한국어병학회지 제30권 제2호 (2017)
J. Fish Pathol., 30(2) : 89~96

www.ksfp.org
pISSN 1226-0819, eISSN 2233-5412
http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2017.30.2.089

수입 관상어에서 분리한 motile aeromonads의 특성

진세윤 · 고창용 · 이예지 · 정윤희 · 주성철 · 김은희†

전남대학교 수산생명의학과

Characters of motile aeromonads isolated from imported ornamental fish

Se-yun Jin, Chang-yong Ko, Ye-ji Lee, Yun-hee Jung, Seong-cheol Ju, and Eunheui Kim†

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University Yeosu 59626, Korea

The majority of freshwater ornamental fish are imported and distributed domestically, causing high risk of exposure to exotic pathogens and drug resistant bacteria in Korea. *Aeromonas hydrophila* is known as a common species of fresh water bacteria and opportunistic fish pathogen, as well as a species causing zoonotic infection. In this study, we isolated motile aeromonads from various imported freshwater ornamental fish and studied the characters of the isolates. Imported freshwater ornamental fish were purchased on day 1 after the fish were deposited in the aquarium. Bacteria were isolated from the liver, kidney and spleen of fish using 0.5% NaCl containing tryptic soy agar medium. Bacteria were grouped on the basis of their morphological characteristics. The colonies with clear zone on starch-ampicillin agar (SA agar) were tentatively identified as *Aeromonas* spp. Two hundred and twenty-six strains, about 70% of total isolates were assumed to be *Aeromonas* spp. Nine isolates were further identified based on the result of the API 20E test and PCR using primers specific for *A. hydrophila* 16S rRNA gene. The isolates were identified as *A. hydrophila* and the API 20E test showed differences in trisodium citrate, D-sucrose, D-melibiose, amygdalin and L-arabinose availability between the nine isolates and standard *A. hydrophila*. The susceptibilities of the isolated bacteria to 10 antibacterial agents were confirmed by the disk diffusion method. Isolated strains were found to be resistant to amoxicillin and ampicillin and sensitive to florfenicol. However, 7 isolates showed multiple drug resistances to erythromycin, oxytetracycline, nalidixic acid etc. Pathogenicity of the isolates was determined by the artificial challenge test on goldfish (*Carassius auratus*). Three isolates caused 60 ~ 80% mortality in goldfish within 5 days after the initiation of challenge. These results indicate that multiple drug resistant, highly pathogenic and exotic *A. hydrophila* can spread to domestic aquarium and the preventive treatment of fish before sale is necessary.

Key words: Imported ornamental fish, Motile aeromonads, Multiple drug resistance

†Corresponding author: Eunheui Kim
Tel: +82-61-659-7171, Fax: +82-61-659-7179
E-mail: ehkim@jnu.ac.kr

최근 관상어는 애완동물의 범주에 포함되어 수산관상생물 (Aqua-Pet)이라는 용어로도 사용되며, 다방면에서 관련 산업이 성장세를 보이고 있다 (Kim and Jung, 2011; Kim, 2015). 관상어는 그 가치

가 점차 높아지고 있으나, 공급의 수입 의존도가 크므로 관상어 또는 함께 유입되는 물에 의해 외래 병원체의 유입 가능성이 제기되고 있다 (Martinez-Murcia *et al*., 2008). Iqbal 등 (2013)은 파키스탄으로 수입되는 관상어를 통해 유입된 담수 백점충에 의한 감염폐사를 보고하였고, Nolan 등 (2014)은 싱가포르, 말레이시아, 스리랑카에서 호주로 수입된 관상어에서 *Megalocytivirus*의 존재를 확인하고 이들이 자국 내 숙주나 환경에 전파될 수 있는 가능성을 예방하기 위한 방안이 필요함을 제안하였다. 또한 관상어의 질병치료를 위해 사용하는 항균제로 인한 다재내성균의 출현 가능성도 보고되었다 (Dias *et al*., 2012; Dobiasova *et al*., 2015). 이 외에도 질병 관리에 있어 민간요법이나 비전문적인 제어 방법, 환수 후 사육수의 무단 방출이나 약품 오·남용 및 항생제 내성균 발생 등의 문제가 꾸준히 제기되고 있다 (Yoon *et al*., 2012 ; Rose *et al*., 2013).

*Aeromonas hydrophila*는 뱀장어, 금붕어, 은어, 잉어 등 양식산 어류의 운동성 에로모나스 패혈증의 원인균으로, 감염에 의한 관상어의 폐사 및 약제내성균의 검출 등에 대한 보고가 꾸준히 이어지고 있다. 인도 부화장에서는 *A. hydrophila*의 감염으로 금붕어 (*Carrassius auratus*)와 잉어 (*Cyprinus carpio koi*)가 대량 폐사하였고 (Citarasu *et al*., 2011), 남인도의 관상어 판매점의 관상어와 새우에서는 다약제내성인 *A. hydrophila*가 분리되어 그 위험성을 보고하였다 (Vivekanandhana *et al*., 2002). Park 등(2012)은 수입 관상어 장내 세균의 tetracycline 내성유전자를 분석하였으며, Skwor 등 (2014)은 북아메리카 호수에서 분리한 *A. hydrophila*에서 tetracycline과 ciprofloxacin의 내성이 증가하고 있음을 제시하였다. 따라서 수입 의존도가 높은 관상어의 경우, 외래 병원체의 유입 방지를 위한 많은 연구가 필요하며, 수입 후 수입상으로부터 수요처로 판매되기 전 단계에서 병원체를 제어하는 것이 효율적일 수 있다. 그러므로 본 연구에서는 소비자에게 판매되기 전 단계의 수입 관상어로부터 motile aeromonads를 분리하여 그 특성을 비교 분석함으로써 국내로의 유입 가능성이 높은 *Aeromonsas* spp.에 대한 정보를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채집

수입 관상어를 취급하는 수족관으로부터 소비자에게 판매되기 전 단계인 수입 후 24시간 이내의 어류를 시료로 채집하였으며 2015년 11월부터 2016년 2월까지 총 7회에 걸쳐 수집하였다.

세균 분리 및 동정

어류의 간, 신장, 비장을 0.5% NaCl이 포함된 tryptic soy agar (TSA, BD) 배지에 접종하여 25℃에서 24시간 동안 배양한 후 1차적으로 집락의 형태에 근거하여 세균을 분류하였다. Starch-ampicillin agar M1177 (SA, Himedia)를 제조사의 방법에 따라 고압 증기 멸균한 후 10 μg/ml의 농도로 ampicillin을 무균적으로 첨가하여 제조하였다. 1차 분리균을 SA 배지에서 25℃로 24시간 동안 배양하고 Lugol's iodine solution (BD) 5 ml를 집락위에 분주하여 약 2～3분 경과 후, 집락 주변에 clear zone이 형성된 균을 잠정적으로 aeromonads로 결정하였다 (Palumbo *et al*., 1985). 또한 분리균의 대표성이 인정되는 9균주에 대해서는 생화학적 특성과 API 20E (Biomerieux, France) test를 실시하여 추가 동정하였다(https://apiweb.biomerieux.com). 분리 균의 16S rRNA 유전자 서열 분석을 위해 *A. hydrophila* 16S rRNA 유전자를 바탕으로 제작한 특이 primer (Nielsen et al., 2001; Fattahi *et al*., 2015; P1)와 16S rRNA universal primer (Weisburg *et al*., 1991; P2)를 사용하였다 (Table 1). PCR pre-mix (Bioneer)를 이용하여 pre-denaturation (94℃, 5～7 min) 1 cycle, denaturation (94℃, 30～60 sec)-annealing (42～58℃, 30～60 sec)- extension (72℃, 30～60 sec)과정을 30 cycles, final-extention (72℃, 5～10 min) 1 cycle의 조건으로 PCR을 실시하였다. 1.5% agarose gel에서 20분 동안 전기영동 한 후, P1은 약 700 bp, P2는 약 1400 bp의 산물을 확인하였다. PCR 산물은 PCR purification kit (AccuPrep, Bioneer)로 정제한 후 Solgent사 (http://www.solgent.com)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였으며 NCBI (National Center for Biotechnology Information, USA)의 BLAST program을 통해 기 보고되어있는 세균들과 상동성을 비교

Table 1. PCR primers used for the analysis of 16S rRNA gene sequences in the isolates and the standard strain of *Aeromonas hydrophila*

	Primer** code	Sequence (5' to 3')	Product size	Reference
P1*	FES-AH RES-AH	GAAAGGTTGATGCCTAATACGA CGTGCTGGCAACAAAGGACAG	700 bp	Fattahi *et al.*, 2015
P2	fD1 rP2	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG ACGGCTACCTTGTTACGACTT	1400 bp	Weisburg *et al.*, 1991

* P1 = *A. hydrophila* specific primer; P2 = universal primer
** FES, fD1 = forward; RES, rP2 = reverse

하였다. 분리균의 특성 분석을 위한 비교 균주로는 *A. salmonicida, Vibrio anguillarum, Escherichia coli*를 사용하였으며, 한국생명공학연구원 미생물자원센터에서 분양 받은 *A. hydrophila* (KCTC 2358)를 표준 균주로 이용하였다.

약제 감수성 시험

분리균들의 약제 감수성은 디스크 확산법으로 확인하였다 (Matuschek *et al*., 2014; 국립수산과학원, 2014). 항균제 disc는 양식 어류에 사용하도록 허가된 수산용 의약품 8종의 성분을 포함하는 총 10종으로 Oxoid사의 amoxycillin, ampicillin, doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, florfenicol, nalidixic acid, oxolinic acid, oxytetracycline과 BD사의 norfloxacin을 사용하였다. Tryptic soy broth (TSB, BD)에서 25℃로 6~8시간 배양한 균액을 원심 분리하여 상층액을 제거한 후 MacFarland standard 0.5로 균 농도를 조정하였다. Muller-Hintone (MH, BD) 배지에 균액을 면봉으로 고르게 접종하고 항생제 disc를 올려, 25℃에서 24시간 배양 후 생장저지대의 크기를 측정하였다.

금붕어에 대한 병원성 시험

수족관으로부터 약 6~8 g 크기의 금붕어를 구입하여 6 L 플라스틱 수조에 5 마리씩 수용하고 4.3×10^7 CFU/fish의 농도로 균액을 복강 주사한 후, 10일간 실험어의 사망 여부를 관찰하였다. 환수와 급이는 하지 않았으며 수온은 약 23℃로 유지하였으며 사망어는 간, 신장, 비장으로부터 접종균의 분리를 시도하였다.

결과 및 고찰

Motile aeromonads 분리 비율

수족관으로부터 채집한 수입관상어는 총 10 어종 70 마리였으며, 수입 국가별로는 태국 3종 38마리, 싱가포르 5종 17마리, 중국 2종 15마리였다 (Table 2). 관상어에서 분리된 세균은 집락의 형태적 특징을 근거로 하여 균주를 선택한 후 그람 음성 운동성인 담황색 간균으로서 oxidase 양성, OF test의 F, novobiocin 저항성, inositol 비분해의 특성을 갖는 균을 운동성 *Aeromonas*로 추정하고 총 322 균주를 분리하였다. 이들 중 SA 배지에서 clear zone을 형성한 균은 약 70.18%인 226 균주로 (Fig. 1,

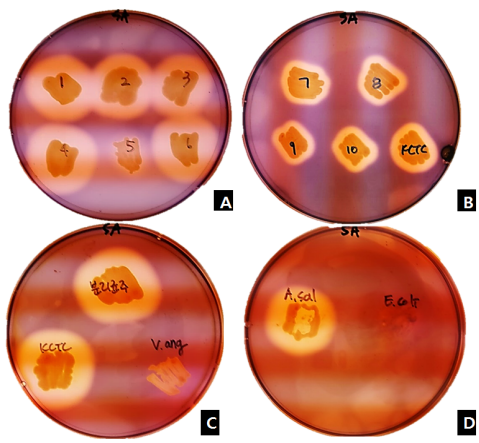

Fig. 1. Clear zone formed around *Aeromonas* isolates and comparative bacteria in starch-ampicillin agar. A: 1(421), 2(431), 3(292), 4(446), 5(*Vibrio* sp), 6(445); B: 7(624), 8(614), 9(701), 10(702), KCTC (2358, standard *A. hydrophila*); C: isolates (446), KCTC (2358, standard *A. hydrophila*), V.ang (*V. anguillarum*); D: A.sal (*A. salmonicida*), *E. coli.*

Table 2. Percentage of the bacteria that formed clear zone in starch-ampicillin agar medium and the fish samples with presumptive *Aeromonas* spp. according to the origin of imported ornamental fish

Fish				Percent of	
Species	The number of sample	Weight(g)	Origin	Fish with *Aeromonas* spp.	Bacterium formed clear zone
Angel fish	1	0.02	China	93.3	62.30 (38/61)
Black neon tetra	14	0.01～0.04			
Algae Eater	10	0.01～0.04	Singapore	76,47	64.04 (57/89)
Crowntail beta	2	0.01, 0.03			
Gold fish	2	0.01, 0.02			
Halfmoon beta	2	0.01, 0.04			
Pealscale	1	0.01			
Corydoras	5	0.01～0.03	Thailand	92.10	76.16 (131/172)
Serpae tetra	21	0.01～0.03			
Sumatra	12	0.01～0.02			

Table 2) 수입 관상어와 함께 유입되는 세균 중 motile *Aeromonas*의 비율이 비교적 높은 것을 알 수 있었다.

분리 균주의 생화학적 특성

API 20E kit를 이용한 추가 동정 시험 결과 702 균주는 표준 균주인 KCTC 2358과 동일한 패턴을 보인 반면, 다른 균주들은 trisodium citrate, D-melibiose, amygdalin, L-arabinose, saccharose 이용에서 표준 균주와 차이를 보였다 (Table 3).

16S rRNA gene sequence 비교

*A. hydrophila*의 16S rRNA 유전자 특이 primer를 사용하여 PCR을 수행한 후 PCR product를 전기영동한 결과 701 균주와 표준 균주는 700 bp에서 single band를 나타냈으나 다른 균들은 1400 bp에서 single band를 보이거나 700 bp와 1400 bp에서 double band를 나타내었다 (Fig. 2). 16S rRNA gene sequence를 비교한 결과 분리균들은 대부분 *A. hydrophila*와 98% 이상의 상동성을 나타내었으나 *A. caviae*, *A. veronii* 등 다른 *Aeromonas* 종과도 높은 상동성을 보여 (Table 4), 16S rRNA 서열비교 만으로는 정확한 균주 동정에 어려움이 있음을 시사하였다. Wahli 등 (2005)도 *A. hydrophila* 동정 시에 나타나는 이와 유사한 문제를 제기한 바 있으며 Popoff와 Lallier (1984)는 운동성 *Aeromonas* spp.의 경우 complex adenosine 분석을 통해 *A. hydropohila*, *A. sobria*, 및 *A. caviae* 3 종류로 구분한 바 있다. 또한 aerolysin gene (Pollard *et al*., 1990)이나, hemolysin gene (Jun *et al*., 2010)을 확인함으로써 *Aeromonas* spp.를 동정하는 추가적인 방법들이 사용되고 있다. 한편 PCR product에서 나타난 700 bp band와 1400 bp band의 sequence를 비교한 결과 700 bp band의 염기서열이 1400 bp band의 염기 서열에 약 90% 이상 포함되어 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 추가 PCR band가 나타나는 양상과 일부 생화학적 성상의 차이가 관상어 수입 시 함께 유입된 *A. hydrophila* 균주의 특징으로 여겨지나 이에

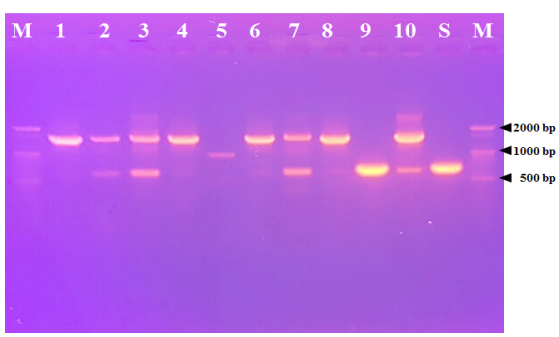

Fig. 2. PCR products of *Aeromonas* isolates obtained using *Aeromonas hydrophila* specific primer. M, DNA size marker; 1, 421; 2, 431; 3, 292; 4, 446; 5, *Vibrio* sp.; 6, 445; 7, 624; 8, 614; 9, 701; 10, 702; S, KCTC 2358 *A. hydrophila*.

Table 3. Comparisons of biochemical characters based on the results of the API 20E test for the isolates and standard *Aeromonas hydrophila*

Test	Isolate									KCTC 2358
	292	421	431	445	446	614	624	701	702	*A.hydrophila*
OPNG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H_2S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
MEL	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMY	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Identity(%)	89.8	56.5	56.5	56.5	56.5	56.5	56.5	91.3	98.3	98.3
Identified species*	A.h	A.h	A.h	A.h	A.h	A.h	A.h	A.h	A.h	A.h

*A.h = *A. hydrophila*

OPNG, β-galactosidase; ADH, arginie dihydrolase; LDC, lysine decarboxylase; ODC, ornithine decarboxylase; CIT, citrate utilisation; H_2S, H_2S production; URE, urease; TDA, tryptophane deaminase; IND, indole production; VP, acetoin production; GEL, gelatinase; GLU, glucose; MAN, mannitol; INO, inositol; SOR, sorbitol; RHA, rhamnose; SAC, saccharose; MEL, melibiose; AMY, amygdalin; ARA, arabinose.

Table 4. Identification of presumptive *Aeromonas hydrophila* based on the analysis of 16S rRNA gene sequences using BLAST program in NCBI

Isolate name	Identified species	Similarity (%)*	
		P1	P2
292	*A. hydrophila /A. veronii*	98	98
421	*A. hydrophila /A. caviae*	99	94
431	*A. hydrophila*	99	99
445	*A. hydrophila /A. dhakensis*	97	99
446	*A. hydrophila*	99	99
614	*A. hydrophila*	99	99
624	*A. hydrophila / A. veronii*	99	99
701	*A. hydrophila / A. veronii*	99	99
702	*A. hydrophila / A. veronii*	99	99

*P1 = *A. hydrophila* specific primers; P2 = universal primers.

Table 5. Drug susceptibility of the *Aeromonas* spp. isolated from the imported ornamental fish

Drug (μg) \ Isolate	292	421	431	445	446	614	624	701	702	KCTC 2358 *A.hydrophila*
Amoxycillin (10)	R*	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ampicillin (10)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Doxycycline (30)	S	R/I	S	R/I	R	S	S	R	IE	S
Oxytetracycline (30)	R/I	R/I	S	R/I	R	S	R/I	R	S	S
Florfenicol (30)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Nalidixic acid (30)	R/I	R	S	R	R/I	R	R	R	S	S
Oxolinic acid (2)	R/I	R/I	S	R/I	R	R	R	R	S	S
Enrofloxacin (5)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Norfloxacin (10)	S	S	S	S	R/I	R/I	R/I	S	S	S
Erythromycin (15)	S	R/I	S	R	R/I	R/I	R	R/I	S	R/I

*S, sensitive; R, resistance; R/I, resistance or intermidiate (Smith *et al.*, 2012; 국립수산과학원, 2014).

대한 추가 확인이 필요하다.

항균제 감수성

분리균의 항균제 감수성을 알아본 결과 (Table 5) amoxycillin, ampicillin에서 모두 저항성을 나타냈지만 florfenicol에 대해서는 모두 감수성이었다. 한편 7 균주는 tetracyclin 계통의 약제와 erythromycin, nalidixic acid 등에 대해 다약제내성을 나타내고 있었다. 또한 현재 우리나라에서 수산용으로 허가되지 않은 enrofloxacin이나 norfloxacin에 대해서도 내성경향을 보이는 균주가 분리되어 향후 이들 내성균 유입에 대한 관리 및 동향 파악이 필요하다. 이는 다른 나라로 수출되는 어류나 운반수는 다재내성인 외래 병원체 유입의 매개체로 작용하여 수입국에 피해를 줄 수 있는 가능성을 제기한 연구 결과(Verner-Jeffreys *et al.*, 2009; Rose *et al.*, 2013)에 근거하여 보아도 외래내성균 유입에 대한 의식 전환이 필요함을 나타낸다. 한편 Yoon 등 (2012)은 수입 관상어 장내에서 분리되는 균들에서 다재내성균이 출현함을 보고한 바 있으므로 이들 장내세균과 특정 병원균 간의 내성 전이 가능성도 예측된다.

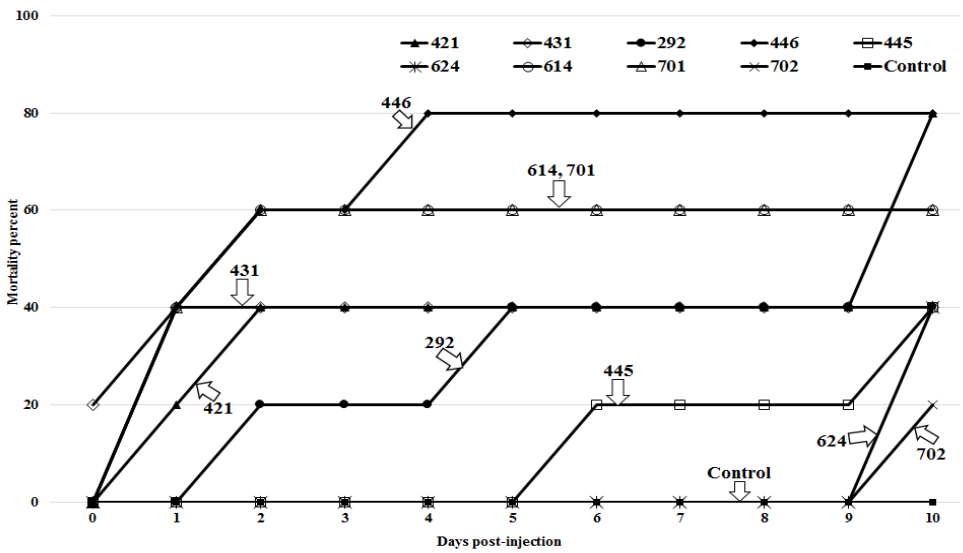

Fig. 3. Cumulative mortality of goldfish after artificial infection with isolated *Aeromonas* spp.

금붕어에 대한 병원성

분리 균주의 금붕어에 대한 병원성을 알아본 결과 (Fig. 3), 446, 614, 701 균주는 감염 후 5일 이내에 60-80%의 사망을 일으켰다. 빠른 시간에 높은 어류 사망률이 나타난 균주는 싱가포르에서 수입된 algae eater에서 분리된 446 균주였다. 특히 4 균주는 감염 후 60% 이상의 어류 사망을 일으켜 외래 유입 가능성이 있는 *A. hydrophila*의 제어 대책이 필요한 것으로 사료되었다. *A. hydrophila*는 기회성 병원체이면서 인수공통병원체로 담수에 상재한다. Abulhamd (2009)는 수생 환경에 존재하는 다양한 *A. hydrophila*가 사람의 건강에도 영향을 줄 수 있다고 보고한 바 있다. 그러므로 어류에 있는 *A. hydrophila*를 control하는 것은 공중 위생학적으로도 중요한 의미를 갖는다. 또한 수입 관상어를 통해 국내에 유입될 수 있는 어류 병원성 세균은 각 수요처로 전파될 수 있는 가능성이 클 뿐 아니라 다약제내성 특성의 전이 가능성도 높다고 하겠다. 따라서 관상어를 수입한 후라도 소비자에게 판매되기 전 단계의 어류에 대하여 병원체의 전파 및 내성 유발 및 전이를 방지할 수 있는 방법에 관한 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다.

요 약

현재 국내에 유통되고 있는 담수관상어의 대부분은 수입에 의존하므로 외래 병원체 및 항생제 내성균의 유입 가능성이 크다. 본 연구에서는 담수에 상재하는 균으로 인수공통 감염이 가능하며 어류에 조건성병원균으로 작용하는 *Aeromonas hydrophila*를 다양한 수입 담수관상어로부터 분리하여 특성을 분석하고자 하였다. 수입 후 1일 이내의 관상어를 수족관으로부터 수집하여 0.5% NaCl을 포함하는 TSA 배지에 간, 신장, 비장을 도말하여 세균을 분리하였다. 세균의 형태, 생화학적 특성 및 starch- ampicillin agar (SA)에서의 clear zone 형성 유무에 근거하여 분리 균의 약 70%인 226 균주가 *Aeromonas* spp.로 확인되어 이들의 분리 빈도가 매우 높음을 알 수 있었다. 이들 중 9균주를 선택하여 16S rRNA gene의 sequence를 분석한 결과 모두 *A. hydrophila*로 동정되었으며 API 20E test에서 대부분의 분리 균주는 amygdalin, D-melibiose, D-sucrose, trisodium citrate, L-arabinose 이용에서 표준 균주와 차이를 보였다. 10종의 항균제에 대한 분리 균주의 감수성을 디스크 확산법으로 확인한 결과 amoxycillin, ampicillin에 대해서는 모든 균주가 저항성이었고 florfecicol에 대해서는 모두 감수성이었다. 그러나 7균주는 tetracycline 계통의 항균제와 erythromycin, nalidixic acid 등에 복합내성을 보였다. *A. hydrophila*로 동정된 9개 분리 균주를 금붕어에 인위 감염을 실시한 결과, 3 균주는 5일 이내에 60～80%의 폐사를 나타내었다. 이러한 결과는 다약제내성이면서 독력이 있는 *Aeromonas*가 수입관상어를 따라 국내로 유입되어 전파될 수 있으므로 수입상에서 소비처로 판매되기 전의 방어적 조치가 필요하다는 것을 시사한다.

References

Abulhamd, A. T.: Characterization of *Aeromonas hydrophila* isolated from aquatic environments using phenotypic and genotyping methods. Res. J. Agric. & Biol. Sci., 5: 923-931, 2009.

Citarasu, T, Alfred, D. K., Velmurugan, S., Thanga, V. V., Kumaran, T., Michael, B. M. and Selvaraj, T.: Isolation of *Aeromonas hydrophila* from infected ornamental fish hatchery during massive disease outbreak. Int. J. Curr. Res., 2: 37-41, 2011.

Dias, C., Mota, V., Martinez-Murcia, A. and Saavedra, M. J.: Antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* spp. isolated from ornamental fish. http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000131. 2012.

Dobiasova, H., Videnska, P. and Dolejska, M.: Complete sequences of IncU plasmids harboring quinolone resistance genes *qnr*S2 and *aac*(*6'*)-*Ib-cr* in *Aeromonas* spp. from ornamental fish. Antimicrob. Agents Chemother., 60: 653-657, 2015.

Fattahi, F., Mirvaghefi, A., Farahmand, H., Rafiee, G. and Abdollahi, A.: Simultaneous detection of *Aeromonas hydrophila*, and *Escherichia coli* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by duplex PCR. International Journal of Aquatic Biology: 2383-2956, 2015.

Iqbal, Z., Hussain, U., Bark, M. A. and Rehman, B. G.: Incidence of white spot disease in freshwater ornamental fishes imported to Pakistan. Biologia (Pakistan),

59: 227-231, 2013.

Jun, J. W., Kim, J. H., Choresca, C., Gomez, D. K., Shin, S. P., Han, J. E. and Park, S. C.: Isolation of *Aeromonas sobria* containing hemolysin gene from Arowana (*Scleropages formosus*), J. Vet. Clin., 27: 62-65, 2010.

Kim, D. Y.: Fostering direction of the ornamental fish industry in Korea through a competitive analysis of international ornamental fish industry. J. Fish. Bus. Adm., 46: 15-28, 2015.

Kim, D. Y. and Jung, M. M.: A study on development direction for ornamental fish industry in Korea. J. Fish. Bus. Adm., 23: 629-631, 2011.

Martinez-Murcia, A. J., Saavedra, M. J., Mota, V. R., Maier, T., Stackebrandt, E. and Cousin, S.: *Aeromonas aquariorum* sp. nov., isolated from aquaria of ornamental fish. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 58: 1169-1175, 2008.

Matuschek, E., Brown, D. F. J. and Kahlmeter, G.: Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clin. Microbiol. Infect., 20: 255-266, 2014.

Nielsen, M. E., Høi, L., Schmidt, A. S., Qian, D., Shimada, T., Shen, J. Y. and Larsen, J. L.: Is *Aeromonas hydrophila* the dominant motile *Aeromonas* species that causes disease outbreaks in aquaculture production in the Zhejiang province of China? Dis. Aquat. Org., 46: 23-29, 2001.

Nolan, D., Stephens, F., Crockford, M., Jones, J. B. and Snow, M.: Detection and characterization of viruses of the genus *Megalocytivirus* in ornamental fish imported into an Australian border quarantine premises: an emerging risk to national biosecurity. J. Fish Dis., 38: 187-195, 2014.

Palumbo, S. A., Maxino, F., Williams, A. C., Buchanan, R. L. and Thayer, D. W.: Starch-Ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. Appl. Environ. Microbiol., 50: 1027-1030, 1985.

Park, S. H., Jun, L. J., Cho, K. T., Jin, J. W. and Jeong, H. D.: Characterization of *tet(M)* and *tet(G)* genes among tetracycline resistant *Aeromonas* spp. isolated from imported ornamental fishes. Kor. J. Fish Aquat. Sci., 45: 238-245, 2012.

Pollard, D. R., Johnson. W. M., Lior. H., Tyler. S. D. and Rozee, K. R. : Detection of the aerolysin gene in *Aeromonas hydrophila* by the polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol., 28: 2477-2481, 1990.

Popoff, M and Lallier, R.: Biochemical and serological characteristics of *Aeromonas*. Methods in Microbiology: 127-145, 1984.

Rose, S., Hill, R., Bermudez, L. E. and Miller-Morgan, T.: Imported ornamental fish are colonized with antibiotic-resistant bacteria. J. Fish Dis., 36: 533-542, 2013.

Skwor, T., Shinko, J., Alexander Augustyniak, A., Gee, C. and Andrasoc, G.: *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* predominate among potentially pathogenic ciprofloxacin- and tetracycline-resistant *Aeromonas* isolates from lake Erie. Appl. Environ. Microbiol., 80: 841-848, 2014.

Smith, P., Schwarz, T., and Verner-Jeffreys, D. W.: Use of normalised resistance analyses to set interpretive criteria for antibiotic disc diffusion data produce by *Aeromonas* spp. Aquaculture 326-329: 27-35, 2012.

Verner-Jeffreys, D. W., Welch, T. J., Schwarz, T., Pond, M. J., Woodward, M. J., Haig, S. J., Rimmer, G. S. E., Roberts, E., Morrison, V. and Baker-Austin, C.: High prevalence of multi drug-tolerant bacteria and associated antimicrobial resistance genes isolated from ornamental fish and their carriage water. PLoS One. 4, e8388. doi: 10.1371/journal.pone.0008388, 2009.

Vivekanandhana, G., Savithamania, K., Hathab, A. A. M. and Lakshmanaperu malsamy, P.: Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. Int. J. Food Microbiol., 76: 165-168, 2002.

Wahli, T., Burr, S. E., Pugovkin, D., Muller, O. and Frey, J.: *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch (*Perca fluviatilis*). S. J. Fish Dis., 28: 141-150, 2005.

Weisburg, W. G., Barans, S. M., Pelletier, D. A. and Lane, D. J.: 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J. Bacteriol., 173: 697-703, 1991.

Yoon, S. H., Jun, Y. J., Kim, Y. J., Jin, J. W. and Jeong, H. D.: Comparative risks of resistant microorganisms in the intestinal track of imported freshwater ornamental fish and cultured marine fish. J. Fish Pathol., 25: 77-84, 2012.

국립수산과학원.: 수산용 항생제 감수성 시험 표준 매뉴얼. pp. 85, 2014

Manuscript Received : Nov 16, 2017
Revised : Dec 12, 2017
Accepted : Dec 13, 2017