 2025/Accepted February 10, 2025)

ABSTRACT - *Vibrio vulnificus* is a halophilic, gram-negative bacterium that proliferates in seawater that has a temperature >18°C and 15-25 practical salinity units. It is found in various marine environments and it frequently contaminates seafood, such as oysters and abalone, particularly from May to October in Korea. Global warming is a risk factor for *V. vulnificus* infections, such as Vibrio septicemia from raw or undercooked seafood and necrotizing disease caused by contact of contaminated seawater with skin wounds. In this study, *V. vulnificus* was isolated from 84 seafood samples collected from supermarkets in Seoul, Gyeonggi-do, and Chungcheong-do between April and July 2023. *V. vulnificus* was identified in 2.4% of the samples (n=2). Antimicrobial susceptibility testing of the isolates revealed strong resistance to colistin. Multilocus sequence typing (MLST) identified both isolates as novel sequence types. Whole-genome sequencing revealed 123 virulence genes, including *rtxA*,*vvhA*,*viuB*, and *ompU*. Additionally, antimicrobial resistance genes *tet(34)*, *tet(35)*, *varG*, and *norM* were detected in both isolates. Comparative core-genome MLST analysis with global *V. vulnificus* strains indicated no clonal relatedness. The results of this study underscore the for robust monitoring and tracking of *V. vulnificus* in seafood production and distribution chains to mitigate the potential public health risks. The detection of novel sequence types and virulence-associated genes highlights the clinical importance of this pathogen for seafood safety.

Keywords: *V. vulnifiicus*, Antimicrobial resistance, Whole genome sequencing, Virulence gene, Multi-locus sequence typing

*Vibrio vulnificus*는 그람 음성의 호염성 세균으로, 해수, 강 하구, 갯벌 등 다양한 해양 환경에 서식한다[1,2]. 이 균은 전 세계적으로 굴, 전복 등 해산물에서 자주 검출되며, 해수 온도가 13°C 이하에서는 증식하지 못하지만, 5월에서 10월 사이 해수 온도가 18°C 이상이고 염도가 15-25 practical salinity units (psu)일 때 가장 활발하게 증식하고 광범위하게 분포하지만 염도가 30 psu를 넘으면 균 농도가 감소한다[2-5]. 사람 간 전파는 일어나지 않지만, 지구온난화로 인한 해수 온도의 상승으로 *V. vulnificus*의 분포 범위가 점차 확장되고 있어 감염의 위험성이 증가하고 있다[4,6].

아시아 지역은 해안 지역과 풍부한 해산물 자원으로 인해 세계 평균보다 해산물 소비량이 높으며, 그 결과 다른 지역보다 *V. vulnificus*감염 위험이 상대적으로 높다[7]. 한국은 삼면이 바다로 둘러싸인 반도 국가로서 해양 생물 다양성이 높고, 육류에 비해 어패류 섭취 비율이 증가하는 경향을 보이고 있다[8,9]. 특히, 한국에서는 해산물을 날로 섭취하는 경우가 많아 특별한 주의를 요한다. *V. vulnificus*에 오염된 해산물을 제대로 익히지 않고 먹을 경우 원발성 패혈증을 유발할 수 있으며, 상처 난 피부가 오염된 해산물이나 바닷물에 노출될 경우 괴사성 연조직염으로 이어질 수 있다[4,10]. *V. vulnificus*에 감염될 경우, 증상 발현 후 4.2일 이내에 사망할 수 있으며, 특히 40세 이상 남성, 면역질환자, 알코올 관련 간경변증 환자, 당뇨병 환자, 혈

*Correspondence to: Kun Taek Park, Department of Biological Sciences, Inje University, Gimhae 50834, Korea
Tel: +82-55-320-3213, Fax: +82-55-336-7706
E-mail: ktpark@inje.ac.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.

색소증 환자 등이 이 균에 취약한 것으로 알려져 있다[2,4]. Austin 등[4]의 연구에 따르면, 이 병원체에 의한 감염은 미국에서 해산물 관련 사망 원인의 95%를 차지하며, 식중독을 유발하는 병원체 중 가장 높은 치명률을 보이는 것으로 보고되었다[4,11].

국내에서는 비브리오 패혈증이 제3급 감염병으로 지정되어 있다. 2023년 국내 비브리오 패혈증 환자 68명 중42명(61.8%)이 어패류 섭취 후 증상을 보였고, 상처를 통해 감염된 환자는 5명(7.4%)으로 보고되었는데, 이는 주로 *V. vulnificus*에 오염된 해산물 섭취로 인해 감염되는 경우가 절반 이상임을 나타낸다[1].

*V. vulnificus*는 숙주에 감염될 때 여러 병원성 인자를 통해 질병을 유발하는데, 이 균주의 다당류 캡슐과 LPS, flagellum, hemolysin, 그리고 protease의 생산과 관련있다[12]. 이와 관련하여 세포독성, 산 중화, 캡슐 다당류 발현, 철 획득, 운동성, 부착 단백질 발현과 관련된 유전자들이 알려져 있다[11]. 국내 연구에서는 *V. vulnificus*의 염색체 DNA에 존재하는 병원성 유전자들, 예를 들어 용혈작용을 유발하는 *vvhA*, siderophore 수용체 생성에 관여하는 *viuB*, 임상균주에서 발견되는 병원성 유전자 *vcgC*, 그리고 세포독성을 나타내는 *rtxA*등이 검출된 바 있다[2,3,13].

V. vulnificus 감염 시 사망률이 매우 높기 때문에 적절한 항생제를 신속히 투여하는 것이 중요하다[14]. 비브리오 패혈증 치료에 사용되는 항균제에는 3세대 세팔로스포린(cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime), 베타락탐-베타락탐 분해효소 억제제 복합체(piperacillin-tazobactam), 카바페넴(imipenem-Cilastin), 테트라사이클린(minocycline 또는 doxycycline), 아미노글리코사이드(gentamicin 또는 amikacin), 플루오로퀴놀론(ciprofloxacin, moxifloxacin, levofloxacin), 트리메토프림-설파메톡사졸, 그리고 클로람페니콜 등이 있으며 그 중 ciprofloxacin, tetracycline, chloramphenicol은 *V. vulnificus*에 대해 높은 감수성을 보이며, 치료제로 권장된다[13,14]. 국내에서는 최근 수산 분야의 항생제 판매량이 꾸준히 증가하고 있으며, 특히 테트라사이클린계, 베타락탐계 및 플루오로퀴놀론계 등의 항생제가 주로 판매되고 있다[15]. 따라서 항생제의 오남용에 따른 해양 유래 병원균의 항생제 내성균 발생 및 전파에 대한 우려가 제기되고 있다.

본 연구의 목표는 국내 유통되는 해산물에서 *V. vulnificus* 오염 정도를 확인하고, 분리된 *V. vulnificus*의 항생제 내성 양상과 분자 유전학적 특징을 분석하고자 한다.

Materials & Methods

Sample collection

국내 유통 패류에서 *V. vulnificus*를 분리하기 위해 2023년 4월부터 7월까지 서울, 경기도, 충청도 지역의 대형마트에서 바지락(*Venerupis philippinarum*) 28건, 전복(*Haliotis*) 6건, 홍합(*Mytilus coruscus*) 21건, 피조개(*Anadara broughtonii*) 4건, 모시조개(*Cyclina sinensis*) 8건, 동죽(*Mactra veneriformis*) 6건, 백합(*Arctica islandica*) 6건, 갈치*(Trichiurus lepturus)*2건, 멍게*(Halocynthia roretzi)*2건, 낙지(*Octopus minor*) 1건 등 총 84건의 어패류 시료를 수집하였다. 수집된 시료는 0-4°C를 유지하는 아이스박스에 보관하여 실험실로 운반하였으며, 이후 실험에 사용하였다.

Isolation and identification of *V. vulnificus*

*V. vulnificus*의 분리를 위해 각 시료 25 g을 Whirl-pack에 넣고 껍질과 살을 함께 파쇄하였다. 이후 시료를 buffered peptone water (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 225 mL와 혼합하여 균질화한 뒤, shaking incubator에서 37°C, 100 rpm 조건에서 18-24시간 동안 배양하였다. 그 후, 배양액을 선택배지인 CHROMagar™Vibrio (CHRO Magar Microbiology, Paris, France)에 획선 도말 후 배양하였으며, 이후 *V. vulnificus*로 추정되는 집락을 선별하였다[15]. 선별된 집락은 blood agar plate (BAP, Asan Pharm Co., Hwaseong, Korea)에 계대배양 하였으며, 37°C에서18-24시간 동안 배양하여 순수 집락을 획득하였다[15]. 이후 획득된 집락을 멸균 증류수에 현탁하여 100°C에서 10분간 열처리한 뒤, 12,000 ×g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 상층액 100 μL를 취해 DNA를 추출하였다[15]. 동정을 위해 식품의약품안전처의 식중독 원인조사 시험법[16]을 참고하여 *V. vulnificus*동정 PCR을 수행하였다. PCR 산물은 2% agarose gel을 이용해 110 V에서 15분간 전기영동하여 동정 결과를 확인하였다.

Antimicrobial susceptibility test

Sensititre™ KRNV6F kit (Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, USA)를 이용하여 microbroth dilution method를 통해 분리된 균주의 항생제 감수성 검사를 수행하였다. 검사는 gentamicin, streptomycin, chloramphenicol, meropenem, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, colistin, nalidixic acid, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, sulfisoxazole, tetracycline 등 16종의 항생제에 대한 minimum inhibitory concentration (MIC)를 측정하였다. 표준 균주로 *Escherichia coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922를 사용하였으며, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준[17]에 따라 감수성을 판단하였다. Colistin, nalidixic acid, sulfisoxazole 및 streptomycin의 감수성 기준은 CLSI에 명시되지 않아, 해당 항생제들은 MIC의 range로 결과를 제시하였다.

Whole genome sequencing analysis

분리된 두 균주는 Connectagen (Seoul, Korea)에 의뢰하

여 전장 유전체 서열 분석을 진행하였으며, 분석 방법은 Song 등[15]과 동일하게 진행하였다. Raw data는 Trimmomatic 및 SPAdes를 이용하여 분리 균주 별 draft genome sequence를 얻었다[15]. 분리주 DNA 추출은 iDetect® gDNA prep kit for microbes (Connectagen)를 이용하였으며, DNA의 integrity는 Agilent 4200 Tapestation로 확인하였다[15]. DNA fragmentation은 Qsonica 800 R2 장비를 이용하여 진행하였으며, Illumina를 이용하여 ligation을 진행한 후, PCR 증폭하여 library를 생성하였다[15]. Library는 TapeStation 4200 instrument (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 KAPA library quantification kit (KK4824, Kapa Biosystems, Wilmington, MA, USA)를 사용하여 정량화 하였다. 정제된 library는 Illumina flow cell에 적용하여 cluster를 생성하였고, Illumina NovaSeq 6000 (llumina, San Diego, CA, USA) sequencer를 사용하여 150 bp 양방향으로 sequencing하여 paired-end read를 생성하였다. 생성된 raw read는 Trimmomatic (v0.39)을 사용하여 trimming을 진행하였고, SPAdes (v3.15.4.)를 이용하여 de novo assembly를 하여 contigs를 얻었다.

유전체 특성 분석을 위해 AMRFinderPlus, Abricate, Virulence Factor Database (VFDB)및 MLST (v2.23.0)를 이용하여 항생제 내성 유전자, 병원성 유전자, sequence type (ST)을 확인하였다. AMRFinderPlus는 default값에서 identity만 80% 이상으로 설정하여 분석하였다[15].

Core genome MLST (cgMLST) analysis

국내 분리 *V. vulnificus*의 유전적 특성 분석을 위하여 BV-BRC (www.bv-brc.org)에 등록된 아시아 지역의 *V. vulnificus* WGS data 126개를 선택하여(Supplementary Table 1) 본 연구에서 분리된 균주와 cgMLST 분석을 수행하였다. 먼저, chewBBACA (v3.3.1)를 사용하여 128개 genome에 대한 whole genome MLST scheme을 작성하였으며, 95% 임계값을 적용하여 총3334개의 좌위를 포함하는 cgMLST를 결정하였다. 이후, cgMLST결과를 바탕으로 GrapeTree (v1.5.0)의 MSTreeV2를 이용하여 minimum spanning tree (MST)를 작성하였다.

Table 1. Result of *V. vulnificus* isolation from seafood samples

Sample species	No. of samples	No. of isolates	Isolation rate (%)
V. philippinarum	28	2	7.1
C. sinensis	8	0	0
M. veneriformis	6	0	0
A. broughtonii	4	0	0
A. islandica	6	0	0
Haliotis	6	0	0
M. coruscus	21	0	0
T. lepturus	2	0	0
H. roretzi	2	0	0
O. minor	1	0	0
Total	84	2	2.4

Results and Discussion

Isolation of *V. vulnificus* from seafood

2023년 4월부터 7월까지 서울, 경기도 및 충청도 지역의 대형마트에서 유통되는 수산물 시료 총 84건(바지락 28건, 전복 6건, 홍합 21건, 피조개 4건, 모시조개 8건, 동죽 6건, 백합 6건, 갈치 2건, 멍게 2건, 낙지 1건)을 수집한 결과, *V. vulnificus*는 총2주(2.4%)가 분리되었으며, 모두 7월에 충청도에서 구입한 국내산 바지락에서 검출되었다(Table 1).

Tanveer 등[7]에 따르면, 아시아에서 수행된 38건의 연구에서 해산물에서 분리된 *V. vulnificus*의 평균 분리율은 10.47%였으며, 이 중 한국의 평균 분리율은 2.6%로 보고되었는데, 이는 본 연구의 분리율과 유사한 수치이다. 또한, 국내 수산물에서 *V. vulnificus* 검출 연구들을 살펴보면, Mok 등[18]에 의하면 2017년 1월부터 12월까지 경남 조개 양식장에서 수집한 127건의 조개 시료에서 *V. vulnificus*가 검출되지 않았고(0%), Choi 등[19]에 따르면 2019년 4월부터 9월까지 강원도에서 구매한 낙지와 간장게장, 2019년 9월부터 10월까지 구매한 전어를 포함한 총198건의 시료 중 전어에서 *V. vulnificus*가 1주(0.05%) 분리되었다. Kang 등[2]에 따르면 2022년 2월부터 12월까지 제주도에서 유통된 수산물 187건 중 *V. vulnificus*는 1주(0.01%)가 분리되었으며, 이는 본 연구 결과보다 낮은 분리율을 보였다. 그 원인으로는 지구 온난화로 인한 해수의 온도 상승으로 해마다 *V. vulnificus*의 분포 범위가 점차 확장되는 추세이고, *Vibrio* spp.의 출현은 흔히 온도, 특히 기후 변화와 연관되어 있으며 바다의 수온이 낮은 겨울보다는 수온이 높은 여름에 주기적으로 검출된다는 특성이 있다[20,21].

Di 등[21]에 의하면 국내에서 분리된 *V. vulnificus*가 계절 특이성을 가진다는 연구 결과가 있고, Kim 등[22]의 연구 결과에서 2023년에 *V. vulnificus*의 검출율과 분리율이 높은 달에 해당되는 7월이 본 연구의 *V. vulnificus*가 분리된 시기와 부합하는 점을 고려할 때, 이러한 계절적 특성과 해수 온도의 변화가 국내 연구에서 보고되는 다양한 분리율의 원인이 될 수 있다.

Tanveer 등[7]은 *V. vulnificus*가 많이 검출된 시료 유형으로 sea snails, cockles, prawns, clams, oysters, crayfish, shrimps, mussels, fish 순으로 보고하였다. 또한, Park 등[23]에 따르면 *V. vulnificus*와 같은 계열인 *Vibrio parahaemolyticus*의 경우 굴, 바지락, 피조개, 진주담치 중 바지락에서 23.7%

로 가장 높은 분리율을 보였으며, 그 다음으로 피조개에서 높은 검출율을 보였다고 보고하였다. 그 이유로는 바지락과 피조개가 바닥식 양식패류로서 진흙에 파묻혀 자라기 때문에 자연적인 해수 정화 효과를 기대하기 어려우며, 수하식 양식패류인 굴이나 진주담치보다 *V. parahaemolyticus*를 체내에 농축할 확률이 높다고 추정하였다. 또한, 패류는 고착성 생물로서 해수나 담수를 여과하여 먹이를 섭취하는 여과섭식 활동을 통해 비브리오균이 체내에 축적될 가능성이 높다고 보았다. 본 연구에서도 대상 시료 중, 바지락에서만 두 건의 *V. vulnificus*가 분리되었다.

Antimicrobial susceptibility test

본 연구에서 분리된 *V. vulnificus* 2주를 대상으로 항생제 내성 phenotype을 알아보기 위한 항생제 감수성 시험 결과 두 균주 모두 대상 항생제 중, ampicillin을 포함하여 CLSI 감수성 기준[17]이 존재하는 12종의 항생제 (ciprofloxacin, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, merophenem, gentamicin, tetracycline, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole)에 대하여 감수성을 나타내었다. 실험을 수행한 대상 항생제 중 감수성 검사 기준이 없는 4종의 항생제 중 nalidixic acid, streptomycin, sulfisoxazole의 경우 측정 범위보다 낮은 MIC 값을 나타내었으나, colistin의 경우 측정 범위보다 높은 MIC 값(>16 ug/mL)을 나타내었다.

Mok 등[24]의 연구에 따르면, 제주도와 전라남도의 조개 양식장에서 분리한 *V. vulnificus* 4균주가 streptomycin, aztreonam에 높은 내성을 보였으며, Oh 등[3]의 연구에서는 가덕도 동부 해역에서 검출한 *V. vulnificus* 총 80균주 중 3균주가 cefoxitin에 내성을 보였다고 보고하였다. 또한 Kang 등[2]은 제주도의 해수, 수족관 물, 수산물에서 분리한 *V. vulnificus* 46균주(100%)가 cefoxitin에 내성(resistance)을 보였다는 연구결과를 발표하였다. 본 연구에서는 기존 연구와 달리 streptomycin, aztreonam, cefoxitin 등에 내성을 보이지 않았다.

Kang 등[25]은 서해안 양식장의 패류에서 분리된 Vibrio 속 다른 종들인 *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus, V. fluvialis* 28균주가 vancomycin, ampicillin, rifampin, cephalothin에 높은 내성을 보였다고 보고하였다. Sony 등[26]은 *V. parahaemolyticus*는 ampicillin에 100% 내성을 보였고 *V. vulnificus*가 cefoxitin에 100% 내성을 보였다는 연구결과를 제시하였는데, 같은 Vibrio 속이라도 종의 특성에 따라 ampicillin에 대한 내성 여부가 달라질 수 있음을 시사한다.

Yang 등[27]은 *V. vulnificus*가 ampicillin에는 감수성을 보이고 colistin에 내성을 보였다는 연구결과를 발표하였으며, 이는 본 연구의 결과와 유사하다. Ko 등[28]의 연구에서는 *V. vulnificus*가 polymyxin B와 같은 cationic antimicrobial peptides (CAMPs)에 내성을 갖게 하는 two-component systems (TCSs)인 CarRS TCS가 존재함을 보고하였다. 또한, Xu 등[29]에 따르면 *V. vulnificus*가 polymyxin B에 61.9% 내성을 보였으며, colistin이 polymyxin B와 아미노산 하나만 다를 뿐 작용 기전과 미생물학적 활성이 동일한 polymyxin 계열 항생제임으로, 본 연구에서 colistin 내성 유전자인 *mcr-1*이 없었음에도 불구하고 colistin에 대하여 강한 저항성을 보인 것으로 추정된다[30].

Whole genome sequencing analysis

분리된 *V. vulnificus*두 균주를 WGS 데이터에 기반하여 in silico MLST 분석 결과, 각 housekeeping gene의 allelic profile이 동일하며 PubMLST에 등록되지 않은 새로운 ST인 것으로 확인되었다. 두 균주는 모두 충청도의 동일한 대형마트에서 구입한 바지락에서 분리되었기 때문에, MLST 결과값이 동일하게 나타난 것으로 추정된다. 이 allelic profile과 가장 근접한 균주는 ST335였다. Alejandra 등[31]의 연구에서 ST335인 균주 PV207은 2019년 6월 Valle del Cauca의 해수에서 분리되었으며 병원성 유전자 *vcgC*를 가진 환경 분리주다.

분리된 두 균주의 병원성 유전자 분석 결과, 두 균주 모두 123개의 동일한 병원성 유전자를 가지고 있음이 확인되었다(Table 2). *V. vulnificus*의 병원성에는 여러 병원성 인자들이 복합적으로 작용하는데, 주요 병원성인자로는 cytotoxin인 multifunctional autoprocessing repeats in toxin (MARTX), elastolytic protease (VvpE), 그리고 cytolytic hemolysin (VvhA)이 있다.

RTX toxin은 그람 음성균에서 널리 발견되며 세포막에 구멍을 형성하여 숙주 세포에 치명적인 손상을 준다[11]. *rtxA1* 유전자는 *V. vulnificus*감염에 필수적인 역할을 하는 MARTX이며 RTX cytotoxin을 암호화하고, RtxA1 독소는 숙주세포와 세균의 가까운 접촉한 이후에만 숙주세포를 죽인다[11,32]. *rtxC*는 RtxA 활성화를 담당하며, *rtxBDE*는 수송시스템을 암호화하는 유전자이다[13]. 또한 *vvhA*유전자는 모든 *V. vulnificus* 균주의 염색체에 존재하며, 세포 외 용혈소를 암호화하여 숙주 세포막에 침투해 숙주세포의 용혈을 유발하고, 철 방출을 돕는다[2,11,13]. VvpE는 세포외 단백질 분해효소로, 비특이적이고 광범위한 기질 특이성을 가진다[11]. 이 효소는 조직 괴사를 유발하고 bradykinin이라는 단백질을 생성해 혈관 투과성을 증가시키고, 전신성 질환으로 인한 물집성 병변을 유발하는 특징이 있다[11]. 또한, cytotoxin 관련 유전자 이외에 *viu* 유전자도 *V. vulnificus*의 병원성과 관련한 중요한 인자이며, 이 유전자는 siderophore를 생성한다[2]. 많은 세균이 철 결핍 환경에서 siderophore라는 철 착화제를 생성하여 철을 세균내로 운반하는데, *V. vulnificus*는 hydroxamate형, phenolate형, vulnibactin형 siderophore를 생산하며, *viu* 유전자는 이러한 siderophore를 형성하는 데 중요한 역할을 한다.

Table 2. Virulence gene profile in *V. vulnificus* isolates[1]

VF class	Virulence factors	Related genes
Adherence	Mannose-sensitive hemagglutinin (MHSA)	*mshB, mshC, mshD, mshE, mshF, mshG, mshH, mshI, mshJ, mshK, mshL, mshM, mshN*
	Type IV pilus	*pilA, pilB, pilC, pilD*
	Non-fimbrial adhesin	*ompU*
Antiphagocytosis	Capsular polysaccharide	*cpsA, cpsB, cpsC, cpsD, cpsF, cpsH, cpsI, cpsJ, hp1, rmlC, rmlD, wbfV/wcvB, wecA, wza, wzb, wzc*
Chemotaxis and motility	Flagella	*cheA, cheB, cheR, cheV, cheW, cheY, cheZ, film, flaA, flab, flaD, flaE, flag, flaI, flgA, flgC, flgD, flgE, flgE, flgF, flgG, flgH, flgI, flgJ, flgK, flgL, flgM, flgN, flhA, flhB, flhF, flhG, fliA, fliD, fliE, fliF, fliG, fliH, fliI, fliJ, fliK, fliL, fliN, fliO, fliP, fliQ, fliR, fliS, flrA, flrB, flrC, motA, motB, motX, motY*
Enzyme	Metalloproteinase	*hap/vvp*
Iron uptake	Heme receptors	*hutA, hutR*
	Periplasmic binding protein-dependent ABC transport systems	*vctC, vctD, vctG, vctP*
	Vibriobactin	*vibA, vibB, vibC, vibD, vibE, vibF, vibH, viuA, viuB*
Quorum sensing	Autoinducer-2	*luxS*
Secretion system	EPS type II secretion system	*epsC, epsE, epsF, epsG, epsH, epsI, epsJ, epsK, epsL, epsM, epsN, gspD*
Toxin	Hemolysin/cytolysin	*vvhA*
	RTX toxin	*rtxA, rtxB, rtxC, rtxD*
	Thermolabile hemolysin	*tlh*

[1]The virulence genes identified in the two *V. vulnificus* were identical.

Table 3. Antimicrobial resistance gene profile in *V. vulnificus* isolates[1]

Class	Group	Gene
Tetracycline	New oxytetracycline	*tet(34)*, *tet(35)*
Beta-lactam	Glycopeptide antibiotics	*varG*
Efflux	Multidrug and toxic compound extrusion (MATE)	*norM*

[1]The AMR genes identified in the two *V. vulnificus* were identical.

WGS를 기반으로 두 균주의 항생제 내성 유전자를 분석한 결과, *tet(34)*, *tet(35)*, *varG*, *norM* 내성 유전자가 존재하는 것으로 확인되었다(Table 3). Håkonsholm 등[12]의 연구에 따르면 본 연구 결과와 같이, Tetracycline에 대한 내성유전자인 *tet(34)*과 *tet(35)*를 가지고 있었으나 표현형에서는 감수성을 나타내었다.

양식 산업에서는 oxytetracycline과 같은 tetracycline계열 항생제가 자주 사용되며, 특히 내수면 양식장에서 oxytetracycline과 florfenicol 등이 많이 사용되고 있다[33]. *Tet* 유전자는 여러 결정인자들을 포함하고 있는데, 그 중 새롭게 발견된 *tet(34)* 결정인자는 리보솜에서 Mg^{2+} 의존성 퓨린 뉴클레오타이드 합성을 활성화하여 항생제에 내성을 띠게 하므로 Mg^{2+}이 부족한 환경에서는 phenotype으로 내성이 발현되지 않을 가능성이 있다[33,34]. *Tet(35)* 유전자는 efflux 암호화 유전자로, *E. coli*에서 *tetA*와 *tet(35)*의 발현을 비교한 결과 *tet(35)*가 *tetA*에 비해 발현 효율이 낮다는 연구결과가 있다[12]. 이러한 이유로 본 연구에서 *tet(35)* 유전자가 존재함에도 불구하고 phenotype으로 내성이 발현이 되지 않았을 가능성이 있다. *Tet(34)*와 *tet(35)* 유전자는 최근 *Vibrio spp.*에서 발견되고 있으며, 동일한 양식장에서 분리된 *S. maltophilia* 또한 *tet(35)* 유전자를 가지고 있다는 연구결과가 있다[34,35]. 이는 비록 이 유전자들이 임상을 고려한 CLSI의 내성 기준보다 높은 저항성을 부여하지는 않으나, 수중 양식장 환경의 상대적으로 낮은 항생제 농도에서 이 유전자들을 보유한 미생물에게 생존의 유리한 이점을 제공하기 때문일 수 있다.

또한, *V. cholerae*가 *varG* 내성 유전자를 보유하고 있으며 이는 *in vitro*에서 penicillin, carbapenems, cephalosporins에 대해 내성을 나타내지만 *V. vulnificus*에서는 cefazolin과 vancomycin에 내성을 보이게 하는 역할을 한다[29,36].

*V. parahaemolyticus*는 새로운 quinolone 계열 항생제인 norfloxacin에 대해 에너지 의존적인 유출 시스템을 보유하고 있다[37]. Morita 등[37]에 의하면, NorM이 H^+의 전기화학적 기울기에 의해 작동한다는 연구 결과와 *E. coli*에 *norM* 유전자를 형질전환한 결과, norfloxacin과 ciprofloxacin

뿐만 아니라 구조적으로 무관한 ethidium, kanamycin, streptomycin에도 저항성이 증가하였다는 연구 결과를 통해 *norM*이 암호화하는 단백질 *norM*이 에너지 의존적인 다약제 유출 시스템(multidrug efflux system) 유전자일 가능성이 제기되었다. 비록 본 연구에서는 사용한 CLSI 기준의 항생제 감수성 검사에서는 확인되지 않았으나, 특수한 해양 양식 환경을 고려하였을 때 이러한 유전자들이 항생제 저항에 있어 어떤 역할을 하는지에 대해서는 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

cgMLST analysis

본 연구에서 분리된 *V. vulnificus*와 아시아 여러 나라에서 보고된 균주들을 대상으로 cgMLST 분석 결과, 국내 분리 균주를 포함하여 아시아 지역에서 분리된 균주들 사이의 유전자적 연관성은 확인되지 않았다. MST 상 균주들 간 cluster로 묶이는 균주들은 확인되지 않았고, 오직

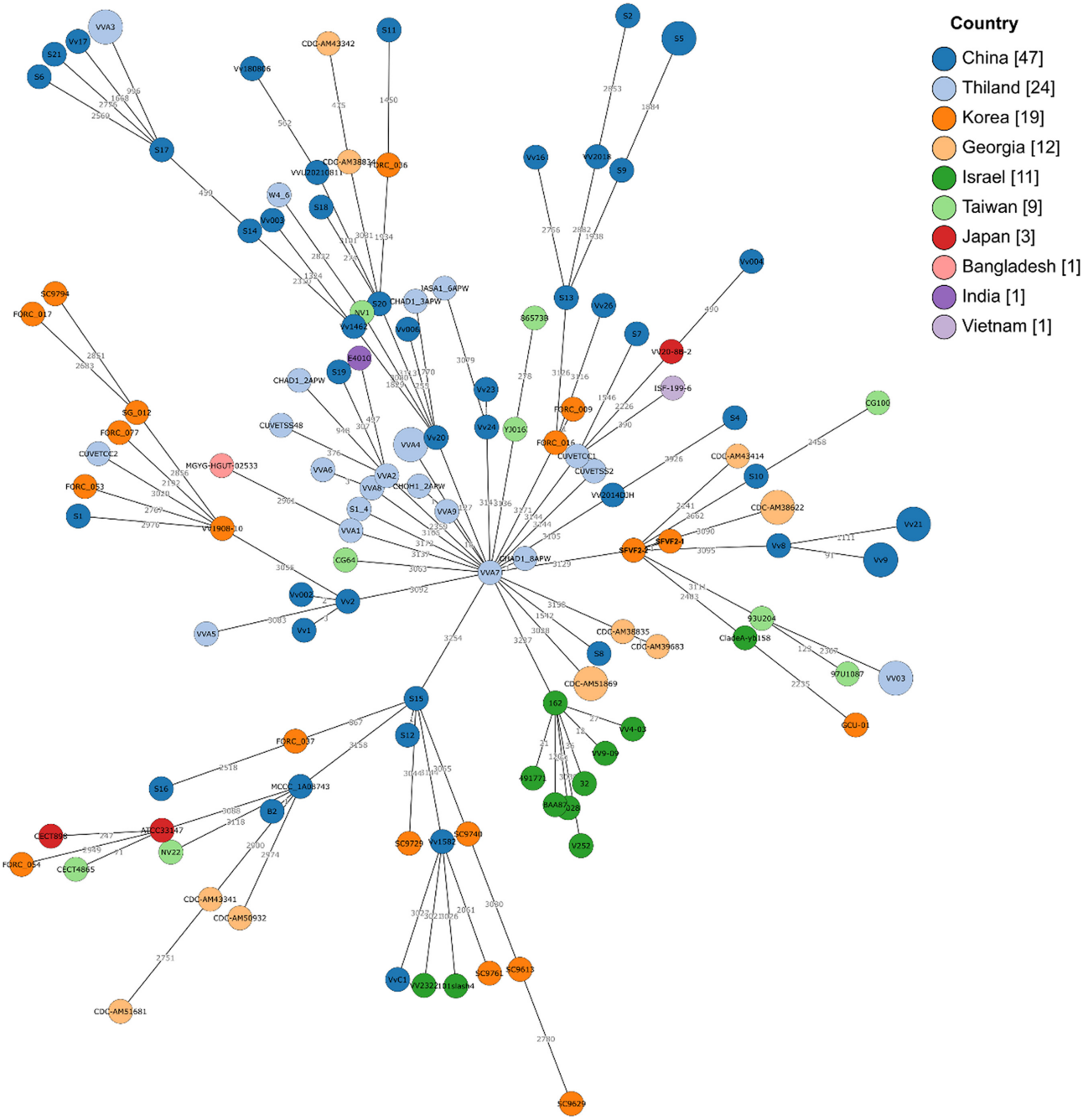

Fig. 1. Minimum spanning tree based on core genome multi-locus sequence typing of *Vibrio vulnificus* Genome sequences of *V. vulnificus* strains reported in Asia were included in the analysis. Each node is colored according to the country, and the connecting lines represent the number of allele differences. The isolates SFVF2-1 and SFVF2-2 collected in this study are indicated with a red circle.

본 연구에서 분리한 두 균주만 하나의 cluster를 생성하였다(Fig. 1). 이는 두 균주가 같은 마트에서 판매하는 동일 수조에서 유래된 바지락에서 분리되었기 때문인 것으로 생각된다. 아시아 지역은 물론, 국내에서 분리된 *V. vulnificus* 균주 간에도 수천 개 이상의 allele difference가 확인되었으며 균주들 간 극도의 유전자 다양성을 나타낸다. 이는 육지와 달리, 광범위한 해양 생태 환경에서 해수를 따라 끊임없이 이동하는 바다속에서 환경에서 서식하는 *Vibrio* spp.의 특징으로 보인다.

Acknowledgement

본 연구는 식품의약품안전처 연구용역개발사업(과제번호: 22192식품위021)의 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

국문 요약

*Vibrio vulnificus*는 그람 음성 세균의 호염성 세균으로, 5월에서 10월 사이 해수 온도가 18°C 이상이고 염도가 15-25 practical salinity units (psu)일 때 가장 활발하게 증식한다. 전 세계적으로 해수, 강 하구, 갯벌 등 다양한 해양 환경에 서식하며, 굴, 전복 등 해산물에서 자주 검출되는 경향이 있다. 지속적인 지구온난화로 인한 해수 온도의 상승으로 *V. vulnificus*의 분포 범위가 점차 확장되고 있으며, 그에 따라 비브리오 패혈증 감염에 대한 위험도가 증가하고 있다. 본 연구에서는 수산물에서 *V. vulnificus* 분리, 항생제 감수성 검사, MLST 분석, 전장 유전체 분석을 통한 병원성 유전자 확인, MIC를 통한 항생제 내성 유전자 분석, 더 나아가 bv-brc에 등록된 아시아에서 분리된 *V. vulnificus* 균주들과 함께 cgMLST 분석을 진행하였다. 2023년4월-7월까지 서울, 경기도 및 충청도 지역의 대형마트에서 유통되는 수산물 시료 총 84건에서 *V. vulnificus*가 바지락에서 총2주(2.4%) 분리되었으며, 2균주 모두 colistin에 강한 저항성을 보였으나, *V. vulnificus*의 치료에 사용되는 ciprofloxacin, tetracycline, chloramphenicol 항생제에 내성을 보이지 않았다. Whole genome sequencing 분석 결과, 유전자 상 두 균주는 동일한 클론으로 확인되었으며, multi-locus sequencing typing 결과 기존에 보고되지 않은 새로운 sequence type으로 확인되었다. Virulence gene 분석 결과, 총123개의 병원성 유전자가 확인되었으며, 그 중 중요한 병원성 유전자 *rtxA, vvhA, viuB, ompU*유전자가 확인되었다. 항생제 내성 유전자 분석 결과 분리된 두 균주에서 모두 *tet(34)*, *tet(35)*, *varG, norM* 내성 유전자가 확인되었다. cgMLST 분석을 진행한 결과 본 연구에서 분리된 두 균주는 동일 cluster로 확인되었고, 기타 국내 및 아시아 지역에서 분리된 *V. vulnificus*를 포함한 분석에서 균주 간 역학적 연관성은 관찰되지 않았다. 이는 *V. vulnificus*가 해수의 흐름을 타고 이동하여 분포 범위가 넓고 특정 지역에 일정한 특징을 가진 균이 밀집되지 않기 때문으로 보인다. 따라서 *V. vulnificus*로 인해 매년 사망자와 환자가 발생하는 것은 *V. vulnificus*가 가지는 잠재적인 위험성을 보여주고 있고, 본 연구결과가 향후 질병 발생 시 *V. vulnificus*의 연구에 도움이 될 것으로 보이며, 지속적으로 *V. vulnificus* 검출 연구, 항생제 내성 모니터링이 필요할 것으로 사료된다. 해산물을 통한 *V. vulnificus* 감염 위험성이 증가하고 있는 상황에서 국내 수산물을 통한 *V. vulnificus* 전파 위험도에 대한 체계적 연구는 부족하다. 따라서 본 연구 결과는 수산물 생산 및 유통 단계에서 *V. vulnificus*의 모니터링 및 위험도 평가의 중요성을 제시한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Eunji Choi https://orcid.org/0009-0004-8626-2972
Miru Lee https://orcid.org/0009-0005-9396-913X
Kun Taek Park https://orcid.org/0000-0001-6177-0373

References

1. Kim, J.S., Lee, E.G., Yoon, J.W., Lee, D.H., Chun, B.C., Epidemiological characteristics of cases with *V. vulnificus* infection in Korea. *Public Health Wkly. Rep.*, **12**, 868-874 (2019).
2. Kang, E.O., Cho, M.J., Heo, Y.S., Koh, E.A., Prevalence of toxin genes and antibiotic resistance profiles of *Vibrio vulnificus* strains isolated from Jeju island. *J. Food Hyg. Saf.*, **38**, 381-389 (2023).
3. Oh, H.K., Jeong, H.J., Jeong, G.J., Shin, H.Y., Shin, J.H., Jung, W.K., Oh, J., Kim, Y.M., Detection characteristics and antimicrobial resistance of *Vibrio vulnificus* isolated from sea water along the Gadeok island coast. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **54**, 912-917 (2021).
4. Baker-Austin, C., Oliver, J.D., *Vibrio vulnificus*: new insights into a deadly opportunistic pathogen. *Environ. Microbiol.*, **20**, 423-430 (2018).
5. Park, K.S., Cho, E.D., Kim, H.D., Profiles of virulence genes and antimicrobial resistance of *Vibrio vulnificus* strains isolated from seawater and fisheries. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**, 918-926 (2021).
6. Park, S.K., Park, S.Y., Won, J.S., Kim, H.J., Yang, S.C., Yang, J.S., Epidemiological characteristics of cases and deaths of Vibrio vulnificus sepsis. *Public Health Wkly. Rep*., **17**, 675-689 (2024).
7. Tanveer, M., Ntakiyisumba, E., Won, G., Prevalence and risk factors of seafood-borne *Vibrio vulnificus* in Asia: a systematic review with meta-analysis and meta-regression. *Front.*

Microbiol., **15**, 1363560 (2024).
8. Kim, N.Y., Blood mercury concentration by the frequency of fish and shellfish consumption in Korean adults. Master's thesis, Jeju National University, Jeju, Korea (2020).
9. Khim, J.S., Lee, C., Song, S.J., Bae, H., Noh, J., Lee, J., Kim, H.-G., Choi, J.-W., Marine biodiversity in Korea: a review of macrozoobenthic assemblages, their distributions, and long-term community changes from human impacts. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **59**, 483-532 (2021).
10. Mok, J.S., Cho, S.R., Park, Y.J., Jo, M.R., Ha, K.S., Kim, P.H., Kim, M.J., Distribution and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fish and shrimp aquaculture farms along the Korean coast. *Mar. Pollut. Bull.*, **171**, 112785 (2021).
11. Jones, M.K., Oliver, J.D., *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infect. Immun.*, **77**, 1723-1733 (2009).
12. Håkonsholm, F., Lunestad, B.T., Aguirre Sánchez, J.R., Martinez-Urtaza, J., Marathe, N.P., Svanevik, C.S., Vibrios from the Norwegian marine environment: characterization of associated antibiotic resistance and virulence genes. *Microbiologyopen*, **9**, e1093 (2020).
13. Oh, B.Y., Kim, J.H., Gong, Y.W., Jegal, S., Kim, H.Y., Lee, M.Y., Hwang, K.W., Koh, Y.J., Lee, J.M., Go, J.M., Kim, Y.H., Characteristics of *Vibrio vulnificus* isolated in Incheon. *Korean J. Microbiol.*, **43**, 256-263 (2007).
14. Kim, D.M., Hong, S.J., *Vibrio vulnificus* sepsis. *Korean J. Med.*, **82**, 671-679 (2012).
15. Song, G.G., Cho, H.W., Kim, Y.A., Jang, B.S., Lee, M.R., Park, K.T., Whole-genome sequencing-based antimicrobial resistance and genetic profile analysis of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in Korea. *J. Food Hyg. Saf.*, **39**, 231-238 (2024).
16. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2022. Detection method for foodborne pathogens investigation, MFDS, Cheongju, Korea, pp. 67-72.
17. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), 2018. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, 3rd ed, Wayne, PA, USA, pp. 56-58.
18. Mok, J.S., Ryu, A., Kwon, J.Y., Kim, B., Park, K., Distribution of *Vibrio* species isolated from bivalves and bivalve culture environments along the Gyeongnam coast in Korea: Virulence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *Food Control*, **106**, 106697 (2019).
19. Choi, I.H., Contaminatoin level of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* in seawater and distributed fishery products in Gangwondo. Master's thesis, Gangneung Wonju National University, Gangneung, Korea (2020).
20. Archer, E.J., Baker-Austin, C., Osborn, T.J., Jones, N.R., Martínez-Urtaza, J., Trinanes, J., Oliver, J.D., González, F.J.C., Lake, I.R., Climate warming and increasing *Vibrio vulnificus* infections in North America. *Sci. Rep.*, **13**, 3893 (2023).
21. Di, D.Y., Lee, A., Jang, J., Han, D., Hur, H.G., Season-specific occurrence of potentially pathogenic *Vibrio* spp. on the southern coast of South Korea. *Appl. Environ. Microbiol.*, **83**, e02680-16 (2017).
22. Kim, H.G., Lee, H.J., Kim, C.K., Lee, W.G., Distribution of pathogenic *Vibrio* spp. and analysis of the environmental factors affecting their occurrence in the aquatic environment of Republic of Korea, 2023. *Public Health Wkly, Rep*., **17**, 2197-2210 (2024).
23. Park, Y.S., Park, K.B.W., 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).
24. Mok, J.S., Ryu, A., Kwon, J.Y., Park, K., Shim, K.B., Abundance, antimicrobial resistance, and virulence of pathogenic *Vibrio* strains from molluscan shellfish farms along the Korean coast. *Mar. Pollut. Bull.*, **149**, 110559 (2019).
25. Kang, C.H., Oh, S.J., So, J.S., Antibiotic susceptibility of *Vibrio* spp. isolated from West Sea. *Korean J. Microbiol.*, **49**, 146-149 (2013).
26. Sony, M., Sumithra, T., Anusree, V., Amala, P., Reshma, K., Alex, S., Sanil, N., Antimicrobial resistance and virulence characteristics of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* from natural disease outbreaks of marine/estuarine fishes. *Aquac.*, **539**, 736608 (2021).
27. Yang, S.J., Shin, M.G., Shin, J.H., Suh, S.P., Kee, S.J., Cho, D., Ryang, D.W., Identification of *Vibrio vulnificus* by the microscan and the vitek II systems. *Ann. Lab. Med.*, **25**, 33-38 (2005).
28. Ko, D., Sung, D., Kim, T.Y., Choi, G., Bang, Y.J., Choi, S.H., CarRS two-component system essential for polymyxin B resistance of *Vibrio vulnificus* responds to multiple host environmental signals. *Microbiol. Spectr.*, **11**, e00305-23 (2023).
29. Xu, X., Liang, S., Li, X., Hu, W., Li, X., Lei, L., Lin, H., Antibiotic resistance and virulence characteristics of *Vibrio vulnificus* isolated from Ningbo, China. *Front. Microbiol.*, **15**, 1459466 (2024).
30. Høi, L., Dalsgaard, I., Dalsgaard, A., Improved isolation of *Vibrio vulnificus* from seawater and sediment with cellobiose-colistin agar. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1721-1724 (1998).
31. Pérez-Duque, A., Gonzalez-Muñoz, A., Arboleda-Valencia, J., Vivas-Aguas, L.J., Córdoba-Meza, T., Rodriguez-Rey, G.T., Díaz-Guevara, P., Martinez-Urtaza, J., Wiesner-Reyes, M., Comparative genomics of clinical and environmental isolates of *vibrio* spp. of Colombia: implications of traits associated with virulence and resistance. *Pathogens*, **10**, 1605 (2021).
32. Guo, R.H., Lim, J.Y., Tra My, D.N., Jo, S.J., Park, J.U., Rhee, J.H., Kim, Y.R., *Vibrio vulnificus* RtxA1 toxin expression upon contact with host cells is RpoS-dependent. *Front. Cell. Infect. Microbiol.,* **8**, 70 (2018).
33. Cho, K.T., Hwang, Y.J., Lee, S.W., Kim, K.I., Jeong, H.D., Distribution of tetracycline-resistance genes detected from isolates of cultured fishes in Gyeonggi-do. *J. Fish Pathol.*, **34**, 39-46 (2021).

34. Nonaka, L., Suzuki, S., New Mg^{2+}-dependent oxytetracycline resistance determinant Tet 34 in *Vibrio* isolates from marine fish intestinal contents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**, 1550-1552 (2002).
35. Miranda, C.D., Kehrenberg, C., Ulep, C., Schwarz, S., Roberts, M.C., Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from Chilean salmon farms. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 883-888 (2003).
36. Wu, F., Zhang, T., Wu, Q., Li, X., Zhang, M., Luo, X., Zhang, Y., Lu, R., Complete genome sequence and comparative analysis of a *Vibrio vulnificus* strain isolated from a clinical patient. *Front. Microbiol.*, **14**, 1240835 (2023).
37. Morita, Y., Kodama, K., Shiota, S., Mine, T., Kataoka, A., Mizushima, T., Tsuchiya, T., *NorM*, a putative multidrug efflux protein, of *Vibrio parahaemolyticus* and its homolog in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, 1778-1782 (1998).

Supplementary Table 1

Strain	Country	Source	GenBank Accession No.
ISF-199-6	Viet Nam	Seafood	JANFTA000000000
CHAD1.2APW	Thiland	Fish	JAODPU000000000
CHAD1.3APW	Thiland	Fish	JAODPV000000000
CHAD1.8APW	Thiland	Fish	JAODPW000000000
CHOH1.2APW	Thiland	Fish	JAODPX000000000
CHOH1.7BD	Thiland	Fish	JAODQB000000000
CUVETCC1	Thiland	Fish	JALGBD000000000
CUVETCC2	Thiland	Fish	JALGBE000000000
CUVETSS2	Thiland	Fish	JALGBF000000000
CUVETSS48	Thiland	Fish	JALGBG000000000
FVV11	Thiland	Fish	JAODPR000000000
JASA1.6APW	Thiland	Fish	JAODPY000000000
S1.4	Thiland	Sea cage sediment	JAODQA000000000
VV01	Thiland	Fish	JAODPS000000000
VV03	Thiland	Fish	JAODPT000000000
VVA1	Thiland	Fish	JAPFIK000000000
VVA2	Thiland	Fish	JAODPK000000000
VVA3	Thiland	Fish	JAODPL000000000
VVA4	Thiland	Fish	JAODPM000000000
VVA5	Thiland	Fish	JAODPN000000000
VVA6	Thiland	Fish	JAPFIL000000000
VVA7	Thiland	Fish	JAODPO000000000
VVA8	Thiland	Fish	JAODPP000000000
VVA9	Thiland	Fish	JAODPQ000000000
W4.6	Thiland	Sea cage water	JAODPZ000000000
86573B	Taiwan	Fish	QHHR00000000
93U204	Taiwan	Fish	CP009261, CP009262, CP009263
97U1087	Taiwan	Fish	QHHS00000000
CECT4865	Taiwan	Seafood	PDGG00000000
CG100	Taiwan	Seafood	PDGD00000000
CG64	Taiwan	Seawater	JZEU00000000
NV1	Taiwan	Seawater	JZET00000000
NV22	Taiwan	Seawater	JZES00000000
YJ016	Taiwan	Human	BA000037, BA000038, AP005352
Oct-08	Korea	Seawater	CP118438, CP118439
FORC_009	Korea	Human	CP009984, CP009985
FORC_016	Korea	Human	CP011775, CP011776
FORC_017	Korea	Human	CP012739, CP012740, CP012741
FORC_036	Korea	Seafood	CP015512, CP015513, CP015514
FORC_037	Korea	Seafood	CP016321, CP016322, CP016323
FORC_053	Korea	Seafood	CP019290, CP019291, CP019292
FORC_054	Korea	Fish	CP019121, CP019122, CP019123

Supplementary Table 1. Continued

Strain	Country	Source	GenBank Accession No.
FORC_077	Korea	Human	CP027030, CP027031
GCU-01	Korea	Eel	CP134783, CP134784, CP134785, CP134786, CP134787
SC9613	Korea	Seafood	JZER00000000
SC9629	Korea	Seafood	JYGG00000000
SC9729	Korea	Seawater	JZEQ00000000
SC9740	Korea	Seawater	JZEP00000000
SC9761	Korea	Seafood	JZEO00000000
SC9794	Korea	Tidal mudflat	JZEN00000000
SFVF2-1	Korea	Seafood	In this study
SFVF2-2	Korea	Seafood	In this study
SG_012	Korea	Environment	JANHLV000000000
ATCC33147	Japan	Fish	JRQR00000000
CECT898	Japan	Eel	PDGE00000000
VV20-8B-2	Japan	Seafood	AP026552, AP026553, AP026554
32	Israel	Human	PDGS00000000
162	Israel	Human	PDGR00000000
2322	Israel	Water	JQDS00000000
11028	Israel	Human	LAVT00000000
491771	Israel	Human	JQDU00000000
101/4	Israel	Fish	JQDT00000000
BAA87	Israel	Human	JDSE00000000
CladeA-yb158	Israel	Fish	LBNN00000000
V252	Israel	Human	LIIO00000000
VV4-03	Israel	Human	JQDV00000000
VV9-09	Israel	Human	JQDW00000000
E4010	India	Seafood	WRPB00000000
CDC-AM38622	Georgia	Human	JALQPJ000000000
CDC-AM38834	Georgia	Human	JALQPK000000000
CDC-AM38835	Georgia	Human	JALQPL010000000
CDC-AM39683	Georgia	Human	JALQPO000000000
CDC-AM43341	Georgia	Human	JALQPP000000000
CDC-AM43342	Georgia	Human	JALQPS000000000
CDC-AM43414	Georgia	Human	JALQPR000000000
CDC-AM47366	Georgia	Human	JALQPM000000000
CDC-AM47472	Georgia	Human	JALQPQ000000000
CDC-AM50932	Georgia	Human	JALQPI000000000
CDC-AM51681	Georgia	Human	JALQPN000000000
CDC-AM51869	Georgia	Human	JALQPT000000000
B2	China	Human	AMQR00000000
MCCC 1A08743	China	Seafood	JAILXG000000000
S1	China	Human	JBEIBR000000000
S10	China	Human	JBEIBI000000000
S11	China	Human	JBEIBH000000000
S12	China	Human	JBEIBG000000000

Supplementary Table 1. Continued

Strain	Country	Source	GenBank Accession No.
S13	China	Human	JBEIBF000000000
S14	China	Human	JBEIBE000000000
S15	China	Human	JBEIBD000000000
S16	China	Human	JBEIBC000000000
S17	China	Human	JBEIBB000000000
S18	China	Human	JBEIBA000000000
S19	China	Human	JBEIAZ000000000
S2	China	Human	JBEIBQ000000000
S20	China	Human	JBEIAY000000000
S21	China	Human	JBEIAX000000000
S3	China	Human	JBEIBP000000000
S4	China	Human	JBEIBO000000000
S5	China	Human	JBEIBN000000000
S6	China	Human	JBEIBM000000000
S7	China	Human	JBEIBL000000000
S8	China	Human	JBEIBK000000000
S9	China	Human	JBEIBJ000000000
Vv002	China	Seafood	QCYD00000000
Vv003	China	Seafood	QCYC00000000
Vv004	China	Seafood	QCYB00000000
Vv006	China	Seafood	QCYA00000000
Vv1	China	Environment	JAFKPF000000000
Vv10	China	Environment	JAFKPB000000000
Vv1462	China	Environment	JAFKOR000000000
Vv1582	China	Environment	JAFKOQ000000000
Vv16	China	Environment	JAFKOZ000000000
Vv17	China	Environment	JAFKOY000000000
Vv180806	China	Human	CP044206, CP044207, CP044208
Vv19	China	Environment	JAFKOX000000000
Vv2	China	Environment	JAFKPE000000000
Vv20	China	Environment	JAFKOW000000000
VV2014DJH	China	Human	CP019320, CP019321
VV2018	China	Human	CP126698, CP126699
Vv21	China	Environment	JAFKOV000000000
Vv23	China	Environment	JAFKOU000000000
Vv24	China	Environment	JAFKOT000000000
Vv26	China	Environment	JAFKOS000000000
Vv8	China	Environment	JAFKPD000000000
Vv9	China	Environment	JAFKPC000000000
VvC1	China	Human	JAFKOP000000000
VVU20210811	China	Human	JAJQXE000000000
MGYG-HGUT02533	Bangladesh	Human	CABMOC000000000